



UNIVERSITAT AUTÒNOMA DE BARCELONA
FACULTAT DE VETERINÀRIA
DEPARTAMENT D'ANATOMIA I SANITAT ANIMALS



FACULTAT DE VETERINÀRIA DE BARCELONA

**FISIOLOGÍA REPRODUCTIVA Y DESARROLLO DE MÉTODOS
DIAGNÓSTICOS DEL ESTADO REPRODUCTIVO DE LA HEMBRA
DE PÉCARI DE COLLAR (*Tayassu tajacu*, Linnaeus 1758)
DE LA AMAZONÍA**



PEDRO G. MAYOR APARICIO

2004
TESIS DOCTORAL

DIRECTORES: MANEL LÓPEZ BÉJAR
FERRAN JORI I MASSANES



MANEL LÓPEZ BÉJAR, Profesor Titular de Universitat del Departament de Sanitat i Anatomia Animals de la Universitat Autònoma de Barcelona,

y

FERRAN JORI I MASSANES, Veterinario Investigador en el Programa “Ecosistemas Naturales y Pastorales ECONAP” del Departamento de Medicina y Producción Animal, Centro de Cooperación Internacional en Investigación Agropecuaria para el Desarrollo (CIRAD), Montpellier, Francia.

INFORMAN

Que Pedro Ginés Mayor Aparicio ha realizado bajo nuestra dirección el estudio titulado “Fisiología reproductiva y desarrollo de métodos diagnósticos del estado reproductivo de la hembra pécarí de collar (*Tayassu tajacu*, Linnaeus 1758) de la Amazonía”

Manel López Béjar

Ferran Jori i Massanes

Bellaterra, 21 de mayo de 2004

“*¿Tiiiti ititi iicuacuura?*”, -¿Dónde está el agua?- “*Aacajina nuiicuaa*”, -El agua está yendo-. “*¿Tiiiti nuiicuaa?*”, -¿A dónde se va?- “*Pijja, caa pinacusii nuu*”, -Nosotros no sabemos-. Dejó reposar aquellas palabras. El silencio que transmitían aquellos rasgos indígenas blandía una paz llena de música balsámica. Por un momento desvió la mirada y ella sola encontró el horizonte labrado. -El agua seguirá yendo. Para siempre. “*Acanamaquii*”, -Buenas noches...-

El texto incluye frases en cursiva escritas en la lengua iquito, la propia lengua de la etnia Iquitos. Esta lengua actualmente, al igual que otras muchas lenguas de origen amazónico, se encuentra en peligro de extinción.

A mis padres Pedro y Loli

A mi hermano

Con todo el amor

ÍNDICE

| | |
|--|-----|
| Introducción..... | 1 |
| Revisión bibliográfica..... | 3 |
| Objetivos..... | 11 |
| Plan de trabajo..... | 13 |
| 1. Anatomicohistological characteristics of the tubular genital organs of the female collared peccary (<i>Tayassu tajacu</i>) from Northeastern Amazon..... | 15 |
| 2. Anatomicohistological characteristics of the ovary of the female collared peccary (<i>Tayassu tajacu</i>) from Northeastern Amazon..... | 35 |
| 3. Characteristics of the estrus of the female collared peccary (<i>Tayassu tajacu</i>) from Eastern Amazon..... | 51 |
| 4. Integrating ultrasonography within the reproductive management of the collared peccary (<i>Tayassu tajacu</i>)..... | 63 |
| 5. Perfiles hormonales de progesterona y 17 β -estradiol durante la gestación de pécari de collar (<i>Tayassu tajacu</i>) en el Este Amazónico..... | 75 |
| 6. Celo ovulatorio post-parto de la hembra de pécari de collar (<i>Tayassu tajacu</i>) en la Amazonía..... | 87 |
| 7. Parámetros reproductivos del pécari de collar (<i>Tayassu tajacu</i>) mantenido en cautividad en dos zoocriaderos: Iquitos (Perú) y Belém (Estado de Pará, Brasil)..... | 99 |
| Discusión general..... | 111 |
| Conclusiones..... | 117 |
| Consideraciones adicionales..... | 119 |
| Anexos: | |
| Anexo I: Parámetros hematológicos del pécari de collar (<i>Tayassu tajacu</i>) mantenido en cautividad en el zoocriadero de Iquitos (Perú)..... | 125 |
| Anexo II: Seguimiento de la infestación anual parasitaria del pécari de collar (<i>Tayassu tajacu</i>) en el zoocriadero de Iquitos (Perú)..... | 127 |
| Anexo III: Hallazgos post-mortem en la zoocría de pécari de collar (<i>Tayassu tajacu</i>) en dos zoocriaderos de la Amazonía: Iquitos (Perú) y Belém (Estado de Pará, Brasil)..... | 131 |
| Anexo IV: Perfil inmunológico del pécari de collar (<i>Tayassu tajacu</i>) criado en cautividad en dos zoocriaderos de la Amazonía: Iquitos (Perú) y Belém (Estado de Pará, Brasil)..... | 135 |
| Referencias bibliográficas..... | 139 |

ÍNDICE DE TABLAS

Introducción

| | |
|--|---|
| Tabla 2. Clasificación taxonómica de la familia Tayassuidae..... | 6 |
|--|---|

Estudio 1

| | |
|---|----|
| Tabla 1. Estado reproductivo de las hembras experimentales..... | 30 |
| Tabla 2. Medidas macroscópicas de los cuernos, cuerpo y cuello uterino..... | 31 |
| Tabla 3. Grosor del endometrio y del miometrio de los cuernos, cuerpo y cuello uterino..... | 32 |
| Tabla 4. Medidas macroscópicas de la vagina y la abertura vaginal externa..... | 33 |

Estudio 2

| | |
|--|----|
| Tabla 1. Tamaño y volumen ovárico..... | 48 |
| Tabla 2. Clasificación y caracterización de los folículos ováricos..... | 49 |
| Tabla 3: Diámetro medio y volumen luteal medio de los CL observados en hembras gestantes y no gestantes..... | 50 |

Estudio 3

| | |
|--|----|
| Tabla 1: Precisión de la citología vaginal y de la observación de los genitales externos como metodología de diagnóstico del celo..... | 61 |
|--|----|

Estudio 4

| | |
|--|----|
| Tabla 1: Valores de la longitud total, longitud y diámetro torácico, longitud craneal y diámetro biparietal del embrión y del feto de la hembra gestante.... | 72 |
| Tabla 2: Diagnóstico temprano en los días 20 a 28 post-monta mediante ecografía transabdominal a tiempo real..... | 73 |

Estudio 7

| | |
|--|-----|
| Tabla 1: Parámetros reproductivos del pécari de collar comparando los zoocriaderos de Belém y de Iquitos..... | 109 |
| Tabla 2: Potencial reproductivo en base a los parámetros reproductivos recogidos en el zoocriadero de Belém..... | 110 |

Anexo 1

| | |
|--|-----|
| Tabla 1: Parámetros hematológicos de referencia..... | 125 |
| Tabla 2: Parámetros hematológicos en función del sexo..... | 126 |

Anexo 3

| | |
|---|-----|
| Tabla 1: Tasa de mortalidad por grupos de edad y por sexo de dos zoocrías de la Amazonía: Iquitos y Belém..... | 131 |
| Tabla 2: Resultados en porcentajes de las necropsias realizadas en los individuos juveniles, sub-adultos y adultos de dos zoocrías de la Amazonía: Iquitos y Belém..... | 132 |
| Tabla 3: Resultados en valores absolutos y porcentajes de las necropsias realizadas en los 32 individuos neonatos del zoocriadero de Belém..... | 132 |

Anexo IV

| | |
|---|-----|
| Tabla 1: Resumen de la prevalencia de anticuerpos de diferentes enfermedades infecciosas del pécari de collar en las localizaciones de Iquitos y Belém..... | 137 |
|---|-----|

ÍNDICE DE FIGURAS

Estudio 1

| | |
|--|----|
| Figura 1: Imagen de una hembra adulta de pécari de collar (<i>Tayassu tajacu</i>)..... | 26 |
| Figura 2: Visión dorsal de los órganos genitales de una hembra no gestante en fase folicular del ciclo estral..... | 26 |
| Figura 3: Sección de la porción caudal de la ampolla del oviducto de una hembra no gestante en fase folicular..... | 26 |
| Figura 4: Imagen detallada del epitelio de la ampolla de una hembra no gestante en fase folicular..... | 26 |
| Figura 5: Imagen detallada del epitelio de la ampolla de una hembra no gestante en fase luteal..... | 27 |
| Figura 6: Detalle del endometrio del cuerno uterino de una hembra no gestante en fase folicular..... | 27 |
| Figura 7: Detalle del endometrio del cuerno uterino de una hembra no gestante en fase luteal..... | 27 |
| Figura 8: Detalle del endometrio del cuerno uterino de una hembra no gestante..... | 27 |
| Figura 9: Imagen detallada del endometrio de una hembra gestante..... | 28 |
| Figura 10: Sección del cuello uterino de una hembra no gestante en fase folicular... | 28 |
| Figura 11: Imagen detallada del epitelio del cuello uterino de una hembra gestante.. | 28 |
| Figura 12: Detalle del epitelio vaginal de una hembra no gestante en fase folicular.. | 29 |
| Figura 13: Detalle del epitelio vaginal de una hembra no gestante en fase luteal..... | 29 |

Estudio 2

| | |
|--|----|
| Figure 1: Imagen del ovario de una hembra gestante de pécari de collar..... | 46 |
| Figure 2: Folículos antrales grandes antrales, pre-antrales, primarios y primordiales de una hembra de pécari de collar..... | 46 |
| Figure 3: Folículo pre-antral de una hembra de pécari de collar..... | 46 |
| Figure 4: Folículo antral grande de una hembra de pécari de collar..... | 46 |
| Figure 5: Células luteales grandes y pequeñas..... | 46 |
| Figura 6: Detalle de la pared folicular de un folículo antral grande con marcaje de P450c17..... | 47 |
| Figura 7: Detalle de un cuerpo lúteo con marcaje de P450c17..... | 47 |
| Figura 8: Marcaje con citocromo aromatasa P450 en células de la granulosa..... | 47 |
| Figura 9: Detalle de un cuerpo lúteo de gestación con marcaje de 3 β -HSD..... | 47 |
| Figura 10: Detalle de la pared folicular de folículos astrales grandes con marcaje de 3 β -HSD..... | 47 |
| Figura 11: Marcaje con 3 β -HSD de folículos atrésicos y glándulas intersticiales..... | 47 |

Estudio 3

| | |
|--|----|
| Figura 1: Imagen de células superficiales y espermáticas mediante citología vaginal..... | 57 |
| Figura 2: Cambios de los genitales externos en relación con el pico de estradiol..... | 58 |
| Figura 3: Cambios medios de las células del epitelio vaginal durante el ciclo estral de la hembra de pécari de collar..... | 59 |
| Figura 4: Citología vaginal de una hembra de pécari de collar a) durante el estro, y b) 14 días después del estro..... | 60 |

Estudio 4

| | |
|--|----|
| Figura 1: Imagen ecográfica en el día 12 de gestación..... | 71 |
| Figura 2: Imagen ecográfica en el día 18 de gestación..... | 71 |
| Figura 3: Imagen ecográfica en el día 30 de gestación..... | 71 |
| Figura 4: Imagen ecográfica en el día 42 de gestación..... | 71 |
| Figura 5: Imagen ecográfica en el día 47 de gestación..... | 71 |

Estudio 5

| | |
|---|----|
| Figura 1: Valores séricos medios de progesterona a lo largo de la gestación..... | 84 |
| Figura 2: Valores séricos medios de 17 β -estradiol a lo largo de la gestación..... | 85 |
| Figura 3: Cambios medios en la citología vaginal a lo largo de la gestación..... | 86 |

Estudio 6

| | |
|---|----|
| Figura 1: Cambios de los porcentajes medios de células epiteliales de la vagina a lo largo del periodo post-parto..... | 95 |
| Figura 2: Valores séricos medios de 17 β -estradiol y progesterona del celo post-parto de hembras que no resultaron gestantes..... | 96 |
| Figura 3: Valores séricos medios de 17 β -estradiol y progesterona de hembras que presentaron pico de estradiol y resultaron gestantes..... | 97 |

Estudio 7

| | |
|--|-----|
| Figura 1: Demografía del zoocriadero de Belém durante período comprendido entre mayo de 1998 y diciembre de 2003..... | 106 |
| Figura 2: Distribución de partos acumulados a lo largo del año en la explotación de Belém..... | 107 |
| Figura 3: Edad al primer parto de las hembras de la explotación de Belém en relación con el número de generación a la que pertenecían..... | 108 |

Anexo II

| | |
|--|-----|
| Figura 1: Infestación parasitaria mensual del pécari de collar en Iquitos..... | 127 |
| Figura 2: Tasa de eliminación de <i>Strongyloides</i> sp. y <i>Ascaris</i> sp. en relación con la precipitación y temperatura media mensual de la región de Iquitos..... | 128 |
| Figura 3: Infestaciones simples y mixtas a lo largo del periodo de estudio..... | 129 |

Anexo III

| | |
|---|-----|
| Figura 1: Evolución de la mortalidad de neonatos en el zoocriadero de Belém a lo largo de las dos primeras semanas de vida..... | 133 |
|---|-----|

RESUMEN

Fisiología reproductiva y desarrollo de métodos diagnósticos del estado reproductivo de la hembra de pécarí de collar (*Tayassu tajacu*, Linnaeus 1758) de la Amazonía

Esta tesis doctoral pretende aportar conocimientos sobre la fisiología de la reproducción y estandarizar técnicas de diagnóstico de gran parte de los sucesos reproductivos que se desarrollan en la hembra de pécarí de collar de la Amazonía.

El examen anatomicohistológico del aparato genital femenino de 24 hembras de pécarí de collar procedentes de la caza en la Amazonía peruana nos ha permitido observar que la hembra de pécarí de collar presenta características morfométricas y estructurales diferentes en oviductos, útero y vagina de acuerdo con la fase sexual de la hembra. Hembras no gestantes en fase folicular presentaron una menor hiperplasia endometrial y un mayor grosor del epitelio vaginal respecto a hembras no gestantes en fase luteal y hembras gestantes. Se realizó la descripción macroscópica y microscópica de los ovarios de pécarí de collar. La tasa de ovulación fue de 2.3 ± 0.6 folículos y la mortalidad embrionaria fue de 0.4 ± 0.6 oocitos o embriones por hembra gestante. La hembra de pécarí de collar presentó oleadas de crecimiento folicular que implican el crecimiento sincrónico de un grupo de folículos. Finalmente, se ha observado la presencia de folículos astrales grandes en hembras gestantes, lo que sugiere la existencia de crecimiento folicular durante el transcurso de la gestación. La inmunohistoquímica mostró que las células luteales del cuerpo lúteo activo presentan una intensa actividad de 3β -HSD en estado avanzado de gestación.

El estudio de 47 ciclos estrales de 14 hembras de pécarí de collar mantenidas en cautividad en Belém (Estado de Pará, Brasil) ha permitido demostrar la utilidad del examen citológico de la vagina y de los signos externos de los genitales como métodos diagnósticos de detección del periodo de estro y de aceptación de la monta de la hembra de pécarí de collar mantenida en cautividad en la Amazonía. Teniendo como punto de referencia las medidas séricas de 17β -estradiol, se observó que la citología vaginal y la observación de los genitales externos detectaron de forma correcta el 80.8% y 88.4% del total de los periodos de estro, respectivamente. El estro se caracterizó por la presencia de moco vaginal, y la apariencia rojiza y tumefacta de los genitales externos. Las hembras en estro mostraron una elevada densidad de células superficiales e intermedias en la citología vaginal. Se observaron signos de monta en el último tercio de la duración del estro.

Este estudio presenta el primer trabajo realizado mediante ecografía en tiempo real en el pécarí de collar. El estudio ecográfico de 10 hembras gestantes permitió determinar el período medio de diagnóstico precoz de gestación a los 22 días de gestación (n=10). No obstante, el diagnóstico de gestación más temprano se realizó a los 18 días de gestación. La sensibilidad de la prueba en el día 26 fue del 100%, y la especificidad en el día 28 fue del 100%. Consecuentemente, se determinó que, a efectos prácticos, el diagnóstico ecográfico precoz de gestación en pécarí de collar es preciso a los 28 días de gestación. Se obtuvieron medidas fetales lo largo de la gestación del pécarí de collar con la finalidad de estimar la edad gestacional y predecir el momento del parto. Las medidas fetales que presentaron una mayor correlación con la edad gestacional fueron la longitud total, y el diámetro y la longitud torácica del feto. Sin embargo, debido a que las medidas torácicas sólo pueden ser calculadas

a partir del día 40 de gestación, se asumió que la longitud total del feto es la medida de elección ya que puede ser obtenida desde la primera detección del embrión.

El estudio del perfil hormonal de progesterona y de 17 β -estradiol de 10 hembras gestantes del pécari de collar, nos permitió observar que las concentraciones de progesterona sérica se incrementaron a partir del 4º día tras la fecundación, llegando a concentraciones de 33.4 ± 5.6 ng/ml en el día 10 de gestación. En el periodo comprendido entre los 10 y 130 días de gestación las concentraciones de progesterona se mantienen entre 20 y 60 ng/ml. En la última semana previa al parto se produjo un descenso de las concentraciones de progesterona hasta niveles de 15 ng/ml. Los valores de 17 β -estradiol se mantuvieron en niveles no detectables durante las dos primeras semanas de gestación. A partir del primer mes de gestación se produjo un incremento considerable de los niveles de 17 β -estradiol hasta alcanzar concentraciones comprendidas entre 20 y 70 pg/ml que se mantuvieron entre los días 20 y 115 de gestación. A partir del día 120 de gestación los niveles de 17 β -estradiol se incrementaron de forma regular hasta llegar a niveles máximos (131.4 ± 40.8 pg/ml) en el día del parto. El examen citológico del epitelio vaginal de 4 hembras gestantes permitió observar que entre los días 25 y 115 de gestación, la hembra gestante presentó un patrón de cambio del epitelio vaginal. No se observaron cambios en los signos externos de los genitales a lo largo de la gestación.

El estudio del periodo post-parto de 20 hembras de pécari de collar permitió confirmar que esta especie puede presentar un celo ovulatorio y fértil en el período post-parto temprano. En 16 hembras se observó un pico de 17 β -estradiol a los 7 ± 1.5 días post-parto se observó un pico de 17 β -estradiol, llegando a valores de 53.4 pg/ml. En las hembras que presentaron pico de estradiol, se observó un patrón de cambio de las células del epitelio vaginal compatible con una citología de celo. Los niveles séricos de progesterona se incrementaron a partir del día 10 post-parto, llegando a niveles de 30.8 ± 4.9 μ g/ml en el día 18 después del parto. Doce (60%) hembras fueron montadas por el macho el día 8.8 ± 1.3 post-parto, y 6 (30%) hembras resultaron gestantes. Cuatro (20%) hembras no mostraron sintomatología de celo post-parto y presentaron bajos niveles medios de progesterona y estradiol séricos

En este estudio se presentan los parámetros reproductivos resultantes del seguimiento de una explotación de Belem (Estado de Pará, Brasil), y de una explotación de Iquitos (Perú). Los partos se distribuyeron homogéneamente a lo largo del año. La duración media de gestación fue de 138 días (n=12). El tamaño promedio de la camada fue de 1.9 crías por parto (n=53), con una tasa de sexos de 1:1.07 (machos:hembras). La edad media al primer parto fue a los 595 días (n=19), sin embargo el primer parto más temprano se observó en una hembra a los 381 días de edad. La edad media a la primera cópula fértil fue de 453 días (n=19), y la fecundación más temprana fue estimada a los 239 días. El celo post-parto fue observado a los 8.6 días tras el parto (n=18). El intervalo estimado de parto-concepción fue de 41 días (n=32). El intervalo medio entre partos fue de 179 días (n=32). La producción media en 14 hembras de Belém fue de 2.3 camadas/hembra/año, y de 4.4 crías/hembra/año (n=32). La producción media en 8 hembras de Iquitos fue ligeramente inferior con 2.1 camadas/hembra/año, y de 3.3 crías/hembra/año (n=8). Este estudio sugiere que el pécari de collar mantenido en condiciones de cautividad presenta una productividad reproductiva interesante para el desarrollo zootécnico de esta especie.

Palabras clave: pécari de collar, *Tayassu tajacu*, cautividad, biología reproductiva, anatomía, histología, tracto genital femenino, estro, citología vaginal, genitales externos, ecografía, gestación, progesterona, 17 β -estradiol, celo post-parto, parámetros reproductivos.

SUMMARY

Reproductive physiology and development of diagnostic methodologies of the reproductive state of the female collared peccary (*Tayassu tajacu*, L. 1758) from the Amazon

The aim of this study is to provide more knowledge on the reproductive physiology and the establishment of diagnostic methods of reproductive events which occur in the female of collared peccary from the Amazon region.

The anatomicohistological observations of genital organs of 24 wild adult collared peccary females showed different histological features of the uterine tubes, uterus and vagina in accordance with the reproductive state of the female. Pregnant females and females in luteal phase showed a more developed hyperplasia of the endometrial simple tubular glands than females in the follicular phase. Females in follicular phase presented a thicker vaginal epithelium than pregnant females and females in luteal phase. A description of the macroscopic and microscopic features of the ovaries is presented. Observations indicate that the female collared peccary has a mean ovulation rate of 2.3 ± 0.6 follicles and the mean ovum mortality was 0.4 ± 0.6 oocytes or embryo per pregnancy. The female presented a follicular wave involving the synchronous growth of a group of follicles from which several seem to attain dominance over the others. The presence of antral follicles in pregnant females suggests that a follicular turnover could be taking place during pregnancy. Immunohistochemistry showed that luteal cells from active corpora lutea presented intensive 3β -HSD activity at advanced stages of pregnancy.

The study of a total of 47 oestrous cycles of 14 captive collared peccary females allowed to determine the utility of vaginal cytology and external genitalia features as diagnostic method for predicting the oestrus and the period of sexual receptivity. Based on serum oestradiol- 17β measurements, we have observed that vaginal smears have detected the 80.8% of the total oestrus and, appearance of external genitalia detected the 88.4% of the total oestrus. The oestrus was characterised by presence of vaginal mucus, and reddish and tumefacted appearance of external genitalia. Females in oestrus showed increased density of superficial and intermediate cells in vaginal smears. Mating was located on the last third of the oestrous length.

This study presents the first work through real-time ultrasonography in captive collared peccary females. The ultrasonographic study of 10 pregnant females allowed to diagnose pregnancy, based on the detection of the embryo, on Day 22 in average ($n=10$). Nevertheless, the earliest definitive pregnancy diagnosis could be performed on Day 18. Sensitivity of the pregnancy diagnosis on Day 26 was 100%, and specificity on Day 28 was 100%. Consequently, from a practical point of view, we determined that pregnancy diagnosis through ultrasonography could be performed on Day 28 of pregnancy. Foetal measurements of collared peccary were collected in order to estimate gestational age and predict parturition day. The foetal measurements which presented higher correlations with the gestational age were crown-rump-length (CRL), thoracic length and diameter. CRL was assumed to be the most practical measurement because, contrary to thoracic foetometry, it was available since the first embryo detection.

The study of progesterone and oestradiol- 17β serum profiles in 10 pregnant females of collared peccary, allowed to determine an increase in progesterone levels by Day 4 after conception, reaching levels of 33.4 ± 5.6 ng/ml on Day 10 of pregnancy. Serum levels of progesterone between Days 10 and 130 of pregnancy were maintained at values between 20 and 60 ng/ml. Three or six days before parturition a decrease in progesterone levels (15 ng/ml) was detected. During the two first weeks of pregnancy, serum estradiol- 17β concentrations showed no detectable levels. From Day 15 of pregnancy onwards, the females showed an increase of concentration, reaching levels of 70 pg/ml between Days 20 and 115. From Day 120 onwards, oestradiol- 17β levels regularly increased, reaching levels of 131.4 ± 40.8 pg/ml on parturition Day. The examination of vaginal cytology in 4 collared peccary females showed a pattern of change of the cells of vaginal epithelium between 25 and 115 days of pregnancy. The external genitalia features showed no pattern of change along pregnancy of collared peccary.

The study of the post-partum period of 20 collared peccary females allowed confirming the occurrence of an ovulatory and fertile oestrus in the early post-partum period. Sixteen out of the 20 collared peccary females presented a serum oestradiol- 17β peak (53.4 pg/ml) on Day 7 ± 1.5 of post-partum period. Serum progesterone levels increased from Day 10 to 18 post-partum, reaching levels of 30.8 ± 4.9 μ g/ml. In these cycling females, a pattern of change on the cells of vaginal epithelium it was observed. Twelve (60%) females presented sperm cells through vaginal cytology on Day 8.8 ± 1.3 of the post-partum period, and 6 (30%) became pregnant. Four (20%) females showed no oestrous signs and progesterone and oestradiol- 17β levels presented basal values.

Reproductive parameters of two collared peccary farms located in Iquitos (Peru) and Belém (State of Pará, Brazil) were analysed. Parturitions occurred throughout the year. The mean duration of the gestation was 138 days ($n=12$). The average litter size was 1.9 newborns per parturition ($n=53$). Collared peccary females had a newborn sex ratio of 48.2% males and 51.8% females. The mean age at first parturition was 615 days. Nevertheless, the earliest first parturition occurred at 381 days old. Mean age at first conception was 453 days ($n=19$), and the earliest estimated first conception was 239 days. First post-partum estrus was observed at 8.6 days ($n=18$). The estimated parturition-conception interval was 41 days ($n=32$). The mean calving interval was 179 days ($n=32$). Mean production was 2.35 litters per female and year. Taking into account the prolificacy and number of births per female and year, the reproductive production was 4.4 newborns per female and year ($n=32$). Production in Iquitos was 2.1 litters per female and year, and 3.3 newborns per female and year ($n=8$). This study suggests that collared peccary raised in captivity presents interesting reproductive parameters for the zootechnical development of this species.

Key Words: collared peccary, *Tayassu tajacu*, captivity, reproductive biology, anatomy, histology, female genital tract, oestrus, vaginal cytology, external genitalia, ultrasonography, pregnancy, progesterone, oestradiol- 17β , post-partum oestrus, reproductive parameters.

INTRODUCCIÓN

Existen al menos 62 países del mundo en los cuales la caza contribuye con más de un 20% de la proteína animal de la dieta de las personas (Stearman y Redford, 1995), y en ciertas áreas de la Amazonía sus pobladores llegan a satisfacer el 100% de su demanda proteínica a través de la caza (Redford y Robinson, 1991). De esta forma, la caza de animales silvestres en la Amazonía constituye una importante fuente de proteína y de ingresos económicos (FitzGibbon, 1998). Sin embargo, el impacto potencial de la caza sobre las poblaciones de animales puede ser enorme (Lavigne et al., 1996), llegando a reducir las poblaciones de mamíferos en zonas periurbanas amazónicas (Hames, 1991; Mitchell y Raez Luna, 1991; Alvard, 1998).

Igualmente, el aumento de las poblaciones urbanas amazónicas entre 1980 y 2000 (llegando a los 13.9 millones de habitantes), conlleva un aumento en la demanda de productos de origen silvestre, el incremento en las tasas de extracción de animales silvestres y en último término la degradación del ecosistema (Ministerio de Meio Ambiente do Brazil, 2002). Otros factores básicos que provocan la destrucción de la biodiversidad amazónica son el aumento de la extracción mineral y maderera (Lahm, 1993), y la apertura de redes viales como la carretera Transamazónica que provoca el acceso a zonas que antes servían de refugio para la fauna (Homma, 2002).

Los principales mercados de carne silvestre se encuentran en las poblaciones urbanas. Los productos de origen silvestre se venden pública o clandestinamente y se ofrecen en restaurantes y puestos de venta de comida. La demanda en el Perú rural amazónico es tan elevada que la carne de origen silvestre suministra más alimento proteíco (13000 tn/año) que la ganadería (10000 tn/año) (Brack, 1994). Esta situación es probablemente similar en otros países amazónicos (Smythe, 1976; Bonaudo et al., 2001).

Esta presión a la que se ve sometida el ecosistema amazónico es tan grande, que la biodiversidad amazónica se está viendo amenazada sin poder ser aprovechada por sus poblaciones. De esta forma, es necesaria la instauración de sistemas alternativos de manejo sostenible a largo plazo y basados en la utilización de productos locales que permitan la conservación y el rendimiento productivo de los recursos faunísticos por parte de las comunidades nativas.

En la actualidad existen limitados conocimientos precisos sobre la fauna del bosque húmedo tropical amazónico. Es importante realizar estudios completos de aquellas especies que ya están siendo utilizadas para desarrollar sistemas de producción experimentales y potencialmente viables (Feer, 1993).

La cría de animales silvestres se erige como una alternativa para la producción rural al permitir obtener beneficios a partir de los recursos naturales existentes (Bowman, 1980; Jori et al., 1998; Jori, 2001). El objetivo primordial de la zoocría consiste en abastecer legalmente una demanda ya establecida con animales nacidos en cautividad y criados para ese mismo fin: producir proteínas de calidad para las poblaciones y generar un desarrollo para las comunidades rurales. No obstante, para tener una visión más concreta de su utilidad es necesario estudiar la viabilidad, el valor sostenible y conservacionista, y el aporte socioeconómico de estos sistemas de manejo (Ojasti, 2000).

El pécaro de collar es un animal tradicionalmente conocido dentro del territorio amazónico. Su carne es semejante a la del jabalí (*Sus scrofa*) y su cuero es uno de los más valorados en la industria del cuero. De esta forma, el interés económico de la cría de esta especie se debe a la elevada demanda a nivel local, nacional e internacional que presenta. El hecho de que sea una de las especies más apreciadas por las poblaciones amazónicas conlleva que igualmente sea una de las especies más perseguidas (Bodmer

et al., 1988; Vickers, 1993; Redford, 1993) y que sus densidades hayan disminuido de forma importante en algunas zonas de la Amazonía. Consecuentemente, el pécari de collar puede ser un importante candidato a la hora de plantear programas racionales de manejo y producción, que puedan aliviar la fuerte presión de caza a la que se ve sometida esta especie en su área de distribución.

La cría de pécari de collar, y de especies silvestres en general, aún se encuentra en estado incipiente. Las iniciativas son escasas y generalmente promovidas por los propios estados o instituciones estatales. Es necesario el desarrollo de estudios que permitan el aprovechamiento de esta especie, sin diezmar sus poblaciones naturales. El éxito de la cría en cautividad depende del conocimiento de los aspectos biológicos y zootécnicos de la especie. De esta forma, es imprescindible perfeccionar los sistemas de zoocría para más tarde estimular la extensión a nivel de los pobladores locales en aquellas áreas de Amazonía y Latinoamérica donde exista un mercado importante.

A pesar del gran interés que suscita esta especie, pocos son los estudios que se han realizado sobre

su biología. El conocimiento de la fisiología reproductiva es un factor muy importante para estudiar la viabilidad de los sistemas de zoocría y optimizar su eficiencia. Varios investigadores se han interesado en el estudio del pécari de collar en dos hábitats bien diferenciados: zonas semiáridas de Texas y Arizona (EEUU) y Amazonía. Sin embargo, la mayor parte de estudios del pécari de collar se han llevado a cabo en zonas semiáridas del sur de EEUU. Por lo tanto, la aptitud zootécnica de esta especie en la Amazonía permanece prácticamente desconocida (Gottdenker and Bodmer, 1998).

El presente estudio pretende aportar datos sobre la fisiología reproductiva del pécari de collar en su hábitat natural que permitan comprender aspectos reproductivos de sus poblaciones salvajes y analizar el potencial reproductivo de la especie para su mantenimiento en cautividad en la Amazonía. Con esta finalidad, el presente estudio pretende analizar y detectar gran parte de los sucesos reproductivos que se desarrollan en una hembra desde el inicio del ciclo estral hasta el parto y del periodo que tiene lugar hasta la siguiente gestación, y que pueden contribuir a mejorar el rendimiento productivo de su cría en cautividad

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1. La actividad de la caza

En nuestra sociedad occidental, el hombre se ha ido distanciado del uso ancestral de la fauna como recurso económico y fuente de alimento, a medida que su dependencia de los animales domésticos ha ido incrementándose. Sin embargo, la fauna se mantiene como un recurso fundamental en una proporción importante de países en vías de desarrollo, sobretodo en aquellos lugares que conservan superficies importantes de ecosistemas naturales y poco antropizados. La caza aparece como una de las formas más ancestrales del uso de la fauna por el hombre, y a pesar de que se mantiene como una actividad fundamental en gran parte de las áreas rurales de América Latina, su papel socioeconómico y su impacto ecológico han sido ignorados durante largo tiempo por la comunidad científica. Sin embargo, esta situación se ha revertido en las últimas décadas, y hoy en día el papel de la fauna como recurso natural y económico está ampliamente documentado (Robinson and Redford, 1991; Ojasti, 1993; Ojasti, 2000) y aceptado por la comunidad internacional (Robinson and Bennett, 2000).

La Ley de Protección a la Fauna Silvestre de Venezuela (Venezuela, 1970) define la caza como “la búsqueda, persecución, acoso, aprehensión, o muerte de animales de la fauna silvestre, así como la recolección de los productos derivados de ella”. La caza que se practica en la actualidad en la Amazonía podría dividirse básicamente en caza de subsistencia y caza comercial.

Caza de subsistencia

La caza de subsistencia es la forma más frecuente de caza en áreas de bosque tropical. En la actualidad, la caza de subsistencia no está considerada como un delito en la mayor parte de los países que forman parte de la cuenca amazónica (Ojasti, 1986). El cazador de subsistencia es típicamente rural, pobre, y caza para abastecer a su familia. Sin embargo, y, en ciertos casos, el producto de la caza también puede ser comercializado (Ríos, 2001). Las

poblaciones que practican esta actividad constituyen un conjunto heterogéneo que se puede desglosar en dos grupos principales: i) los indígenas tradicionales de identidad tribal, estrechamente vinculados con los ecosistemas tradicionales y más o menos aislados del sistema económico, político y cultural del país; y ii) los campesinos (agricultores, minifundistas, colonos, obreros de haciendas, mineros, extractivistas, pescadores, etc.) que constituyen la gran masa popular en áreas rurales. Existen situaciones intermedias según los diversos grados de transculturalización (Redford y Robinson, 1987; Vickers, 1993; Ojasti, 1993).

Estudios realizados en Perú y Brasil muestran que la caza de subsistencia provee a los pobladores locales de 10 a 465 gramos diarios de carne fresca per cápita (Pierret y Dourojeanni, 1967; Denevan, 1971; Ríos *et al.* 1973; Smith, 1976; Berlin y Berlin, 1978; Bonaudo *et al.*, 2001). Según estos mismos autores la caza proporciona del 34 al 40% del consumo de proteínas que se ingieren en la Amazonía peruana. Ello es ligeramente inferior a las proteínas provenientes del pescado y mucho mayor que las provistas por las aves de corral, los porcinos y los ovinos.

El mayor aporte socioeconómico actual de la fauna silvestre neotropical es probablemente su contribución nutricional al campesinado a través de la cacería de subsistencia. Así, en las selvas tropicales cubre el requerimiento mínimo de proteínas de la población indígena en la mayoría de casos y aporta un promedio de un 20% de la demanda proteica de los campesinos colonos (Ojasti, 1993). Esta cacería, al tratarse de autoconsumo dentro de una economía marginal, suele ser ignorada por los estados.

Caza comercial

La caza comercial aporta bienes de cambio e involucra, además del cazador, un producto con un precio y a menudo una cadena de intermediarios entre cazador y consumidor. Se practica en varias formas y escalas, desde un

cazador de subsistencia que vende pieles de animales abatidas para su propio consumo, pasando por el cazador de oficio o artesanal que opera por su cuenta, hasta la caza organizada, donde el cazador es sólo un obrero de hacienda o empresa a cargo de la matanza y procesamiento de las presas. La caza presenta diversos matices según sea función de sus productos principales, tales como carne, piel, cuero o animales vivos. A éstos se agregan productos de la fauna silvestre para la artesanía local, medicina popular, magia o industria farmacéutica, así como vistosos animales disecados para turistas y coleccionistas (Ojasti, 2000).

a.- La caza para carne

Un prerrequisito de cualquier actividad comercial es la demanda. La carne de monte es un artículo de primera necesidad y de alta demanda. Es un producto de consumo popular que se vende generalmente a precios inferiores a los de otras carnes (Ojasti, 1993). Sin embargo en zonas urbanas donde la fauna es escasa puede alcanzar precios propios de un producto de lujo. Este comercio popular, legal o ilegal, se encuentra muy difundido en la Amazonía y en gran parte de América Latina (Ojasti, 2000).

En el comercio local de la fauna silvestre y sus productos predomina la venta de carne silvestre. Es un comercio informal y sus alcances son poco conocidos. En poblados menores los precios de carne silvestre suelen ser inferiores a los de animales domésticos, pero en grandes ciudades sucede lo contrario. La venta anual de carne silvestre en Iquitos alcanzó US\$ 195 355, apenas con el 1.5% de la venta total de carne en dicha ciudad (Ojasti, 2000). En São Paulo, el precio de la carne de animales silvestres es de 3 a 4 veces superior al precio de carne de cerdo doméstico.

En cualquier caso, la venta de carne de caza es habitual en la mayoría de mercados locales y urbanos de la región amazónica. En el mercado de Iquitos (Perú) las especies más frecuentemente vendidas son (Mondolfi, 1972; Ojasti, 1986): pécari de collar *Tayassu tajacu* (44% en peso respecto al total), paca *Agouti paca* (34%), venados *Mazama spp.* (7%), pécari labiado *Tayassu pecari* (6%), y varias especie de

primates (principalmente *Lagothrix*, *Alouatta* y *Ateles* (5%)). Se observó una venta considerable de tortugas vivas (*Geochelone carbonaria*, *Podocnemis expansa*, *P. unifilis*). El promedio de peso de carne de monte vendida en Iquitos es de 255 kg/día. La carne se vende salada, ahumada o fresca, según las facilidades del transporte y las tradiciones locales. En la Amazonía peruana un cazador abate anualmente como promedio: 142 pecaríes labiados y 118 pecaríes de collar, llegando hasta unos máximos de 600 y 700 individuos, respectivamente (Mondolfi, 1972).

Diversas estadísticas y extrapolaciones documentan los alcances de la extracción comercial de animales silvestres para alimento. La carne de monte suele ser el producto de mayor valor económico de la caza comercial en la Amazonía. Sin embargo, la cacería y comercio de carne silvestre se desenvuelven dentro de una economía informal, local y mayormente ilegal, que no genera estadísticas confiables y cuyos alcances reales se desconocen (Ojasti, 2000).

b.- La caza para pieles y cueros

La obtención de pieles, cueros y otras estructuras tegumentarias (caparazones, plumas, lana) para un mercado externo es el otro incentivo tradicional de la caza. Las pieles de gran variedad de animales son procesadas y vendidas ocasionalmente como artículos típicos o son guardados como trofeos, pero pocas especies nativas poseen pieles de valor comercial establecido.

La caza para pieles y cueros puede ser una actividad complementaria de las labores agropecuarias, pesqueras o de la cacería comercial en busca de carne de monte. Sin embargo, durante el apogeo de la cacería para pieles tropicales en los años sesenta, muchos campesinos, incentivados por los precios, se internaron por meses en las selvas amazónicas en busca de felinos y mustélidos (Smith, 1976; Redford and Robinson, 1991).

La demanda de cueros de pecaríes empezó a aumentar a mediados del siglo XX. Más de 2.000.000 de pecaríes de collar (*Tayassu tajacu*)

y más de 800.000 de pecarí de labio blanco (*T. pecari*) fueron exportadas de Iquitos en el Perú entre 1946 y 1966 (Redford and Robinson, 1991). En los años 80, el comercio del cuero del pécari de collar adquiere una importancia básica en el comercio de cueros, donde forma el 23% en valor económico y el 39% en número de cueros (Redford and Robinson, 1991). En la actualidad, el pécari de collar (*Tayassu tajacu*) y el pécari labiado (*Tayassu pecari*) son respectivamente la primera y segunda especie más importante en número de cueros comercializados en la Amazonía peruana.

La caza comercial de exportación es casi la única que genera estadísticas sobre su contribución a la economía regional o nacional. No obstante, debido a que la mayor parte de esta caza es ilegal las cifras oficiales no se adecuan a la realidad. La caza comercial se destaca como la actividad más destructiva para la fauna. Es obvio que, en ausencia de controles efectivos, la cacería prosigue siempre que haya demanda y los ingresos excedan a los costes. Los alcances de la caza comercial dependen de la relación entre oferta y demanda. Un libre aprovechamiento comercial puede ser sostenible a escala local. Pero su extensión a la demanda nacional e internacional supone un vertiginoso aumento de la demanda e intentar abastecer todo ese mercado conlleva inexorablemente a la pérdida del recurso y con ello un empobrecimiento de los ecosistemas.

En la actualidad, la distinción entre caza de subsistencia y comercial muchas veces es confusa ya que en determinadas circunstancias muchos cazadores de subsistencia venden excedentes o incluso la totalidad de la caza. De esta forma, especies que no forman parte de la dieta habitual permiten establecer una importante economía de mercado (Clement, 1986; Ojasti et al., 1987; Redford y Sterman, 1989; Peres, 1990; Nair, 1993). La consecuencia directa de estas exigencias de mercado consiste en que muchos cazadores de subsistencia reorientan sus actividades en función de las exigencias económicas (Bodmer et al., 1988).

2. Impacto de la caza en los bosques húmedos tropicales

Tal y como hemos comentado anteriormente, la caza es importante como fuente nutritiva y como fuente de ingresos económicos (Lahm, 1993; Redford, 1993; FitzGibbon, 1998). La caza constituye una de las pocas actividades a través de la cual los pobladores amazónicos pueden obtener beneficios de la fauna salvaje nativa. No obstante, en muchas ocasiones la caza se convierte en un elemento conflictivo a la hora de facilitar la conservación. Muchas especies de la Amazonía, sobretodo las que poseen un valor comercial importante, se encuentran en peligro de extinción a nivel local e incluso a nivel global debido a una excesiva presión de caza (Robinson y Redford, 1986; Emmons, 1990). Generalmente, el comercio de animales silvestres para satisfacer las demandas externas de mercado conlleva de forma inequívoca a la sobreexplotación y al incremento de la extinción de especies concretas, mientras que la caza de subsistencia constituye en general una actividad perfectamente sostenible e incluso reguladora de los equilibrios dinámicos del ecosistema (Alvard, 1998; FitzGibbon, 1998; Ojasti, 2000). Todo ello junto con el aumento de la extracción mineral y de madera, que supone una actividad de devastadora, si cabe mayor que la caza al acelerar la destrucción del ecosistema, provoca una sobrecarga sobre la ya elevada tasa de mortalidad natural de estos animales (Lahm, 1993).

Partiendo de la premisa de que las poblaciones humanas de la Amazonía dependen de los mamíferos para la obtención de proteína y como fuente de ingresos económicos (Lahm, 1993; Redford, 1993; FitzGibbon, 1998), la preservación efectiva del ecosistema forestal amazónico como hábitat de caza es importante a la hora de evitar deficiencias proteicas en la dieta de dichos pobladores. En la realidad de los ecosistemas húmedos tropicales, ningún alimento de origen vegetal es capaz de suplantar el aporte proteico de origen animal. Consecuentemente es importante que estas poblaciones desarrollen sistemas que permitan el uso sostenible de un amplio rango de recursos forestales (Koppert et

al., 1993), dentro de los cuales se incluye la fauna.

Debido a la no sostenibilidad del actual sistema de caza es necesario buscar alternativas ecológica y económicamente más apropiadas basadas en el establecimiento de sistemas de manejo de los animales silvestres desde su propio hábitat para conseguir una máxima productividad sostenible a largo término. En la actualidad existen limitados conocimientos relativos a la fauna del bosque húmedo tropical debido a que se ha ignorado el potencial económico de este gran ecosistema. Es importante realizar estudios completos de las especies que ya están siendo utilizadas y analizar sus parámetros de reproducción, crecimiento y productividad, para desarrollar sistemas de producción experimentales o potencialmente viables (Feer, 1993).

3. Sistema de manejo alternativo de la fauna silvestre: La zoocría

Una solución alternativa a este problema consiste en la zoocría. Este sistema de manejo alternativo consiste en la domesticación de especies nativas que ya estén adaptadas al ambiente, que puedan ser alimentadas con productos extraídos del ecosistema y que proporcionen proteína de alta calidad. Este sistema de cría también recibe el nombre de “minicría” debido a que se basa en la producción de especies silvestres económicamente rentables a pequeña escala (Chardonnet et al., 1995; Jori, 1997). Por otro lado, la cría de animales silvestres puede ser presentada como una actividad que puede permitir el aprovechamiento de áreas improductivas de propiedades rurales.

El objetivo primordial de la cría de animales silvestres no es simplemente el de criar para producir carne para el consumo, sino para abastecer legalmente un mercado comprador ya establecido, con animales nacidos en cautividad y criados para ese mismo fin: producir proteínas de calidad para las poblaciones y generar un desarrollo para las comunidades rurales próximas a centros urbanos. La cría en cautividad requiere pequeñas áreas cerradas y densidades elevadas de

población que permiten intervenir directamente en el proceso de producción.

Los aspectos económicos pueden constituir un importante factor limitante de la cría en cautividad de animales silvestres. Son un factor primordial ya desde un principio a la hora de realizar inversiones, a la hora de obtener individuos reproductores, y sobretodo en la construcción de las instalaciones del sistema de cría. Pueden también ser un factor limitante importante a la hora de alimentar los animales con fuentes de proteína.

Por otra parte, la zoocría sólo parece viable en situaciones en que la fauna sea escasa y difícil de obtener a través de la caza. Es el caso de las zonas urbanas y periurbanas de las grandes capitales de Amazonía, en donde la demanda es importante y el precio de la carne de caza elevado. En caso contrario, en zonas rurales donde la fauna es todavía abundante, el precio es mas bajo y la abundancia de la fauna difícilmente justifica el esfuerzo de su cría en cautividad (Jori, 2001).

4. El pécarí de collar (*Tayassu tajacu*)

El nombre de esta especie, “pécarí”, tiene origen Tupi (lengua indígena brasileña) y significa “animal que hace caminos a través de los bosques”. El término “Tayassu”, que el nombre del género de la especie del pécarí de collar, también tiene origen indio y significa “buscador de raíces” (Sowls, 1997).

La clasificación taxonómica del pécarí de collar se resume en la Tabla 1.

Tabla 1: Clasificación taxonómica de la familia Tayassuidae:

| |
|-----------------------|
| Orden: Artiodactyla |
| Suborden: Suiformes |
| Infraorden: Suina |
| Superfamilia: Suoidea |
| Familia: Tayassuidae |
| Género: Tayassu |
| Especie: |

Tayassu tajacu (pécaro de collar)
Tayassu pecari (pécaro labiado)
Catagonus wagneri (pécaro del Chaco)

El pécaro de collar es el menor en tamaño de los pecaríes con un peso de 20-30 kg, en comparación con el pécaro labiado (*Tayassu pecari*) (40-60 kg) y el pécaro del Chaco (*Catagonus wagneri*) (40-80 kg) (Méndez, 1982; Mayer y Brandt, 1982; Sowls, 1997). El color general de su pelaje es fuertemente oscuro, siendo grisáceo-blanquinoso en las extremidades y a lo largo de la cresta dorsal, con una banda blanquecina que pasa por detrás del hombro rodeando el cuello. No hay dimorfismo sexual, por lo que machos y hembras presentan un pelaje similar. Sin embargo, los juveniles presentan un pelaje caracterizado por ser más suave y por una coloración rojiza, con manchas blanquecinas y con una marca lineal oscura a lo largo de la cresta dorsal y otra marca clara como collar rodeando el cuello. El cambio de pelaje tiene lugar entre los dos y tres meses de edad.

El pécaro de collar puede subsistir en una gran variedad de hábitats. El pécaro de collar se encuentra en gran parte del continente americano, desde el sur de los EEUU hasta el norte de Argentina (Sowls, 1997).

4.1. Biología del pécaro de collar

El pécaro de collar es considerado un frugívoro primario. La dieta de esta especie varía de acuerdo con el hábitat en el que se encuentre. Sin embargo, la dieta habitual del pécaro de collar está constituida por raíces, tubérculos, frutos, y partes verdes comestibles de plantas.

Al igual que el resto de pecaríes, el pécaro de collar es un animal con un grado de sociabilidad elevado. Vive en manadas que pueden estar compuestos por unos 10 a 30 individuos y los territorios de la manada suelen abarcar aproximadamente unas 150 hectáreas. No obstante, se ha observado que los territorios de la manada están comprendidos entre las 24 y 800 hectáreas (Sowls, 1997).

Los cambios más frecuentes en el tamaño de la manada tienen lugar debido a muertes y nacimientos. No obstante, a pesar de esta gran estabilidad del grupo, los individuos pueden salir del grupo de forma ocasional y otros nuevos pueden entrar en él. Schweinsburg (1971) concluyó que existen dos tipos de cambios. El primero son fluctuaciones temporales debido a luchas jerárquicas intergrupales. Estos individuos desplazados permanecen en localizaciones próximas a su manada original y después de un periodo de tiempo vuelven al mismo lugar. El segundo tipo de movimiento son cambios permanentes y son individuos que cambian de manada de forma definitiva. También existen agregaciones temporales de varios grupos o manadas en épocas de fructificación que se disgregan al cabo de algunas semanas (Castellanos, 1982; Fragoso, 1994)

El pécaro de collar aparentemente se encuentra muy activo a lo largo de todo el día, sin embargo, en condiciones normales su mayor actividad se concentra en las primeras horas de la mañana y en el atardecer (Castellanos, 1982). En épocas calurosas suelen mostrar mayor actividad por la noche. Jennings y Harris (1953) en Texas observaron que las manadas de pecaríes de collar se trasladan durante horas diurnas y se alimentan bien temprano por la mañana para volver a sus nichos durante las horas fuertes de sol. Elder (1956) observó que la búsqueda en las pozas de agua se produce a primeras horas del día y en el atardecer. Bissonette (1978) observó que la actividad de búsqueda de alimento está directamente correlacionada con la temperatura, de tal forma que durante épocas calurosas el pécaro de collar se alimenta por la noche y durante épocas más frías retrasa su alimentación a primeras horas de la mañana.

El pécaro de collar separado de la madre y manejado por el hombre a temprana edad es capaz de habituarse a la presencia humana. Si los individuos jóvenes se manejan en la época de aprendizaje éstos seguirán al hombre como si fuera su propia madre (Sowls, 1984). Éste mismo autor observó que este periodo de aprendizaje se inicia a los tres días de edad, no obstante existen

ligeas diferencias individuales. Sin embargo, los neonatos que fueron amamantados en condiciones naturales mantuvieron el carácter salvaje de sus progenitores (Sowls, 1997).

4.2. Parámetros reproductivos

La elección de una especie silvestre para ser introducida en sistemas de producción está determinada por los parámetros biológicos referentes a reproducción, crecimiento, comportamiento en cautividad y requerimientos energéticos. Algunos de estos factores pueden llegar a ser manipulados en cautividad. Sin embargo, los parámetros reproductivos presentan una menor variabilidad y menor capacidad de optimización a corto plazo (Feer, 1993).

Varios investigadores se interesaron en el estudio de la fisiología reproductiva del pécari de collar en dos hábitats bien diferentes: las zonas semiáridas de Texas (EEUU) y la Amazonía peruana. Ambas localizaciones geográficas presentan grandes diferencias medioambientales que pueden explicar la existencia de datos controvertidos en la literatura referencial. Sin embargo, la mayoría de estudios del pécari de collar se han llevado a cabo en zonas semiáridas. Por lo tanto, la biología reproductiva del pécari de collar en la Amazonía permanece prácticamente desconocida (Gottdenker y Bodmer, 1998).

Sowls (1984) y Hellgren et al. (1995) observaron que en Texas, el pécari de collar presenta una estacionalidad de partos, con un pico de partos durante las épocas de lluvias. No obstante, Low (1970) demostró que los machos de pécari de collar de Texas presentan una producción espermática constante durante el año.

A diferencia de las regiones semiáridas de Texas, en la Amazonía el pécari de collar es una especie considerada como poliéstrica no estacional (Gottdenker and Bodmer, 1998; Henry y Dubost, 1990; Silva et al., 2002).

El ciclo estral del pécari de collar presenta una longitud de 21 y 25 (Sowls, 1997). Mauget et al. (1997) en la Guyana Francesa observaron una ciclicidad ovárica mayor con un promedio de

27.8 ± 1.5 días, con una amplia variabilidad entre individuos (desde 23 hasta 34 días). La duración de la receptividad sexual por parte de la hembra varía entre 2.6 y 4.8 días (Lochmiller et al., 1984; Mauget et al., 1997; Sowls, 1997).

La tasa de ovulación del pécari de collar varía entre 2 y 2.1 ovulaciones por hembra (Hellgren et al., 1985; Gottdenker and Bodmer, 1998), y el tamaño medio de camada es de 1.7 a 1.9 fetos o neonatos por hembra gestante (Lochmiller et al., 1984; Gottdenker and Bodmer, 1998; Nogueira-Filho and Lavorenti, 1997).

El peso de la hembra de pécari de collar a la primera monta fértil es de 16 kg, y 23 kg al primer parto (Sowls, 1984). Por otro lado, Nogueira-Filho and Lavorenti (1997) determinaron una edad al primer parto de 416 ± 88.94 días.

La longitud de la gestación varía entre 141 y 151 días (Lochmiller et al., 1984; Sowls, 1997). No obstante, existen referencias de una longitud de gestación de 160 días (Roots, 1966). Todas esas referencias son resultados de estudios realizados en Texas.

Asumiendo que son especies no estacionales, que presentan un celo post-parto y teniendo en cuenta el intervalo parto-concepción, la producción reproductiva potencial de pécari de collar en la Amazonía peruana es de 1.4-1.8 camadas por año (Gottdenker y Bodmer, 1998). Según estos datos, el pécari de collar presenta en la Amazonía peruana un intervalo entre partos de 203-261 días. Nogueira-Filho and Lavorenti (1997) observaron un intervalo entre partos de 215.15 ± 57.06 días. Teniendo en cuenta estos parámetros podríamos deducir que en la Amazonía el celo post-parto del pécari de collar no existe o bien no es fértil, y que el anestro está determinando por las largas estimaciones del intervalo parto-concepción. No obstante, Sowls (1984) en Texas observó la existencia de celo post-parto y que la monta de este celo podría ser efectiva cuando ésta tuviera lugar entre los 6 y 16 días después del parto y cuando los neonatos fueran previamente separados de la madre. Según estudios de Low (1970), los pecaríes de collar

que se encuentran en buenas condiciones corporales podrían superar con mayor facilidad el anestro lactacional. De esta forma, el celo ovulatorio post-parto permitiría acortar el intervalo entre partos. No obstante, no existe información completa acerca de que este celo post-parto conlleve la ovulación. Tampoco existen datos del anestro lactacional ni del celo post-parto del pécari de collar en la Amazonía.

5. Justificación de la cría del pécari de collar

Tal y como hemos comentado con anterioridad, en la Amazonía, el pécari de collar (*Tayassu tajacu*) junto con el pécari labiado (*Tayassu pecari*) es uno de los animales más depredados por el hombre.

Los parámetros biológicos relativos a la reproducción y a la producción de carne son básicos a la hora de escoger especies susceptibles a entrar en sistema de zoocría. El pécari de collar presenta una eficacia reproductiva mayor con tasas de crecimiento óptimas respecto a otras especies silvestres. Adicionalmente, el pécari de collar presenta unos niveles considerablemente elevados de crecimiento debido a la combinación de su ganancia media diaria de peso junto a los partos múltiples y un ciclo reproductivo reducido.

El pécari de collar posee una carne muy valorada en la cultura amazónica y occidental. Por otro lado, el cuero de pécari es uno de los más valorados por la industria del cuero internacional, debido a su suavidad y durabilidad, dos cualidades que son difíciles de encontrar en un mismo cuero. En este sentido, la cría en cautividad de esta especie permite obtener cueros de mayor calidad y menos dañadas que aquellas procedentes de la caza de individuos silvestres (Bodmer et al, 1997).

La conservación del pécari de collar es de vital importancia debido a sus implicaciones económicas y debido a los equilibrios de los bosques tropicales de la Amazonía. Para asegurar el usufructo de esta especie es imprescindible el desarrollo de estudios que permitan una

explotación sostenible del animal, adaptada y disponible por los pobladores locales. El pécari de collar es una especie interesante para la cría en cautividad debido a que presenta un corto ciclo reproductivo con varias camadas anuales y una rápida tasa de crecimiento similar a la de los Suidos. La cría en cautividad del pécari de collar constituye una alternativa a la caza comercial con la finalidad de responder a la fuerte demanda nacional e internacional a la que se ve sometido esta especie.

El éxito de la zoocría depende del conocimiento biológico, reproductivo, nutricional y etológico de la especie introducida en estos sistemas de cría. Los conocimientos que hoy en día existen sobre la biología reproductiva del pécari de collar en la Amazonía son muy escasos. Es por tanto fundamental avanzar en su conocimiento para poder desarrollar la cría en cautividad de este mamífero neotropical para el cual existe una demanda generalizada en gran parte del continente americano.

OBJETIVOS

La finalidad de este estudio es **aportar conocimientos sobre la fisiología de la reproducción y estandarizar técnicas de diagnóstico que permitan detectar gran parte de los sucesos reproductivos que se desarrollan en la hembra de pécari de collar.**

Los objetivos generales del estudio se resumen en:

- Estudio de la fisiología reproductiva del pécari de collar.
- Estudio de metodologías diagnósticas del estado reproductivo del pécari de collar.

Para la consecución de los objetivos generales anteriormente citados, se han diseñado los siguientes objetivos específicos:

1. Estudio de la anatomía funcional de los órganos genitales femeninos del pécari de collar y de sus cambios en relación con el estado reproductivo.
2. Evaluar el examen citológico de la vagina y de los signos externos de los genitales como métodos diagnósticos del estro y de la receptividad sexual.
3. Estudiar la eficacia de la ecografía como método de diagnóstico precoz de la gestación y de la predicción de la edad fetal.
4. Estudiar la dinámica de los perfiles séricos de progesterona y 17β -estradiol durante la gestación del pécari de collar.
5. Estudio del periodo post-parto temprano para detección del retorno de la ciclidad sexual.
6. Análisis de valores reproductivos de la cría en cautividad en zoocriaderos establecidos.

PLAN DE TRABAJO

Los diferentes objetivos señalados se pretenden conseguir a través de los siguientes estudios:

1.- Estudio de la anatomía funcional de los órganos genitales femeninos del pécari de collar y de sus cambios en relación con el estado reproductivo.

La fisiología reproductiva está determinada por aspectos anatómicos e histológicos que constituyen la base de la reproducción. Por otro lado, es imprescindible poder definir las diferencias macro y microscópicas de los órganos genitales femeninos en función de su estado reproductivo y sexual, para posteriormente estudiar y estandarizar diversas metodologías diagnósticas del estado reproductivo de las hembras. No obstante, en la actualidad existe poca información sobre la anatomía e histología de los diferentes órganos genitales de la hembra del pécari de collar. Con la finalidad de llevar a cabo el estudio de la anatomía funcional de los órganos genitales femeninos del pécari de collar y de sus cambios en relación con el estado reproductivo, se diseñó dos estudios que llevan por título:

CARACTERÍSTICAS ANATOMICOHISTOLÓGICAS DE LOS ÓRGANOS TUBULARES DE LA HEMBRA DE PÉCARI DE COLLAR (*Tayassu tajacu*) EN EL NORESTE AMAZÓNICO.

CARACTERÍSTICAS ANATOMICOHISTOLÓGICAS DEL OVARIO DE LA HEMBRA DE PÉCARI DE COLLAR (*Tayassu tajacu*) DEL NORESTE AMAZÓNICO.

2.- Evaluar el examen de los genitales externos y de la citología vaginal como métodos diagnósticos del estro y de la receptividad sexual.

Es conocido que en algunas especies de mamíferos, la citología vaginal y el examen de los genitales externos se utilizan como métodos diagnósticos del estro y de la receptividad sexual por parte de las hembras. El diagnóstico del estro es una actividad de gran importancia a la hora de poder programar un correcto manejo reproductivo, adecuando el periodo de monta controlada, identificando el retorno del celo en hembras no gestantes, etc. Para llevar a cabo dicho propósito se diseñó el estudio que lleva por título:

CARACTERÍSTICAS DEL ESTRO DE LA HEMBRA DE PÉCARI DE COLLAR (*Tayassu tajacu*) EN EL ESTE AMAZÓNICO.

3.- Estudiar la eficacia de la ecografía como método diagnóstico precoz de la gestación y de predicción de la edad fetal.

En relación con la información de la que tenemos conocimiento, la ecografía nunca fue utilizada como herramienta diagnóstica en el pécari de collar. Esta técnica diagnóstica se utiliza de forma rutinaria en especies domésticas, y diversas aplicaciones, como el diagnóstico de gestación y la predicción de partos son herramientas útiles para el manejo reproductivo. La ecografía es una técnica diagnóstica que ha permitido mejorar el conocimiento de la fisiología reproductiva de otras especies animales salvajes. Para llevar a cabo el estudio de la eficacia de la ecografía como método de diagnóstico precoz de la gestación y la predicción de la edad fetal en pécari de collar, se diseñó el estudio que lleva por título:

APLICACIÓN DE LA METODOLOGÍA ECOGRÁFICA AL CONTROL REPRODUCTIVO DEL PÉCARI DE COLLAR (*Tayassu tajacu*).

4.- Estudiar la dinámica de los perfiles hormonales de progesterona y 17 β -estradiol durante la gestación del pécari de collar.

El estudio del perfil hormonal durante la gestación es importante a la hora de comprender la importancia relativa de los ovarios y placenta a lo largo de este periodo reproductivo. Adicionalmente, el estudio del perfil hormonal sérico de progesterona y 17 β -estradiol durante la gestación es un estudio previo al desarrollo de técnicas diagnósticas de gestación. Para llevar a cabo este propósito se diseñó el estudio que lleva por título:

PERFILES HORMONALES DE PROGESTERONA Y 17 β -ESTRADIOL DURANTE LA GESTACIÓN DE PÉCARI DE COLLAR (*Tayassu tajacu*) EN EL ESTE AMAZÓNICO.

5.- Estudio del periodo post-parto temprano para detección del retorno de la ciclicidad sexual.

La mayoría de especies de mamíferos tras el parto entran en un periodo de anestro que se extiende a lo largo de la lactación. No obstante, en especies de roedores y en el cerdo doméstico la ovulación puede tener lugar durante el periodo temprano de post-parto temprano (Delouis and Lammings, 1993). La existencia y el aprovechamiento de este celo en el periodo post-parto temprano puede ser un factor importante para disminuir el intervalo entre partos y aumentar el número de partos por año. Consecuentemente, la existencia de un celo post-parto fértil permitiría optimizar la productividad del pécari de collar y facilitaría una rápida reposición del tamaño poblacional del grupo. Para llevar a cabo el estudio del periodo post-parto temprano para detección del retorno de la ciclicidad sexual, se diseñó el estudio que lleva por título:

CELO OVULATORIO POST-PARTO DE LA HEMBRA DE PÉCARI DE COLLAR (*Tayassu tajacu*) EN LA AMAZONÍA.

6.- Análisis de valores reproductivos de la cría en cautividad en zoocriaderos establecidos.

Los parámetros de eficacia reproductiva de la cría en cautividad son un reflejo de las características reproductivas de la hembra de pécari de collar. La función reproductiva es un factor básico a la hora de evaluar la eficiencia de la inclusión de una especie dentro de sistemas de zoocría. El objetivo de la cría es la obtención de unas tasas de producción máximas en un periodo de tiempo mínimo. Por otro lado, esta información es útil para el manejo de animales silvestres para estimar entre otros aspectos, las tasas de reposición de la especie. Para llevar a cabo el análisis de los valores reproductivos de la cría en cautividad en zoocriaderos establecidos, se diseñó el estudio que lleva por título:

PARÁMETROS REPRODUCTIVOS DEL PÉCARI DE COLLAR (*Tayassu tajacu*) MANTENIDO EN CAUTIVIDAD EN DOS ZOOCRIADEROS: IQUITOS (PERÚ) Y BELÉM (ESTADO DE PARÁ, BRASIL).

1. Anatomicohistological Characteristics of the Tubular Genital Organs of the Female Collared Peccary (*Tayassu tajacu*) from Northeastern Amazon

Mayor, P., Jori, F. and Lopez-Bejar, M. (2004). Anatomicohistological characteristics of the tubular genital organs of the female collared peccary (*Tayassu tajacu*) from North-eastern Amazon. *Anat. Hist. Embryol.* 33; 65-74.

Key Words: Reproductive biology, anatomy, histology, female genital tract, collared peccary, *Tayassu tajacu*

Abstract

The present study examines anatomical and histological characteristics of tubular genital organs and its relationships with the reproductive state of 24 wild adult collared peccary (*Tayassu tajacu*) females. The tunica mucosa of the uterine tube presents a pseudostratified, intermittently ciliated columnar epithelium. The epithelial secretory cells of pregnant females and females in the luteal phase of the oestrous cycle became taller than the ciliated cells and showed abundant apical secretory blebs, whereas secretory cells of females in the follicular phase showed abundant mucous secretory activity (PAS-positive cells). The uterus is composed of two narrow and convoluted uterine horns, separated by the velum uteri, a small uterine body and a long and muscular cervix. The endometrial lining of both uterine horns and body is a monostratified, columnar ciliated epithelium. Pregnant females and females in luteal phase showed a more developed hyperplasia of the endometrial simple tubular glands than females in the follicular phase. The cervix presents interdigitated rows of mucosal prominences that project into the lumen, structures similar to pulvini cervicali, occluding the cervical canal. In pregnant females, the endocervical canal was filled by a viscous cervical secretion. Females in follicular phase presented a thicker vaginal epithelium than pregnant females and females in luteal phase. The present study suggests that the collared peccary female showed different histological features of the uterine tubes, uterus and vagina in accordance with the reproductive state of the females.

Introduction

Humans in northeastern Amazon depend on mammals for protein input to their nutrition, and also for cash income (Lahm, 1993; Redford, 1993). The collared peccary (*Tayassu tajacu*) is one of the most frequent hunted species in Latin America (Robinson and Redford, 1991). Captive breeding of wild species could play an interesting role in reducing the effects of intensive hunting in areas where this activity is no longer sustainable (Jori et al., 1998). Taken into account

that gregarious and highly productive species are generally the most appropriate for captive breeding programmes (Newing, 2001), the collared peccary, already intensively hunted in the forest of the north-eastern Amazon, could be a candidate for more rational management. However, an understanding of the reproductive features of the collared peccary is essential for effective management of the species, and limited information is available in the literature.

The collared peccary is a small artiodactyl that belongs to a separate family within the Suiformes, the Tayassuidae. This family includes two genera and three existent species of peccaries. These are the collared peccary (*Tayassu tajacu*), the white-lipped peccary (*Tayassu pecari*), and the Chacoan peccary (*Catagonus wagneri*). Compared to its counterparts, the collared peccary is extremely widespread in the American continent. The concurrent habitats of this ungulate ranges from Mexico to Northern Argentina. The external morphology of the collared peccary (Fig.1) is similar to that of the common pig but with a lower body weight, 14-30 Kg (Nowak and Paradiso, 1983).

Field and experimental studies have shown that female peccaries are capable of producing young all year in different locations, Texas (Low, 1970; Sowls, 1984), French Guyana (Henry and Dubost, 1990), different areas of Brazil (Nogueira-Filho and Lavorenti, 1997; Da Silva et al., 2002) and northeastern Peruvian Amazon (Gottdenker and Bodmer, 1998). A birth peak seems to occur in late spring-early summer in Texas (Low, 1970; Sowls, 1997), but Hellgren et al. (1985) suggested that females under good nutritional conditions could override periods of lactational and seasonal anoestrus. In fact, the peccary females in the wild are considered to be aseasonally polyoestrous in the Peruvian Amazon (Gottdenker and Bodmer, 1998), such it occurs in captivity in the Brazilian Amazon (Da Silva et al., 2002). Sowls (1997) reported that the gestation period of the collared peccary varied between 141 and 151 days and averaged 144.7 days. This artiodactyl presents an ovulation rate of 2.01 to 2.13 ovulated follicles/ovulating

female, based on counting of corpora lutea (Hellgren et al., 1995; Gottdenker and Bodmer, 1998). The low litter size of the collared peccary, between 1.65 and 1.93 foetuses or new born animals/pregnant female in average (Nogueira-Filho and Lavorenti, 1997; Gottdenker and Bodmer, 1998; Sowls, 1997), when compared to the domestic pig, indicates that differences in the features of the genital tract, mainly uterine horns, may exist in this species. The reproductive biology of the collared peccary inhabiting the Amazon regions is poorly known (Gottdenker and Bodmer, 1998) and few data exist on the anatomy and histology of the female genital tract. The present report describes macroscopic and microscopic features of the female genital organs of the collared peccary and analyses the changes observed in these features in relation to the reproductive state of females from the Peruvian Amazon.

Materials and methods

The study was developed in the Reserva Comunal Tamshiyacu-Tahuayo located in the northeastern Peru between Tamshiyacu, Tahuayo and Yavari Miri rivers. The reserve covers an area of 322 500 ha of continuous forest and is predominately a non-flooded area (Bodmer et al., 1990). The research area was situated in the Tahuayo-Blanco region of the reserve which experiences persistent hunting pressure.

Animals

Twenty-four carcasses of adult wild collared peccary females were obtained from the markets of Iquitos. Samples were taken at different periods between June 2000 and August 2001, including periods in moist and dry seasons. Carcass and genital organs were weighed, and the latter fixed and maintained in buffered 4% formaldehyde solution (v/v) until analysis. Relative genital weight was estimated by means of the proportional weight of the genital organs related to the carcass mean weight.

Female classification

The reproductive status of the adult females was determined by the presence or absence of embryos or foetuses. This analysis was

performed by macroscopic observation of the uterus, followed by dissection of the genital tract. The uterine tubes and uterine horns of females with no evidence of pregnancy were flushed with an isotonic saline solution to confirm the absence of ovulated oocytes or embryos. Females with at least one embryo or foetus were considered to be pregnant, and the pregnancy stage was defined as embryonic or foetal (*Nomina Embryologica Veterinaria*, 1994). Non-pregnant adult animals with ovaries bearing large antral follicles and absence of corpora lutea were considered to be in the follicular phase of the oestrous cycle, whereas those with ovaries with luteal tissue were considered to be in the luteal phase of the oestrous cycle. In the absence of either large antral follicles or corpora lutea, the ovaries were considered inactive.

Macroscopic features of the genital tract

The macroscopic features of the genital tract were analysed in all the experimental animals. The measurements of tubular organs included mean diameter and length of the uterine tubes, uterine horns, body of the uterus, cervix and vagina, and size of the external vaginal opening. The macroscopic features of the vulva were also studied.

Microscopic features of the genital tract

Samples of the ovaries, uterine tubes, uterus and vagina were dehydrated, embedded in paraffin wax and cut into 3 µm sections. The sections were mounted onto a glass microscope slide, stained with haematoxylin and eosin, PAS-haematoxylin or Masson's trichrome stains and examined under a light microscope. Predominant ovarian structures, large antral follicles or corpora lutea, were confirmed histologically. The recorded data were microscopic features and measurements of the tunica mucosa and tunica muscularis of the uterine tubes and uterus, and quantification of cornified layers and epithelium thickness of the vaginal epithelium. These features were correlated to the reproductive state of the females. All variables were determined in 5 randomly selected fields at x1000.

Statistical analysis

The relationships among the reproductive state and the carcass mean weight and absolute and relative weights of the genital organs were estimated by analysis of variance. Assessments of the relationships among macroscopic and microscopic features of the female genital tract and reproductive state were performed by analysis of variance. Means were tested for differences using the least square means method. Statistical analyses were performed using the Statistical Analysis System package (SAS Institute Inc., 1984). Differences with a probability value of 0.05 or less were considered significant. Values are expressed as the mean \pm standard deviation (S.D.).

Results

Animals

Table 1 shows the classification of the studied animals and mean weights of animals and genital organs. Among the 24 adult females included in this study, 11 were non-pregnant and 13 were at different stages of pregnancy. Mean weight of carcasses from pregnant females was not significantly larger than that of non-pregnant females. Pregnant females presented larger absolute and relative mean weights of the genital organs than non-pregnant females ($P<0.001$).

Twelve pregnant females showed two embryos or foetus whereas only one pregnant female showed a single foetus. One pregnant female was considered to be at the embryonic stage of pregnancy, with an embryo about 5 mm in size and the limb buds present. In the foetal stage, the uterus was conspicuously enlarged and the foetuses showed developed eyelids, fingers and external genitalia, and all the vital organs in place. Twin pregnancies involved both uterine horns.

Topographical location of the genital tract

The female genital organs were located dorsally near the roof of the abdominal cavity. Ovaries and uterine tubes were positioned under the fourth lumbar vertebra. Uterine horns were convoluted structures, transversally located with respect to the longitudinal axis of the animal, and

laterally-pointing. The cranial portion of the uterine horn was found close to the lateral abdominal wall. The vagina presented no intra-abdominal portion. The blood supply to the genital organs was provided by the ovarian, uterine and vaginal arteries. The ovarian vein formed a pronounced venous plexus around the ovarian artery.

Uterine tubes

Macroscopic anatomy

The infundibulum completely surrounded the ovary, forming a well-developed bursa ovarica with a large opening. The uterine tube coursed over the cone-shaped mesosalpinx to meet the horn of the uterus (Fig. 2). The ampullar portion of the uterine tube presented a markedly pronounced cranial convolution with a 180° angle of rotation. An abrupt uterotubular junction was observed, with a clear difference between the diameter of the uterine tube and uterus. A protruding papilla could be seen in the area where the isthmus joins the uterine horn. The length of the uterine tubes in pregnant females was not significantly different from that of non-pregnant females (9.38 ± 0.93 cm vs 9.57 ± 2.8 cm, respectively). The infundibulum presented a larger diameter than the ampulla and isthmus (3.9 ± 0.7 cm, 2.4 ± 0.7 cm and 0.24 ± 0.7 cm, respectively; $P<0.0001$).

Histology

Tunica mucosa thickness did not show significant differences among infundibulum, ampulla and isthmus (27.6 ± 5.75 μm , 30.3 ± 6.6 μm and 29.6 ± 9.24 μm , respectively). The epithelial mucosa presented a pseudostratified, intermittently ciliated columnar epithelium and was highly folded, with primary, secondary and tertiary folds (Fig. 3). Cylindrical shape and oval basal nuclei characterized the epithelial cells (Figs. 4 and 5). Two types of cells were clearly discernable in the epithelium: ciliated and non-ciliated (secretory) cells. Ciliated cells occurred more commonly in the cranial end of the uterine tube and in females in the follicular phase of the oestrous cycle (Fig. 4). The epithelial secretory cells of pregnant females and females in luteal phase became taller than the ciliated cells and

showed abundant apical secretory blebs (Fig. 5), whereas secretory cells of females in the follicular phase showed abundant mucous secretory activity (PAS-positive cells; Fig. 4). The features of the secretory cells from pregnant females appeared similar to those from females in the luteal phase of the oestrous cycle.

The tunica muscularis of the uterine tubes consisted of an inner layer mainly composed of circular smooth muscle cells, and an outer layer of predominantly longitudinal smooth muscle cells. The infundibulum and the ampulla presented a thin tunica muscularis composed of an inner circular layer and a few outer longitudinal bundles of smooth muscle. The tunica muscularis in the isthmus presented a larger thickness than those of the ampulla and infundibulum ($310.0 \pm 230.3 \mu\text{m}$, $75.1 \pm 35.6 \mu\text{m}$ and $60.8 \pm 21.3 \mu\text{m}$, respectively; $P<0.05$).

Non-pregnant females, both in luteal and follicular phase, and pregnant females showed no significant differences in thickness of the mucosal and muscular layers of the uterine tubes. The tunica serosa was highly vascularized.

Uterus

Macroscopic anatomy

The uterus was bicornuate and encompassed a small uterine body and a long cervix. The horns lied cranial to the pelvic inlet and were suspended by extensive broad ligaments. Both horns were connected through an intercornual ligament. Uterine horns were narrow, motile and flexuous. Uterine horn length was internally prolonged due to the existence of a velum uteri. Pregnant females presented a longer velum uteri than non-pregnant females ($5.58 \pm 1.42 \text{ cm}$ vs. $2.83 \pm 0.40 \text{ cm}$, respectively; $P<0.001$).

The uterine cervix did not show a vaginal process projected into the vagina as an enfolding structure. Approximately the half part of the cervix lied within the abdominal cavity. The cervix was characterized by the presence of pulvini cervicali, rows of mucosal prominences that projected into the lumen, interdigitated, and so occluded the cervical canal. The cervix wall

was thicker than that of the horns ($P<0.01$). Table 2 shows that length of the uterine horns and cervix were larger in pregnant than in non-pregnant females ($P<0.05$). The diameters of the uterine horns and body were significantly larger in pregnant females than in non-pregnant females ($P<0.05$).

Pregnant collared peccary females presented a diffuse, folded, epitheliochorial placenta. The fusiform chorionic sac showed chorionic folds which could maintain the close contact with the maternal tissue. The average litter size of pregnant females was 1.90 ± 0.32 embryos or foetuses/pregnant female. In twin pregnancies, every foetus was placed in one uterine horn.

Histology

The wall of the uterine horns and body was composed by the endometrium, myometrium and perimetrium (Figs. 6-8). The endometrial lining of both uterine horns and body was a monostratified, columnar ciliated epithelium. In isolated areas the epithelium was cuboidal. Cylindrical, tall morphology and oval basal nuclei characterized the epithelial cells.

Pregnant females presented a thinner uterine horn endometrium than females in luteal phase ($P<0.01$) and thicker uterine body endometrium and myometrium than non-pregnant females ($P<0.05$; Table 3). There were no significant differences in endometrium and myometrium thickness between non-pregnant females in luteal phase and follicular phase. The uterine epithelium showed leucocyte infiltration.

The endometrium was characterized by a great density of simple tubular glands. The glandular epithelium was composed of cylindrical cells with oval, basal nuclei (Fig. 9). Both pregnant and non-pregnant females in luteal phase presented a more developed hyperplasia, with enlargement and branching, of the endometrial glands (Figs. 7-9) with respect to non-pregnant females in follicular phase (Fig. 6; $P<0.01$). The myometrium consisted of an inner layer mainly composed of circular smooth muscle cells, and an outer layer of longitudinal smooth muscle

cells. A vascular layer occurred between the two muscle layers.

The uterine cervix was characterized by a muscular, thick-walled, firm tube (Fig. 10). The mucosa of the cervix was composed of 1-3 layers of tall, columnar mucous-secreting cells with basal nuclei (Fig. 11). The epithelium of the cervix was composed primarily of secretory cells and a few ciliated columnar cells. A larger proportion of secretory cells with PAS-positive contents (Fig. 11) was observed in pregnant females and females in luteal phase than in females in follicular phase ($P<0.01$). The lamina propria-submucosa of the uterine cervix lacked glands. The cervical canal of the endocervical mucosa showed primary, secondary and tertiary folds. The cervical myometrium showed a well-developed inner layer, mainly containing circular smooth muscle cells and an outer layer of longitudinal smooth muscle cells.

A mucous secretion occupied the lumen of the endocervical canal in all animals, being more abundant in pregnant females. This secretion was composed by a large number of leucocytes and surface epithelial cells.

In the uterine horns, body and cervix, the lamina propria was composed of loose connective tissue. The perimetrium was composed of connective tissue and numerous blood vessels.

Vagina

Macroscopic anatomy

The vagina appeared as a tubular organ with a thin wall presenting long longitudinal folds. Table 4 shows the macroscopic dimensions of the vagina. On the cranial side, there was no vaginal portion of the cervix protruding into the vagina. Length and diameters of the vagina and diameter of the external vaginal opening of pregnant females showed no significant differences with respect to non-pregnant females.

Histology

The vagina was a fibromuscular non-glandular canal which showed an inner stratified squamous epithelium, a developed layer of smooth muscle and an outer adventitial layer. The tunica mucosa and submucosa was highly folded. The presence

of these longitudinal and transverse folds caused an irregular appearance.

The basal cell layer of the stratified epithelium was one to two cells thick. Basal cells presented a cylindrical shape and an oval, basal nucleus. Above the basal layer, parabasal cells were small, round, larger than basal cells and with a small portion of cytoplasm. Intermediate cells presented a larger cytoplasm and used to be polygonally shaped. Finally, surface cells were the largest epithelial cells with a pyknotic or lack of nucleus (Fig. 12).

The epithelium of the vagina showed smooth variations depending on the reproductive state and sexual phase of the female. Non-pregnant females in luteal phase and pregnant females showed no developed epithelial cornification, with three to five cell layers (Fig. 13) and an epithelium thickness of $51.9 \pm 12.0 \mu\text{m}$ and $37.1 \pm 8.5 \mu\text{m}$, respectively. In contrast, females in follicular phase showed a smooth increase in stratification of the epithelium (Fig. 12), more than 5 cell layers were observed in all sections, and a larger epithelium thickness compared to pregnant females and non-pregnant females in luteal sexual phase ($76.2 \pm 12.7 \mu\text{m}$; $P<0.01$). In all reproductive states, a sparse mucous secretion was observed. This secretion was more abundant and viscous in pregnant females than in non-pregnant females.

The lamina propria was characterized by the presence of numerous blood vessels and lack of glands. The tunica muscularis was composed of an external thin layer of longitudinal muscular fibres and an inner layer of circular fibres.

Vulva

In the perineal region, the anus, external vaginal opening and clitoris were identified from dorsal to ventral. The latter was enclosed between the protruding labia of the vulva.

The vaginal opening was longitudinally aligned with respect to the craneocaudal corporal axis. The external urethral orifice, separated $3.72 \pm 1.07 \text{ cm}$ from labia of the vulva, protruded forming a small papilla located in the vestibulum

vaginae. The labia of the vulva were rounded and slightly wrinkled, and met at pointed ventral and dorsal commissures.

Discussion

The collared peccary is a suiform species that shows reproductive differences when compared to the domestic pig. The length of the peccary oestrous cycle (22.6-24.6 days, Sowls, 1997; 27.8 ± 1.5 days, Mauget et al., 1997) and gestation period (144.7 days in average, Sowls, 1997) are longer than in the domestic pig. External manifestations of oestrus, used as indicators of the oestrous period in the domestic pig, are not reliable for the peccary (Sowls, 1997). However, in this study, we have observed the proliferation of the vaginal epithelium during the follicular phase of the oestrous cycle of the collared peccary, as it occurs in the domestic pig (Morton and Rankin, 1969). One of the most important differences of the collared peccary when compared to the domestic pig is the litter size. In this study, 1.90 embryos or foetuses per pregnant female were observed. A litter size of 1.65 and 1.93 foetuses has been reported for the collared peccary (Nogueira-Filho and Lavorenti, 1997; Gottdenker and Bodmer, 1998; Sowls, 1996).

The macroscopic and microscopic features of the female genital tubular organs in the collared peccary (*Tayassu tajacu*) have been described in this study. The epithelial mucosa of the uterine tube presents a pseudostratified, intermittently ciliated columnar epithelium. In the domestic pig, the epithelium usually shows a monostratified columnar epithelium (Schwarze, 1970) but, in part, may be pseudostratified (Banks, 1981). As it occurs in the domestic pig (Wu et al., 1976), cyclic changes of the ciliated and secretory cells of the uterine tube epithelium have been observed in the collared peccary. In females in follicular phase, cilia of the ciliated cells were the dominant feature discernible in the epithelium, whereas in pregnant females and females in luteal phase, the epithelial secretory cells became taller than the ciliated cells and bulbous apical processes of secretory cells were predominant throughout all areas of the epithelial

surface. A similar phenomenon has been described in the domestic pig (Wu et al., 1976; Walter and Bavdek, 1997) and other domestic species (Nayak and Ellington, 1977; Pauerstein and Eddy, 1979; Abe and Oikawa, 1993; Yaniz et al., 2000). Perhaps during the luteal phase, expansion of the secretory cells on the free surface of the epithelium results in protrusion beyond the length of the cilia and secretory cells become clearly visible (Wu et al., 1976). Cyclic changes in the features of the uterine tube epithelium appear to be under influence of ovarian hormones (Hunter, 1988). Oestrogens seem to promote growth of the ciliated epithelium and treatment with progesterone antagonizes the oestrogen-driven cell growth (Brenner, 1969; Hunter, 1988). In this study, PAS-positive material was observed in secretory cells from females in the follicular phase of the oestrous cycle, as it occurs in the domestic pig (Walter and Bavdek, 1997), whereas evident apical blebs were observed in secretory cells from females in luteal phase. As it has been described by Hollis et al. (1984), it appears likely that formation or synthesis of secretory granules occurs mainly during the follicular phase and may be under the hormonal control of oestrogen. However, the mechanism which controls the release or secretion of secretory granules in the uterine tube lumen during the luteal phase is uncertain (Hollis et al., 1984). Neither increasing plasma concentration of progesterone nor declining concentration of oestrogen appears to play a part in the increase in granule secretion (Willemse, 1975). In the collared peccary, the features of the secretory cells from pregnant females appeared similar to those from females in the luteal phase of the oestrous cycle, as it has been described for pig secretory cells (Nayak et al., 1976).

Similarly to the domestic pig, the uterus of collared peccary is bicornuate and encompasses a small uterine body and a long cervix (Schwarze, 1970; Getty, 1982; Dyce et al., 2002). Non-pregnant females present narrow, flexous and motile uterine horns. The collared peccary presents relative shorter uterine horns than those of the domestic pig, probably adapted to the lower litter size of the collared peccary. Although

differences in uterine capacity between different pig breeds do not appear to be a function of the physical size of the uterus (Lee et al., 1995), a number of reports have suggested a direct relationship between the length of a uterine horn and litter size in the domestic pig (Wu et al., 1987; Irgang et al., 1993). In Landrace sows, the uterus became larger in response to selection on an index involving litter size (Neal and Irvin, 1993). The short uterine horns of the collared peccary could stand as a biological limit for the prolificacy of this Suidae. Length of the uterine horns and cervix and the diameters of the uterine horns and body were larger in pregnant females than in non-pregnant females. These changes, probably induced by progesterone, are thought to enhance uterine receptivity and adaptability for uterine and conceptus implantation (Priedkalns, 1987; Gray et al., 2001).

The long cervix of the collared peccary, as a feature of the Suidae, is characterized for the presence of pulvini cervicali, rows of mucosal prominences that project into the lumen and occlude the cervical canal, affording improved protection to the foetal structures (Schwarze, 1984; Dyce et al., 2002).

As reported previously in the domestic pig (Kaeoket et al., 2001) and other domestic mammals (Dellmann and Carithers, 1996), the endometrial gland morphology varies throughout the oestrus cycle of the collared peccary. Pregnant and non-pregnant females in luteal phase showed a greater hyperplasia with enlargement and branching of the endometrial glands than females in the follicular phase of the oestrous cycle. Uterine generative changes are probably first induced by estradiol and continued by progesterone, to produce a maternal placenta when stimulated by the presence of the blastocyst (Priedkalns, 1987). Nevertheless, the endometrium of the uterine horns in pregnant females tended to be thinner than that recorded for females in luteal phase. This fact could be a result of the foetal pressure caused inside the uterine horns of pregnant females. A statistical relationship between foetal size and endometrium thickness of the uterine horns could not be demonstrated in this study due to the

sample size of pregnant females at different stages of pregnancy. In pregnant females, the foetuses were attached to the uterine horns by a folded diffuse placenta, as in the domestic pig (Dyce et al., 2002).

The mucous secretion filling the endocervical canal, present in all females, was more evident in pregnant females, as it occurs in most domestic mammals (Dellmann and Carithers, 1996). In non-pregnant females, this secretion could be correlated with diminished viscosity and cellularity of the mucous. These changes in cervical secretion may be attributed to hormonal control (Mullins and Saacke, 1989). Under the influence of progesterone, the cervical mucus becomes quite viscous and closes the canal so that foreign material cannot enter the uterus during gestation (Senger, 1997). In this study, it has been observed that the proportion of cervical epithelial cells with PAS-positive granules was increased in pregnant females and females in luteal phase with respect to females in follicular phase, as it has been described for the bovine cervical mucosa (Mullins and Saacke, 1989).

The vagina appeared as a tubular organ with a thin wall presenting long longitudinal folds. Similarly to the domestic pig, on the cranial side of the vagina there was no fornix corresponding to the vaginal portion of the cervix. The vaginal epithelium was defined as a non-glandular, stratified and squamous epithelium. Similarly to the sow (Morton and Rankin, 1969), the collared peccary showed different vaginal epithelium features in accordance with the reproductive state of the female. Females in luteal phase showed a very homogenous epithelium thickness of three to four layers. In contrast, females in follicular phase presented a thicker epithelium of more than 5 layers. No evident changes have been noted with respect to the cornification of the vaginal epithelium.

Because of the non-glandular epithelium, collared peccary females showed a sparse vaginal mucous secretion. Nevertheless, this secretion, probably due to the uterine gland and cervical secretion, was more abundant and viscous in pregnant females.

In summary, different morphometric and structural features observed in the tunica mucosa of the uterine tubes, uterine horns, cervix and vaginal epithelium suggest correlations with the reproductive state of the female.

Acknowledgements

We thank Richard Bodmer, Etersit Pezo, Pablo Puertas and Museo de Zoología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana for supplying the experimental samples. We would also like to thank I.V.I.T.A- Iquitos from Perú for their help in data collection. We would also like to thank the European Union (Research for the Development, INCO-DEV; Fifth Framework Programme; contract n°: ICA4-CT-2001-10045) and Spanish Ministry of Science and Technology (MCYT; AGL2001-4961-E) for supporting the project.

References

- Bodmer, R.E., Penn, J., Fang, T.G. and Moya, L. (1990). Management programmes and protected areas – The case of the Reserva Comunal Tamshiyacu-Tahuayo, Perú. Parks, 1: 21-25.
- Dyce, K.M., Sack, W.O. and Wensing, C.J.G. (2002). The pelvis and reproductive organs of the pig. In Textbook of Veterinary Anatomy. Third Edition. W.B. Saunders Company, Philadelphia, p. 759-767.
- Getty, R. (1982). The Anatomy of the Domestic Animals. W.B. Saunders Company, Philadelphia, p. 1435-1436.
- Giudice, L.C. and Ferenczy, A. (1995). The endometrial cycle: Morphologic and biochemical events. In Reproductive Endocrinology, Surgery and Technology. (Adashi, E.Y., Rock, J.A. and Rosenwaks, Z. eds.). Raven Press, New York, p. 171-194.
- Gottdenker, N. and Bodmer, R.E. (1998). Reproduction and productivity of white-lipped and collared peccaries in the Peruvian Amazon. J. Zool. Lond., 245: 423-430.
- Gray, C.A., Bartol, F.F., Tarleton, B.J., Wiley, A.A., Johnson, G.A., Bazer, F.W. and Spencer, T.E. (2001). Developmental biology of uterine glands. Biol. Reprod., 65: 1311-1323.
- Hellgren, E.C., Syntzke, D.R., Oldenberg, P.W. and Guthery, F.S. (1995). Demography of a collared peccary population in South Texas. J. Wild. Management., 59: 153-163.
- Jori, F., López-Béjar, M. and Houben, P. (1998). The biology and use of the African brush-tailed porcupine (*Atherurus africanus*, Gray, 1842) as a food animal. A review. Biodiversity and Conservation, 7: 1417-1426.
- Kaeoket, K., Persson, E. and Dalin, A.M. (2001). The sow endometrium at different stages of the oestrous cycle: studies on morphological changes and infiltration by cells of the immune system. Anim. Reprod. Sci., 65: 95-114.
- Lahm, S.A. (1993). Utilization of forest resources and local variation of wildlife populations in northeastern Gabon. In Tropical forests, people and food: Biocultural interactions and applications to development. Hladik, C.M., Hladik, A., Linares, O.F., Pagezy, H., Semple, A. and Hadley, M. eds. The Parthenon Pub Group, Paris, p. 213-226.
- Low, W.A. (1970). The influence of aridity on reproduction of the collared peccary (*Dicotyles tajacu* (Linn)) in Texas. Ph.D.Thesis. University of British Columbia.
- Mauget, R., Feer, F., Henry, O. and Dubost, G., (1997). Hormonal and behavioural monitoring of ovarian cycles in peccaries. Proceedings of the 1st International Symp. on Physiology and Ethology of Wild and Zoo Animals. Suppl. II, 145-149.
- Morton, D.B. and Rankin, J.E. (1969). The histology of the vaginal epithelium of the sow in oestrus and its use in pregnancy diagnosis. Vet. Rec., 84: 658-62.
- Mullins, K.J. and Saacke, R.G. (1989). Study of the functional anatomy of bovine cervical mucosa with special reference to mucus secretion and sperm transport. Anat. Rec., 225: 106-117.
- Newing, H. (2001). Bushmeat hunting and management: Implication of duiker ecology and interspecific competition. Biodiversity and Conservation, 10: 99-118.
- Nogueira-Filho, S.L. and Lavorenti, A. (1997). O Manejo do caititu (*Tayassu Tajacu*) e do queixada (*Tayassu Pecari*) em cativeiro. En: Manejo e Conservação de Vida Silvestre no

- Brasil.1 ed.Belém/PA-Brasília/DF: Mamirauá-CNPq, p. 285.
- Nomina Embryologica Veterinaria (1994). International Committee on Veterinary Embryological Nomenclature, Zurich and Ithaca, New York.
- Priedkalns, J. (1987). Female Reproductive System. In Textbook of veterinary histology. Third edition. (Dellmann, H.-D. and Brown, E.M. eds.). Lea & Febiger, Philadelphia, p. 313-339.
- Redford, K.H. (1993). Hunting in neotropical forests: A subsidy from nature. In Tropical forests, people and food: Biocultural interactions and applications to development. Hladik, C.M., Hladik, A., Linares, O.F., Pagezy, H., Semple, A. and Hadley, M. eds. The Parthenon Pub Group, Paris, p. 227-246.
- Robinson, J.G. and Redford, K.H. (1991). Neotropical Wildlife Use and Conservation. University of Chicago Press, Chicago.
- SAS. SAS User's Guide (1984). Statistical Analysis Systems Institute, Inc. Cary, North Carolina.
- Schwarze, C. (1970). Kompendium der Veterinär-Anatomie. ed. VEB Gustav Fischer Verlag, Jena, Germany, pp: 277-289.
- Sowls, L.K. (1984). The Peccaries. The University of Arizona Press, Tucson.
- Sowls, L.K. (1997). Javelines and other Peccaries: Their Biology, Management and Use. Texas A. and M. University Press. College Station, p. 84-106.

Legends to figures

Figure 1: View of an adult collared peccary (*Tayassu tajacu*) female.

Figure 2: Dorsal view of the genital organs (right side) of a non-pregnant female in the follicular phase of the oestrous cycle. The ovary (Ov) has been in part removed from the bursa ovarica. Infundibulum portion of the uterine tube (Inf), uterine tube (UT), mesosalpynx (Ms), uterine horn (UH). (Bar: 1 cm).

Figure 3: Section through the caudal portion of the ampulla of the uterine tube from a non-pregnant female in follicular phase. The tunica mucosa shows pronounced folds. H & E (Bar: 500 µm).

Figure 4: Detailed image of the epithelium of the ampullar portion of a non-pregnant female in follicular phase. Secretory cells (arrowheads) show mucous secretory activity (PAS-positive cells). PAS-haematoxylin (Bar: 40 µm).

Figure 5: Detailed image of the epithelium of the ampullar portion of a non-pregnant female in luteal phase. Secretory cells show abundant apical secretory blebs (arrowheads). PAS-haematoxylin (Bar: 40 µm).

Figure 6: Section of the uterine horn of a non-pregnant female in the follicular phase of the oestrous cycle. The wall of the uterine horns includes the endometrium, myometrium and perimetrium. H & E (Bar: 500 µm).

Figure 7: Section of the uterine horn of a non-pregnant female in the luteal phase of the oestrous cycle. The endometrial tubular glands are branched and coiled. H & E (Bar: 500 µm).

Figure 8: Section of the uterine horn of a pregnant female. The endometrial tubular glands are branched and coiled. H & E (Bar: 500 µm).

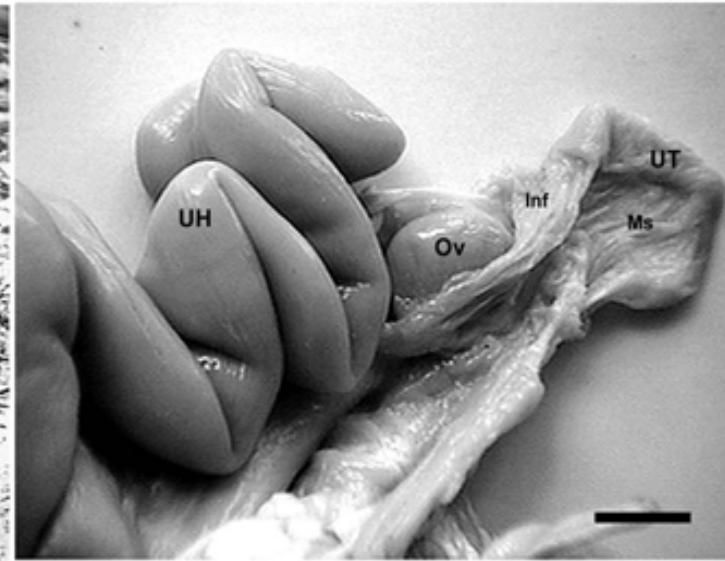
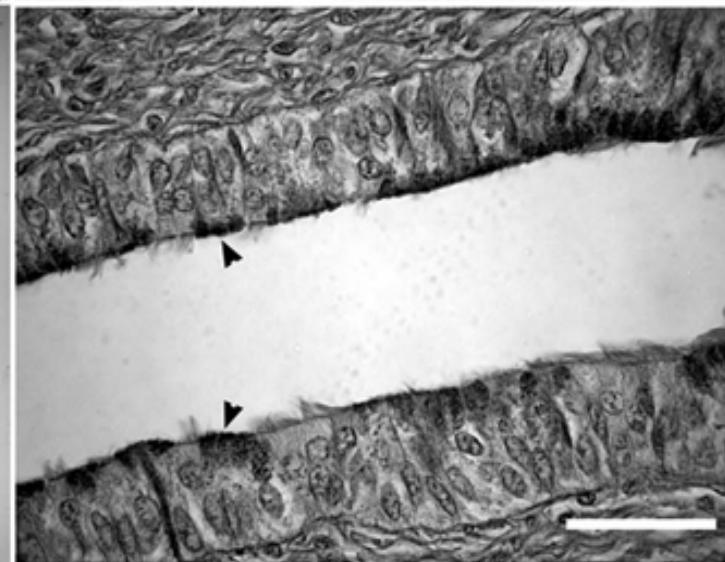
Figure 9: Detailed image of the endometrium of a pregnant female showing the simple columnar ciliated epithelium (top of the image) and numerous branched tubular glands. PAS-haematoxylin (Bar: 70 µm).

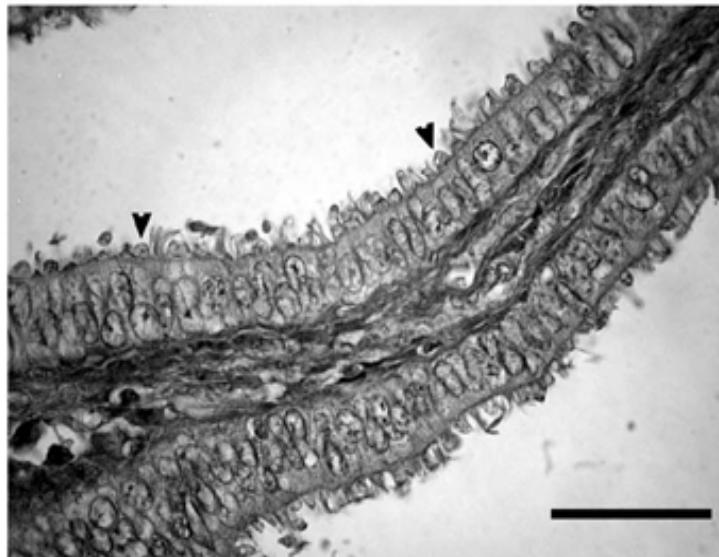
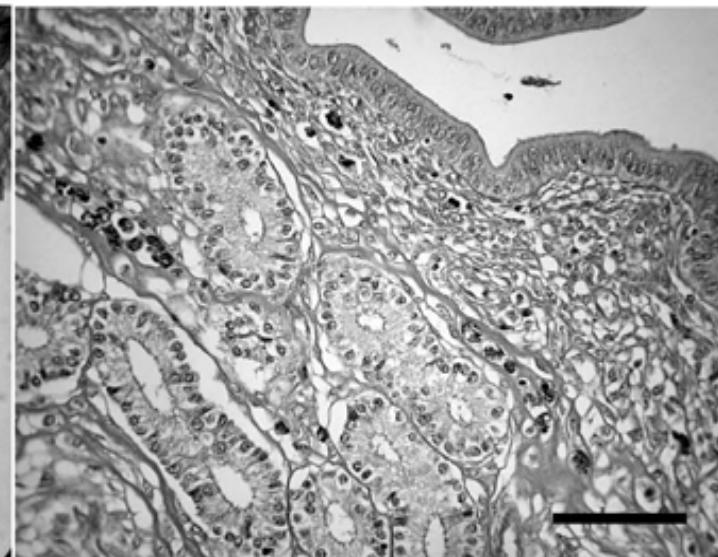
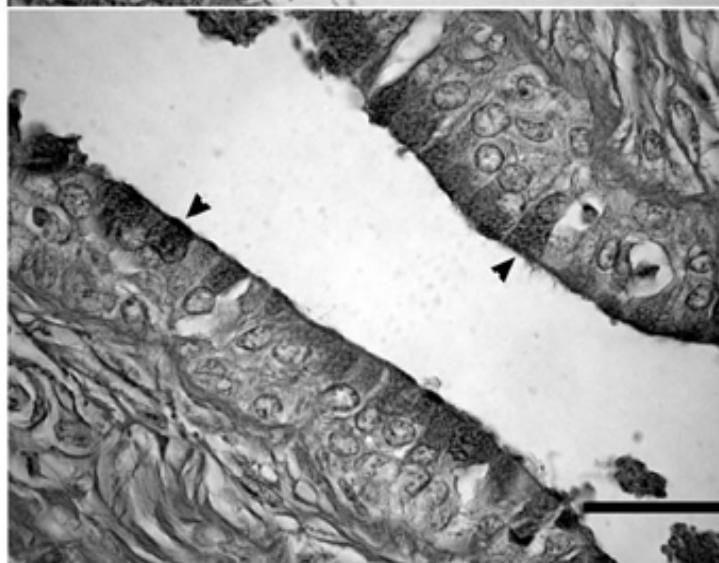
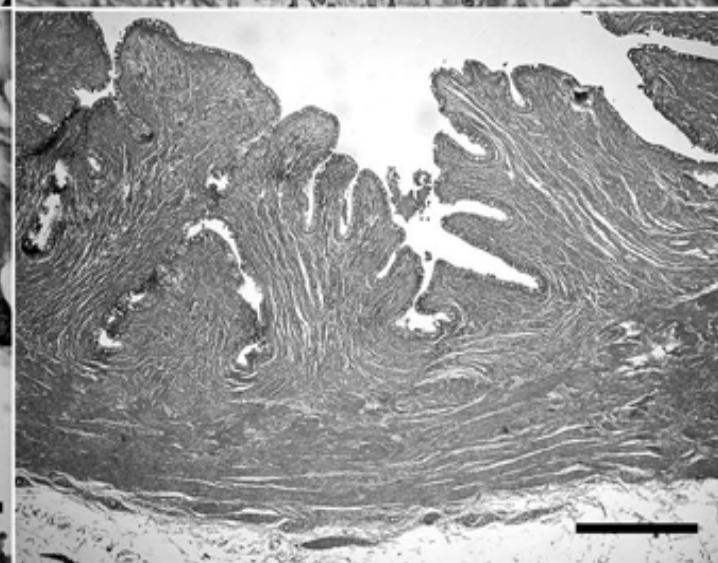
Figure 10: Section through the cervix of a non-pregnant female in follicular phase. The wall of the uterine cervix shows a very developed muscular layer. PAS-Haematoxylin (Bar: 500 µm).

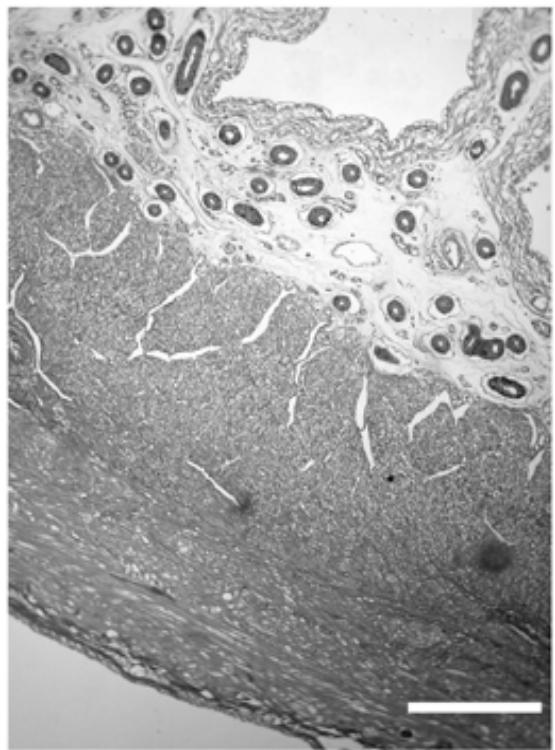
Figure 11: Detailed image of the epithelium of the uterine cervix of a pregnant female showing abundant mucous secretory cells (PAS-positive cells; arrowheads). PAS-haematoxylin (Bar: 45 µm).

Figure 12: Section of the vagina of a non-pregnant female in follicular phase. The tunica mucosa, lined by a squamous stratified epithelium, shows a pattern of developed stratification. White arrowheads indicate the basal zone of the tunica mucosa. H & E (Bar: 45 µm).

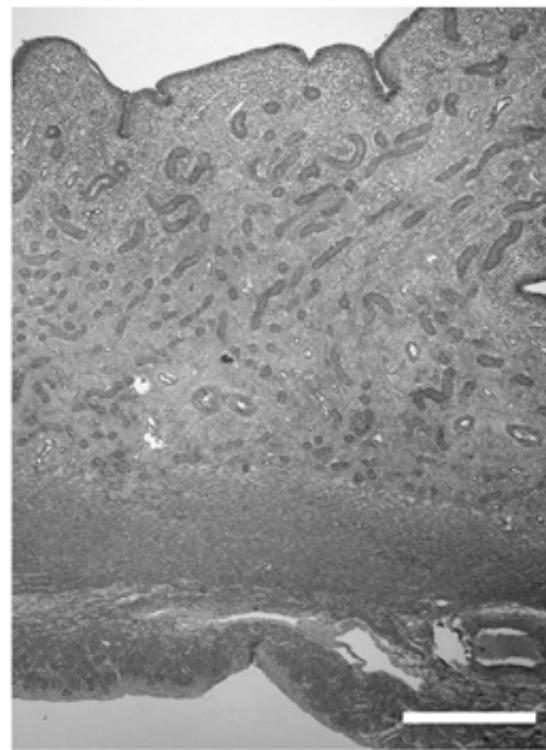
Figure 13: Section of the vagina of a non-pregnant female in luteal phase showing non-developed stratification of the vaginal epithelium. White arrowheads present the basal zone of the tunica mucosa. H & E (Bar: 45 µm).

1**2****3****4**

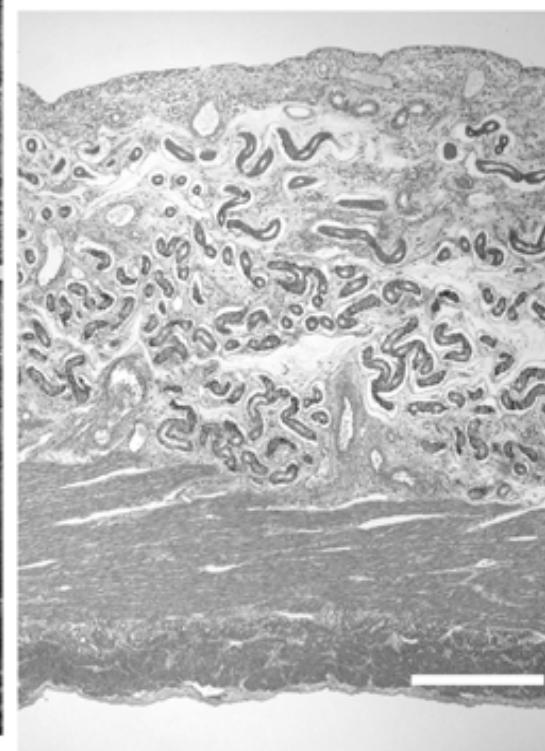
5**6****7****8**



9

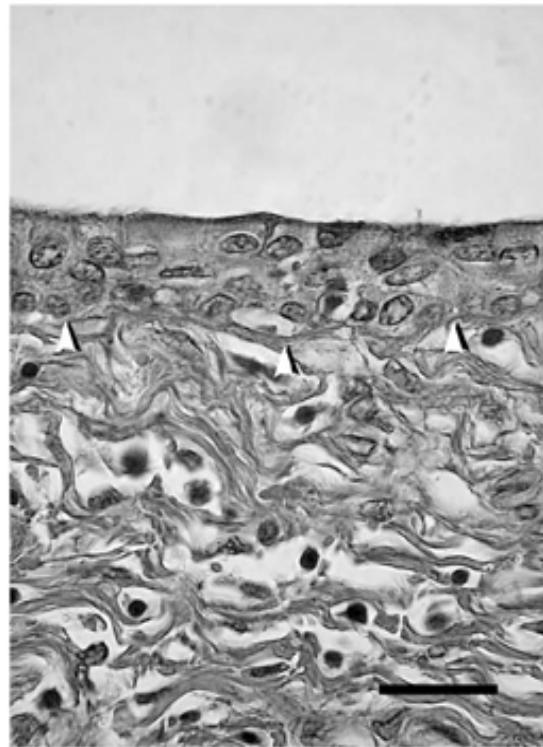


10



11

12



13

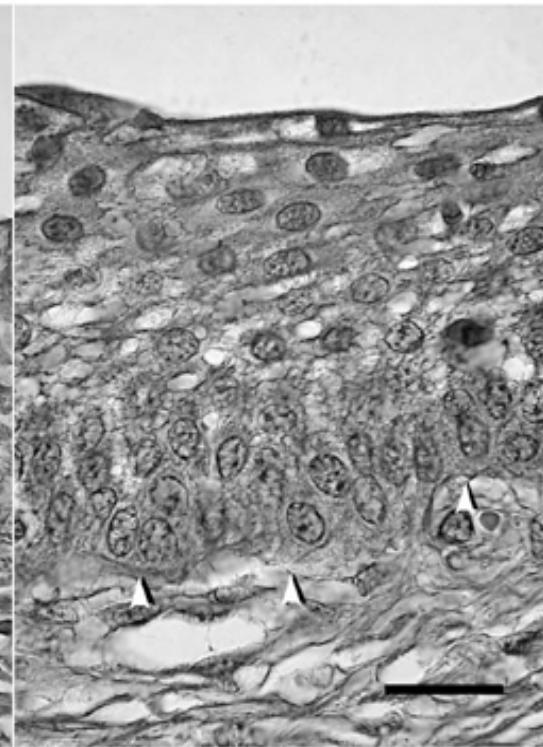


Table 1: Reproductive state of the experimental collared peccary females.

| Female reproductive state | n | Carcass mean weight (kg) | Genital organs mean weight (g) ¹ | Relative genital weight (%) ² |
|----------------------------------|----|--------------------------|---|--|
| Non-pregnant in follicular phase | 5 | 19.20 ± 2.05 | 128.4 ± 29.1a | 0.67 ± 0.16a |
| Non-pregnant in luteal phase | 6 | 19.83 ± 1.72 | 136.9 ± 1.63a | 0.69 ± 0.10a |
| Pregnant females | 13 | 20.54 ± 1.61 | 520.0 ± 287.9b | 2.53 ± 1.34b |
| Total | 24 | 18.50 ± 3.83 | 342.6 ± 213.7 | 1.68 ± 1.12 |

¹ Genital organs mean weight in pregnant females does not include foetal weight.

² Relative genital weight is estimated by means of the proportional weight of the genital organs related to the carcass mean weight.

a, b Values appearing in rows with different superscripts are significantly different (P<0.05).

Table 2: Macroscopic measurements (mean \pm standard deviation, in cm) of the uterine horns, uterine body and cervix in the female collared peccary.

| n | Uterine horns | | Uterine body | | Cervix | | |
|--------------|---------------|--------------------|------------------|-----------------|------------------|------------------|-----------------|
| | Length | Diameter | Length | Diameter | Length | Diameter | |
| Non-pregnant | 11 | 18.62 \pm 4.09a | 1.09 \pm 0.47a | 3.32 \pm 1.26 | 1.24 \pm 0.16a | 6.06 \pm 1.40a | 1.39 \pm 0.22 |
| Pregnant | 13 | 41.65 \pm 20.77b | 4.39 \pm 1.97b | 4.46 \pm 2.87 | 2.25 \pm 0.91b | 8.66 \pm 2.54b | 1.49 \pm 0.23 |

a, b Values appearing in rows with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

Table 3: Thickness (mean \pm standard deviation, in μm) of the endometrium and myometrium of the uterine horns, uterine body and cervix in the female collared peccary.

| Female reproductive state | n | Uterine horns | | Uterine Body | | Uterine cervix |
|-------------------------------------|----|----------------------|--------------------|--------------------|--------------------|-----------------|
| | | endometrium | myometrium | endometrium | myometrium | endometrium |
| Non-pregnant in follicular phase | 5 | 1378.1 \pm 618.9ab | 1065.2 \pm 349.6 | 595.2 \pm 248a | 590.1 \pm 28.2a | 32.1 \pm 3.5 |
| Non-pregnant in luteal phase | 6 | 1655.3 \pm 989.3a | 857.7 \pm 426.5 | 658.3 \pm 113.6a | 600.8 \pm 37.2a | 48.2 \pm 23.0 |
| Pregnant | 13 | 867.4 \pm 356.8b | 1011.9 \pm 579.3 | 1158.2 \pm 57.4b | 866.3 \pm 263.1b | 33.8 \pm 5.8 |

a, b Values appearing in rows with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

Table 4: Macroscopic measurements (mean \pm standard deviation, in cm) of the vagina and external vaginal opening in the female collared peccary.

| | n | Vagina | | | Vaginal opening |
|--------------|----|-----------------|-----------------|-----------------|------------------------|
| | | Length | Outer | Inner | Dorso-ventral diameter |
| Non-pregnant | 11 | 9.19 \pm 2.50 | 1.29 \pm 0.29 | 0.73 \pm 0.32 | 2.75 \pm 0.43 |
| Pregnant | 13 | 8.16 \pm 1.47 | 1.33 \pm 0.19 | 0.98 \pm 0.16 | 3.03 \pm 0.72 |

**2. Anatomicohistological Characteristics of the Ovary
of the Female Collared Peccary (*Tayassu tajacu*)
from Northeastern Amazon**

In preparation to be submitted

Key Words: Reproductive biology, anatomy, histology, ovary, collared peccary, *Tayassu tajacu*

Abstract

The present study examines anatomical and histological characteristics of the ovaries in the collared peccary (*Tayassu tajacu*). A description of the macroscopic and microscopic features of the ovaries based on observations made in 27 wild adult females is presented. Observations indicate that collared peccary female has a mean ovulation rate of 2.3 ± 0.6 follicles and a very low mean ovum mortality of 0.4 ± 0.6 oocytes or embryo per pregnancy. The collared peccary presents a follicular wave involving the synchronous growth of a group of follicles from which several seem to attain dominance over the others. The presence of antral follicles in pregnant females suggests that the follicular turnover could be taking place during pregnancy. Cyclic corpora lutea were characterised by the presence of two cell populations of luteal cells: large and small luteal cells. The corpus luteum volume of pregnant females was larger than that of non-pregnant females. The immunohistochemical study of the ovary showed that luteal cells from active corpora lutea presented intensive 3β -HSD activity at advanced stages of pregnancy, which suggests that a large part of pregnancy is supported by the corpus luteum activity.

Introduction

In northeastern Amazon, wildlife hunting has been considered a traditional source of food, skin and other essential items for local people, and as an important subsistence activity (Lavigne et al., 1996; Fitz Gibbon, 1998). Mammalian species from forested habitats, particularly those with a high commercial value, are becoming locally or even widely extinct through over-hunting (Emmons, 1990; Robinson and Redford, 1991). The establishing of innovative system of exploiting renewable natural resources, as captive breeding programs, could be considered an important task in order to be used in tropical forested areas with a substantial demand of wildlife products.

The collared peccary (*Tayassu tajacu*) has been considered an interesting species for captive breeding since it was thought to present a rapid growth rate similar to that of other Suiformes. Peccaries belong to a separate family, Tayassuidae, within the Suiformes, (Turner, 1849). Due to the similarities to the domestic pig (*Sus scrofa*), many data in the literature, mainly reproductive features, have been extrapolated from that species. Consequently, the reproductive biology of the collared peccary inhabiting Amazon regions is poorly known (Gottdenker and Bodmer, 1998).

Previous studies have reported reproductive features of the collared peccary in Southwest U.S.A. (Low, 1970; Sowls, 1984, 1997; Hellgren et al., 1995) but few data exists on the anatomy of the ovaries. Recently we have described anatomical and histological features of the tubular organs of the female genital tract of the collared peccary (Mayor et al., 2004). Field studies in northeastern Peruvian Amazon have shown that collared peccary could be considered as an aseasonally polyoestrous species (Gottdenker and Bodmer, 1998). Sowls (1997) and Mauget et al. (1997) reported an oestrous cycle length between 22.6 and 27.8 days. The gestation length was reported to be between 141 and 160 days (Roots, 1966; Sowls, 1997). This artiodactyl presents an ovulation rate of 2.0–2.1 ovulated follicles/ovulating female (Hellgren et al., 1995; Gottdenker and Bodmer, 1998), and a low litter size ranging from 1.7 to 1.9 fetuses or new born (Lochmiller et al., 1984; Nogueira-Filho and Lavorenti, 1997; Gottdenker and Bodmer, 1998; Mayor et al. 2004).

The present report describes macroscopic and microscopic features of the ovaries of the collared peccary in order to determinate some biological features of this species.

Materials and methods

This study was developed in the Reserva Comunal Tamshiyacu-Tahuayo located in the northeastern Peru between Tamshiyacu, Tahuayo and Yavari Miri rivers. The reserve covers an area of 322 500 ha of continuous forest and is

predominantly a non-flooded area (Bodmer et al., 1990). The research area was situated in the Tahuayo-Blanco region of the reserve which experiences persistent hunting pressure.

Animals

Twenty-seven carcasses of adult wild collared peccary females were obtained from the markets of Iquitos. Samples were taken at different periods between June 2000 and August 2001, including periods in moist and dry seasons. Carcass and genital organs were weighed, and the latter fixed and maintained in buffered 4% formaldehyde solution (v/v) until analysis.

Female classification

The reproductive status of the adult females was determined by the presence or absence of embryos or foetuses. This analysis was performed by macroscopic observation of the uterus, followed by dissection of the genital tract. The uterine tubes and uterine horns of females with no evidence of pregnancy were flushed with an isotonic saline solution to confirm the absence of ovulated oocytes or embryos. Females with at least one embryo or foetus were considered to be pregnant, and the pregnancy stage was defined as embryonic or foetal (Nomina Embryologica Veterinaria, 1994). Non-pregnant adult animals with ovaries bearing large antral follicles and absence of corpora lutea were considered to be in the follicular phase of the oestrous cycle, whereas those with ovaries with luteal tissue were considered to be in the luteal phase of the oestrous cycle. In the absence of either large antral follicles or corpora lutea, the ovaries were considered inactive.

Macroscopic features of ovaries

The macroscopic features of ovaries were analysed in all the experimental animals. Ovarian sizes (r_1 , r_2 and r_3) were taken and volume estimated by means of the formula for volume for ovoid bodies: $V = 4/3 \pi ((r_1 r_2 r_3))$.

Microscopic features of ovaries

Samples of ovaries were dehydrated, embedded in paraffin wax and cut into 3 to 5 μm sections. The sections were mounted onto a glass microscope slide, stained with haematoxylin and

eosin, PAS-haematoxylin or Masson's trichrome stain and examined under a light microscope. Measurements of ovarian structures were taken using a micrometric ocular. Diameters were measured as the mean length of the 2 perpendicular axes. Luteal volumes were calculated using the formula: $V=4/3 (D/2)^3$, according to Van Aarde & Skinner (1986). Luteal volume per female was calculated as the sum of volumes from active luteal structures.

Follicle classification

Follicles were classified using the optical plane through which the oocyte nucleolus was visible, according to a modified classification of Jori et al. (2002). Morphometric features of primordial, primary, small pre-antral, large pre-antral, small antral and large antral follicles were recorded. The presence or absence of thecal layers and zona pellucida in relation to the type of follicle was recorded.

Corpora lutea classification

Corpora lutea (CLs) were considered active in the presence of a pregnancy or as indicated by luteal cell morphology (Jori et al., 2002). Depending on the activity of luteal cells, corpora lutea were classified as true CL, these can be differentiated as cyclic CL or CL of pregnancy; and atretic CL. Ovulation rate was estimated as the mean number of active CL per female.

Immunohistochemistry

The expression of three major steroidogenic enzymes in follicles at different developmental stages and CLs was located by immunohistochemistry. The localization of cytochrome P450 17 alpha-hydroxylase/17-20 lyase (P450c17), an enzyme involved in androgen synthesis, cytochrome P450 aromatase, an enzyme converting androgens to estrogen, and 3 β - hydroxysteroid dehydrogenase (3 β -HSD), an enzyme involved in progesterone synthesis, was analysed.

Immunohistochemistry was performed using a polyclonal rabbit anti-bovine P450c17 antibody (kindly supplied by Dr. Conley, University of California, Davis), a monoclonal mouse anti-human aromatase antibody (Serotec, Düsseldorf,

Germany), and a polyclonal rabbit anti-human 3 β -HSD antibody (kindly supplied by Dr. Mason, Edimborough University) in an avidin-biotin immunoperoxidase procedure. Tissue sections were placed on 3-aminopropyltriethoxysilane-coated (APES, Sigma Chemical Co, St Louis, MO, USA) slides and, after dewaxing and rehydration in a graded ethanol series, they were pre-incubated in 2% (v/v) hydrogen peroxide for 30 minutes to inhibit endogenous peroxidase. After washing in PBS, the sections were immersed in 0.1% protease (Sigma) for 8 minutes at 37°C. The sections were then incubated in 10% (v/v) normal horse serum for 1 hour at room temperature, to avoid non-specific binding, and incubated with primary antibody used at dilutions of 1:5000 (P450c17), 1:500 (aromatase) or 1:400 (3 β -HSD) in PBS-BSA (1% w/v BSA, Sigma) overnight at room temperature. Negative control sections were incubated with normal horse serum (1:200) in place of primary antibody. After three washes in PBS for 5 min each, the sections were processed by the biotin-avidin method according to the manufacturer's instructions (Vectastain ABC Kit, Vector Laboratories, Peterborough, UK). The primary antibody was detected using a biotinylated second antibody (horse antimouse IgG), incubating the sections for 1 hour at room temperature, and the avidin-biotin-peroxidase complex. Peroxidase activity was visualised by incubating the sections with 3,39-diaminobenzidine-4-HCl in 0.05 mol Tris-HCl buffer l-1 (pH 7.6) containing 0.01% (v/v) H₂O₂ for 1.5 min. The sections were counterstained with Mayer's hematoxylin to correlate immunostaining with morphology of the ovary.

Statistical analysis

The recorded variables for the 54 ovaries were ovarian size, reproductive stage, number and type of antral follicles, number and type of CLs, luteal volume, and size of large and small luteal cells. Statistical analyses were performed using Statistical Analysis System (SAS, 1988). The level of dominance throughout the study was 0.05 ($P>0.05$). Values are expressed as the mean \pm standard deviation (S.D.).

The influence of reproductive stage on number and type of antral follicles, number and type of corpora lutea and luteal volume, and size of large and small luteal cells was assessed by analysis of variance for unequal numbers. Means were tested for differences using the Duncan's multiple range test.

Results

Animals

Among the 27 adult females included in this study, 11 were non-pregnant and 16 were at different stages of pregnancy. Of the 11 non-pregnant females, five females were in the follicular sexual phase and six in luteal sexual phase. Among the 16 pregnant females, fifteen females showed two embryos or foetus whereas only one pregnant female showed a single foetus. One pregnant female was considered to be at the embryonic stage of pregnancy, with an embryo about 5 mm in size. Among the 16 pregnant females, 10 were founded pregnant in moist season and 6 in dry season, including the female at embryonic stage of pregnancy.

Ovaries

The creamy white ovaries of sexually mature females of collared peccaries are ovoid bodies with a smooth surface. Ovaries were positioned under the fourth lumbar vertebra. They are supported in a bursa ovarica, which is linked with the peritoneal cavity by a flat opening of 7.4 \pm 1.6 mm in the largest diameter. Table 1 shows that the mean ovarian volume was significantly larger in pregnant than in non-pregnant females in follicular phase ($P<0.05$), but not than in non-pregnant females in luteal phase of the oestrous cycle. Right and left ovaries did not show significant differences in morphometric measures.

Growing follicles were visible as transparent bodies that did not protrude above the surface. Corpora lutea were ovoid bodies protruding from the surface (Fig. 1). A low cuboidal surface epithelium covered the ovary. The tunica albuginea was disrupted by the presence of ovarian follicles and corpora lutea. Scattered

smooth muscle fibres were present in the stroma around the follicles.

Follicular structures

Morphometric characteristics of follicles of the collared peccary are shown in Table 2.

Primordial follicles

Primordial follicles were found in the cortex just beneath the tunica albuginea (Fig. 2). A single of flattened squamous follicular cells resting on a basement membrane surrounded the spherical oocyte. The oocyte in the primordial follicle measured $20.5 \pm 3.6 \mu\text{m}$ ($n=50$) in diameter.

Primary follicles

Primary follicles were placed in the peripheral area of the cortex. The flattened follicular cells surrounding the oocyte proliferated and became cuboidal in shape.

Small pre-antral follicles

Small pre-antral follicles were characterised by the presence of two to four concentric layers of cubical cells (Fig. 3). The incipient zona pellucida in the oocyte was $2.9 \pm 1.1 \mu\text{m}$ thick. The theca interna was slightly differentiated with one to two layers of fusiform cells. The theca externa was difficult to differentiate due its continuity with the stromal tissue.

Large pre-antral follicles

Large pre-antral follicle presented a membrane granulosa of more than four layers, separated from the oocyte by a zona pellucida $3.5 \pm 2.1 \mu\text{m}$ thick. The basement membrane between the granulosa and theca interna layers established a distinct boundary separating these layers.

Small antral follicles

Small antral follicles characterised by the development of a central cavity (Fig. 4). As the stratum granulosa reached a thickness of 6 to 10 layers ($53.1 \pm 13.6 \mu\text{m}$ in thickness), small fluid-filled cavities were formed among the follicular granulosa cells. The follicular antrum was already visible in follicles measuring $530 \mu\text{m}$ in diameter. Most of the mural granulosa cells were polyhedral but the basal layer was columnar. The cumulus oophorus projected into the antrum and

surrounded the oocyte. The theca, reaching a thickness of $56.0 \pm 17.1 \mu\text{m}$ ($n=50$), was clearly divided into the theca interna defined and formed by several layers of fusiform cells, and theca externa composed of fibroblast-like cells, few layers of elastic fibres and vascular plexus. The cumulus cell layer was separated from the oocyte by a zona pellucida $6.5 \pm 1.2 \mu\text{m}$ thick.

Large antral follicles

Larger antral follicles had a mean diameter of $2252.7 \pm 558.2 \mu\text{m}$ ($n=50$) and were significantly larger than the small antral follicles ($P<0.01$). However, the mean size of the oocyte and the zona pellucida did not differ significantly between small and large antral follicles. The follicular antrum was particularly prominent. The stratum granulosum appeared to become thinner as the antrum increased in size with an average thickness of $82.5 \pm 35.5 \mu\text{m}$.

Follicular distribution

The average number of small and large antral follicles per female in follicular sexual phase was 30.4 ± 1.7 ($n=5$). The mean number of small antral follicles was 10.8 ± 4.2 . The mean number of large antral follicles larger than 2.5 mm was 5.2 ± 2.2 . The mean number of large antral follicles smaller than 2.5 mm was 14.4 ± 3.0 . Antral follicles were present in all the females.

Atretic follicles

In primary and pre-antral follicles the oocyte appeared to degenerate before the follicular wall. In antral follicles, the granulosa and the theca layers both infold, hypertrophy and extend inward to occupy the antrum. Other evidence of atresia in follicular wall cells was nuclear pyknosis and chromatolysis. During atresia, the basement membrane was thickened and hyalinised and the zona pellucida became thickened and folded.

Interstitial glands

Thecal-type interstitial glands were found in all females studied. Disappearance of the stratum granulosum, hypertrophy of the theca interna, and remnants of the zona pellucida or basement membrane in its central part were observed.

Luteal structures

CLs at different stages of development were present in all the adult females. Table 3 shows the mean diameter and mean luteal volume of the CL observed in collared peccary females.

Corpora lutea

The mean number of cyclic CL per non-pregnant female in luteal sexual phase was 2.1 ± 0.6 in both ovaries. Cyclic CL was characterised by the presence of two distinguishable cells: large and small luteal cells (Fig. 5). The large luteal cells were oval or polygonal cells ($22.55 \pm 8.43 \mu\text{m}$ in diameter; $n=50$) with an abundant, pale, eosinophilic and vacuolated cytoplasm and spherical nuclei. Large luteal cells in pregnancy CL were larger ($P<0.001$) than in cyclic CL ($28.4 \pm 7.0 \mu\text{m}$ and $16.7 \pm 5.1 \mu\text{m}$, respectively). They also presented a larger nucleus ($P<0.0001$) ($10.3 \pm 1.3 \mu\text{m}$ and $6.6 \pm 0.7 \mu\text{m}$, respectively). Large luteal cells were more frequently located at the central areas of the CL (68.7%), whereas small cells were more frequently located in the peripheral areas (59.8%).

Small luteal cells characterised by an oval shape and a round nucleus. Mean size of small luteal cells was $10.1 \pm 1.7 \mu\text{m}$ in diameter ($n=50$). No change was observed in small luteal cell features in accordance to the kind of CL. Small luteal cells in pregnancy CL were $10.7 \pm 1.4 \mu\text{m}$ and in cyclic CL were $9.6 \pm 2.2 \mu\text{m}$. Some connective tissue from the stroma was observed invading forming folds into the CL.

All pregnant females, at different stages of pregnancy, showed at least two CL of pregnancy. Pregnant females presented a mean of 2.4 ± 0.7 pregnancy CL in both ovaries. The diameter of pregnancy CL was larger than that of cyclic CL ($P<0.005$) ($7.97 \pm 2.59 \text{ mm}$ and $5.79 \pm 2.11 \text{ mm}$, respectively). The CL of females with an advanced pregnancy presented a stronger yellow-brown pigmentation.

Luteal volume

Pregnant females presented a significantly larger average volume than that of non-pregnant

females at luteal sexual phase ($P<0.01$) (434.1 ± 316.2 and $189.1 \pm 271.9 \text{ mm}^3$, respectively).

Atretic CL

Atretic CL was occasionally found in the studied females. Only one pregnant female presented two atretic CL further than the pregnancy CLs. Luteal tissue showed extensive fibrosis, a markedly reduced vascularization compared to functional CL and nuclear pyknosis in luteal cells.

Ovulation rate

According to the number of CL observed in pregnant and cyclic females, the mean ovulation rate was estimated as 2.3 ± 0.6 corpora lutea/female ($n=16$). There was no significant difference in number of CL between left and right ovary (1.09 ± 0.75 vs. 1.18 ± 0.73 corpora lutea/female, respectively). The number of CL found in pregnant and non-pregnant females showed no significant differences (2.4 ± 0.7 vs. 2.1 ± 0.6 corpora lutea/female, respectively). The average litter size for the collared peccary females was 1.90 ± 0.32 embryo or foetuses/pregnant female ($n=16$).

Immunohistochemistry

P450c17 expression was present in the theca interna layer of antral follicles and was not detected in granulosa cells (Fig. 6). The number of positive cells and staining intensity increased with follicle size. P450c17 was also intensely stained in all luteal cells of some CLs both in pregnant and non-pregnant females (Fig. 8). Aromatase cytochrome P450 was only localised in granulosa cells of nonatretic antral follicles and was undetectable in atretic follicles (Fig. 9). 3β -HSD expression was immunolocalised in all luteal cells of active CLs (Fig. 10). 3β -HSD was also detected in the granulosa layer of large antral follicles (Fig. 11) and theca interna layer of very large antral and atretic follicles and thecal interstitial glands (Fig. 12).

Control sections were negatively stained except for the counterstaining of nuclei with haematoxylin.

Discussion

In this study, physiological ovarian features have been analysed through the description of the macroscopic and microscopic features of the ovaries in the collared peccary (*Tayassu tajacu*).

Ovaries of collared peccary female were enclosed by a large bursa ovarica that surrounds the ovary completely. Contrary to the sow (Getty, 1982; Schwarze, 1984; Dyce et al., 1987), growing follicles did not protrude above the surface, but were visible as transparent bodies.

The constituent cell types of the ovary of the collared peccary were similar to those described for other Suidae (Mossman and Duke, 1973). The cortex presents many follicles in various stages of development and corpora lutea. This study describes the development of the follicle from primordial follicles to large antral follicle.

Collared peccary females in follicular sexual phase presented a mean number of 30.4 antral follicles. Among antral follicles, the females presented 5.2 follicles larger than 2.5 mm. This fact suggests the existence of a follicular wave involving the synchronous growth of a group of follicles from which several seem to attain dominance over the others.

Collared peccary females presented two kind of CL: cyclic and pregnancy CL. Pregnancy CLs were larger than cyclic CL. As in the sow (Murphy, 2000), two cell populations of luteal cells are present in the collared peccary female: small and large luteal cells. As reported by Priedkalns (1987), the small luteal cells make up a minor part of luteal tissue and occupy mainly trabecular and peripheral areas of the corpus luteum.

The sow is known to have a mean ovulation rate of 10-24 follicles (Gordon, 1997) and the wild pig 4-6 follicles (Foxcroft et al., 1985). The mean number of true CL observed per female in the collared peccary suggests a mean ovulation rate of 2.3 ± 0.6 follicles. According to Cahill et al. (1979), the number of CL in a female can be considered as an indicator of the ovulation rate. The low mean ovulation rate of the collared peccary could stand as a biological limit for the

prolificacy of this Suiform. On the other hand, the collared peccary female presents very low mean ovum mortality, 0.4 ± 0.6 oocytes or embryo per pregnancy, expressed by the difference of the number of true CL and observed embryos or foetuses (Van Aarde & Skinner, 1986). This efficacy could be considered as an optimal reproductive features, compared to the sow, with a 40% ovum or embryos mortality per pregnancy (Pomeroy, 1992).

The mean luteal volume of pregnant collared peccary females was larger than that of non-pregnant females. Due to the large volume, CL protrudes from the smooth outer surface of the ovary and in its turn results in a larger mean ovarian volume in pregnant females. This increase in size of the pregnancy CL could be in part due to hypertrophy of the large luteal cells. During gestation, large luteal cells probably increase the production of steroid hormones. Primarily large luteal cells produce progesterone. In mammals, this hormone is the responsible of the development of uterine glands, such it occurs in the collared peccary (Mayor et al., 2004), and induces them to secrete, renders the endometrium receptive to the implantation of the embryo and promotes behaviour appropriate to pregnancy (Priedkalns, 1987).

Atretic CLs were found in the ovaries of adult females simultaneously with functional CL. As reported Mossman and Duke (1973), this feature could suggest that regression of functional CL is slow and that CL persists at least into the middle period of a following gestation.

Large antral follicles were found regularly in the ovaries of pregnant females. This finding suggests that, contrary to the sow and similarly with the cow (Guibault et al., 1986; Pierson and Ginther, 1986; Taylor and Rajamahendran, 1991), a follicular growth continues in pregnant collared peccary. Further studies need to be undertaken in order to assure the follicular turnover during pregnancy.

The whole sample collection was performed regularly during both environmental seasons, moist and dry season. We observed that pregnant

females were homogenously distributed in both moist and dry season. Similarly to Gottdenker and Bodmer (1998), this finding indicates that in the north-eastern Peruvian Amazon collared peccary female could be considered as an aseasonal breeder. On the other hand, Sowls (1984) and Hellgren et al. (1995) reported that collared peccary used to birth during the rainy season in Texas. This fact could be explained because the significant smaller amplitude of the seasonal variations in the tropical environment. Furthermore, because of this relative environmental aseasonability there are no severe seasonal differences in resources, and thus the availability of food should be great enough to allow peccaries to carry on pregnancy in all months of the year (Gottdenker and Bodmer, 1998).

The immunohistochemical study showed that the theca interna layer expressed cytochrome P450c17 in antral follicles, with increasing number of positive cells and staining intensity in relation to follicle size. Theca cells therefore provide granulosa cells with androgen substrate, such as it occurs in the domestic pig (Tonetta and Hernandez, 1989; Shores and Hunter, 1999). P450 aromatase expression in the peccary could not be detected in theca interna cells as it had been demonstrated in pig antral follicles (Conley et al., 1994; Lautincik et al., 1994; Shores and Hunter, 1999). Theca cells from other species different to the pig, such as cattle or sheep, do not express P450 aromatase (Lautincik et al., 1994). Similarly to the pig (Conley et al., 1994; Garrett and Guthrie, 1997), the peccary theca interna of large antral follicles showed 3 β -HSD expression, confirming the steroidogenic regulating role of theca cells in the collared peccary.

Granulosa cells of antral follicles expressed cytochrome P450 aromatase, with increased intensity in relation to follicle size, as it occurs in the pig (Conley et al., 1994). Also, the granulosa layer from very large antral follicles showed 3 β -HSD expression in a similar way as it occurs in the cow (Conley et al., 1995), but not in the pig (Conley et al., 1994, 1995).

All luteal cells from active CLs expressed intensely 3 β -HSD. 3 β -HSD activity was maintained in CLs from females at advanced stages of pregnancy, suggesting that the CLs of the collared peccary are active during a large part of the pregnancy, in a similar way to the pig (Perry et al., 1976; Moeljono et al., 1977). Luteal cells from the collared peccary did not show aromatase expression, such as it has been described in pig CLs through mRNA expression (Guthrie et al., 1994; Slomczynska et al., 2001). By contrast to the pig (Guthrie et al., 1994), luteal cells from some CLs of the collared peccary expressed intensely P450c17, suggesting the production of androgen substrate by the CL in the collared peccary.

Theca layers from atretic follicles and thecal-type interstitial glands showed 3 β -HSD expression, suggesting steroidogenic activity of this type of ovarian structures.

The expression of major steroidogenic enzymes in follicles, corpora lutea and interstitial structures of the collared peccary showed similarities but also subtle differences with respect to the domestic pig. Further studies are needed to check expression profiles of steroidogenic enzymes in relation to pregnancy and phases of the oestrous cycle in the collared peccary.

In summary, the present study shows the collared peccary female has a mean ovulation rate of 2.3 ± 0.6 follicles and a very low mean ovum mortality. Collared peccary, both pregnant and non-pregnant, presents a follicular wave involving the synchronous growth of a group of follicles from which several seem to attain dominance over the others. In addition, this study suggests that the corpora lutea of the collared peccary are active during a large part of the pregnancy.

Acknowledgements

We thank Richard Bodmer, Pablo Puertas and Etersit Pezo for helping with sample collection. We would also like to thank I.V.I.T.A- Iquitos from Perú for data collection. We would also like

to thank the European Union (Research for the Development, INCO-DEV; Fifth Framework Programme; contract n°: ICA4-CT-2001-10045) and Spanish Ministry of Science and Technology (MCYT; AGL2001-4961-E) for supporting the project.

References

- Cahill, L.P., Mariana, J.C. and Mauleon, P., (1979). Studies in vivo and in vitro on the initiation of follicle growth in the bovine ovary. *J. Reprod. Fertil.*, 109: 165-171.
- Conley, A.J., Kaminski, M.A., Dubowsky, S.A., Jablonka-Shariff, A., Redmer, D.A. and Reynolds, L.P. (1995). Immunohistochemical localization of 3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase and P450 17 alpha-hydroxylase during follicular and luteal development in pigs, sheep, and cows. *Biol Reprod.*, 52(5):1081-94.
- Dyce, K.M., Sack, W.O. and Wensing, C.J.G. (1987). The pelvis and reproductive organs of the pig. In Textbook of veterinary anatomy. W.B. Saunders Company. Philadelphia, p. 759-767.
- Emmons, L.H. (1990). Neotropical rainforest mammals: A field guide. Chicago: University of Chicago Press, p. 281.
- Fitz Gibbon, C. (1998). The management of subsistence harvesting: Behavioural ecology of hunter and their mammalian prey. In Behavioural ecology and conservation biology. Caro, T. Oxford University Press.
- Foxcroft, Gr, Cole, D.J.A and Weir, B.J. (1985). Control of pig reproduction II. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 33.
- Garrett, W.M. and Guthrie, H.D. (1997). Steroidogenic enzyme expression during preovulatory follicle maturation in pigs. *Biol Reprod.*; 56(6):1424-31.
- Getty, R. (1982). The anatomy of the domestic animals. Ed. W.B. Saunders Company. Philadelphia, p. 1435-1436.
- Gordon, I. (1997). Controlled reproduction in pigs (III). Cap International. New York.
- Gottdenker, N. and Bodmer, R. (1998). Reproduction and productivity of white-lipped and collared peccaries in the Peruvian Amazon. *J. Zool. Lond.*, 245:423-430.
- Guilbault, L.A., Dufor, J.J., Thatcher, W.W., Drost, M. And Haibel, G.K. (1986). Ovarian follicular development during early pregnancy in cattle. *J. Reprod. Fertil.*, 78:127-135.
- Hellgren, E.C., Syntzke, D.R., Oldelberg, P.W. and Guthery, F.S. (1995). Demography of a collared peccary population in South Texas. *J. Wildl. Manage.*, 59: 153-163.
- Jori, F., M. López-Béjar, P. Mayor, and C. López. (2002). Functional anatomy of the ovaries of the wild brush-tailed porcupine (*Atherurus africanus*, Gray 1842) from Gabon. *Journal of Zoology*, 256: 35-43.
- Lautincik, J., Kolodzieyski, L., Elias, V., Hyttel, P., Osawa, Y. and Sirokin, A. (1994). Immunocytochemical localization of aromatase in the ovary of superovulated cattle, pigs and sheep. *Acta Vet Scand*;35(2):185-91.
- Conley, A.J., Howard, H.J., Slanger, W.D. and Ford, J.J. (1994). Steroidogenesis in the preovulatory porcine follicle. *Biol Reprod.*, 51(4):655-61.
- Slomczynska, M., Duda, M. and Szak, K. (2001). The expression of androgen receptor, cytochrome P450 aromatase and FSH receptor mRNA in the porcine ovary. *Folia Histochem Cytobiol.*, 39(1):9-13.
- Lavaigne, D.M., Callaghan, C.J. and Smith, R.J. (1996). Sustainable utilization: The lessons of history. In The exploitation of mammals populations. Taylor, V.J. and Dunstone, N., eds. Chapman and Hall, London, p. 250-265.
- Low, W.A. (1970). The influence of aridity on reproduction of the collared peccary (*Dicotyles tajacu* (Linn)) in Texas. Ph.D. Thesis. University of British Columbia.
- Mauget, R., Feer, F., Henry, O. and Dubost, G. (1997). Hormonal and behavioural monitoring of ovarian cycles in peccaries. 1st International Symp. on Phys. and Ethol. of Wild and Zoo animals. Proceeding. Suppl. II, p. 145-149.
- Moeljono, M.P.E., Thatcher, W.W. and Bazer, F.W. (1977). A study of prostaglandin F₂ α as the luteolysin in swine. II. Characterization and comparison of prostaglandin F₂ α , estrogens and progestin concentrations in utero-ovarian vein plasma of nonpregnant and pregnant gilts. *Prostaglandins*, 14: 543-555.
- Mossman, H.W. and Duke, K.L. (1973). Comparative morphology of the mammalian ovary. University of Wisconsin Press, Madison, WI.

- Murphy, B.D. (2000). Models of luteinization. *Biology of Reprod.*, 63, 2-11.
- Nogueira-Filho, S.L. and Lavorenti, A. (1997). O Manejo do caititu (*Tayassu Tajacu*) e do queixada (*Tayassu Pecari*) em cativeiro. En: Manejo e Conservação de Vida Silvestre no Brasil. 1 ed. Belém/PA-Brasília/DF: Mamirauá-CNPq, p. 285.
- Perry, J.S., Heap, R.D.B. and Burton, R.D. (1976). Endocrinology of the blastocyst and its role in the establishment of pregnancy. *J. Reprod. Fertil. (Suppl)*, 25: 85-104.
- Pierson, R.A. and Ginther, O.J. (1986). Ovarian follicular populations during early pregnancy in heifers. *Theriogenology*, 26:649.
- Pomeroy, R.W. (1992). Embryogenesis recapitulates oogenesis in swine. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine, 199: 273-281.
- Priedkalns, J. (1987). Female Reproductive System. In *Textbook of veterinary histology*. 3rd ed. H.-D. Dellmann, and E.M. Brown, eds. Lea & Febiger, Philadelphia, p. 313-339.
- Robinson, J.G. and Redford, K.H. (eds) (1991). Neotropical Wildlife use and conservation. University of Chicago Press, Chicago.
- Roots, C.G. (1966). Notes on the breeding of the white-lipped peccaries at Dubley Zoo. *Int. Zoo. Yb.*, 6: 198-199.
- Ross, M. and Romrell, L.J. (1985). Female reproductive system. In *Histology*. Ed. Kimberly Kist. Maryland.
- Schwarze, C. (1984). Compendio de anatomía veterinaria. Ed. Acribia. Zaragoza, p. 277-289.
- Shores, E.M. and Hunter, M.G. (1999). Immunohistochemical localization of steroidogenic enzymes and comparison with hormone production during follicle development in the pig. *Reprod Fertil Dev.*, 11(6):337-44.
- Solws, L.K. (1997). Javelines and other peccaries: The biology, management and use. College Station. Texas A. and M. University Press, p. 84-106.
- Sowls, L.K. (1984). The peccaries. The University of Arizona Press, Tucson.
- Taylor, C. and Rajamahendran, R. (1991). Follicular dynamics and hábeas luteum growth and function in pregnant versus non pregnant dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 74: 115-123.
- Tonetta, S.A. and Hernandez, M. (1989). Modulation of 17 alpha-hydroxylase/C17,20-lyase activity in porcine theca cells. *J. Steroid. Biochem.*; 33(2):263-70.
- Van Aarde, R.J. and Skinner, J.D. (1986). Functional anatomy of the ovaries and lactating Cape porcupines *Hystrix africaeaustralis*. *J.*

Legends to figures

Figure 1: View of the ovary of a pregnant collared peccary (*Tayassu tajacu*) female showing two pregnancy CL (Bar: 4 cm).

Figure 2: Part of the ovary of a female collared peccary in follicular phase, showing a large antral follicle, pre-antral follicle, and several primary and primordial follicles. H & E (Bar: 1 mm).

Figure 3: Detail of a pre-antral follicle of collared peccary showing four concentric layers of cubical cells and the incipient zona pellucida. H & E (Bar: 200 µm).

Figure 4: Detail of a large antral follicle of collared peccary female. H&E (Bar: 250 µm).

Figure 5: Detail of a pregnancy CL of collared peccary showing large and small (arrows) luteal cells. H&E (Bar: 25 µm).

Figure 6: Detail of the follicular wall of a large antral follicle showing the granulosa (top) and theca interna layer with P450c17 expression (brown staining) in some cells. Mayer's hematoxylin (Bar: 30 µm).

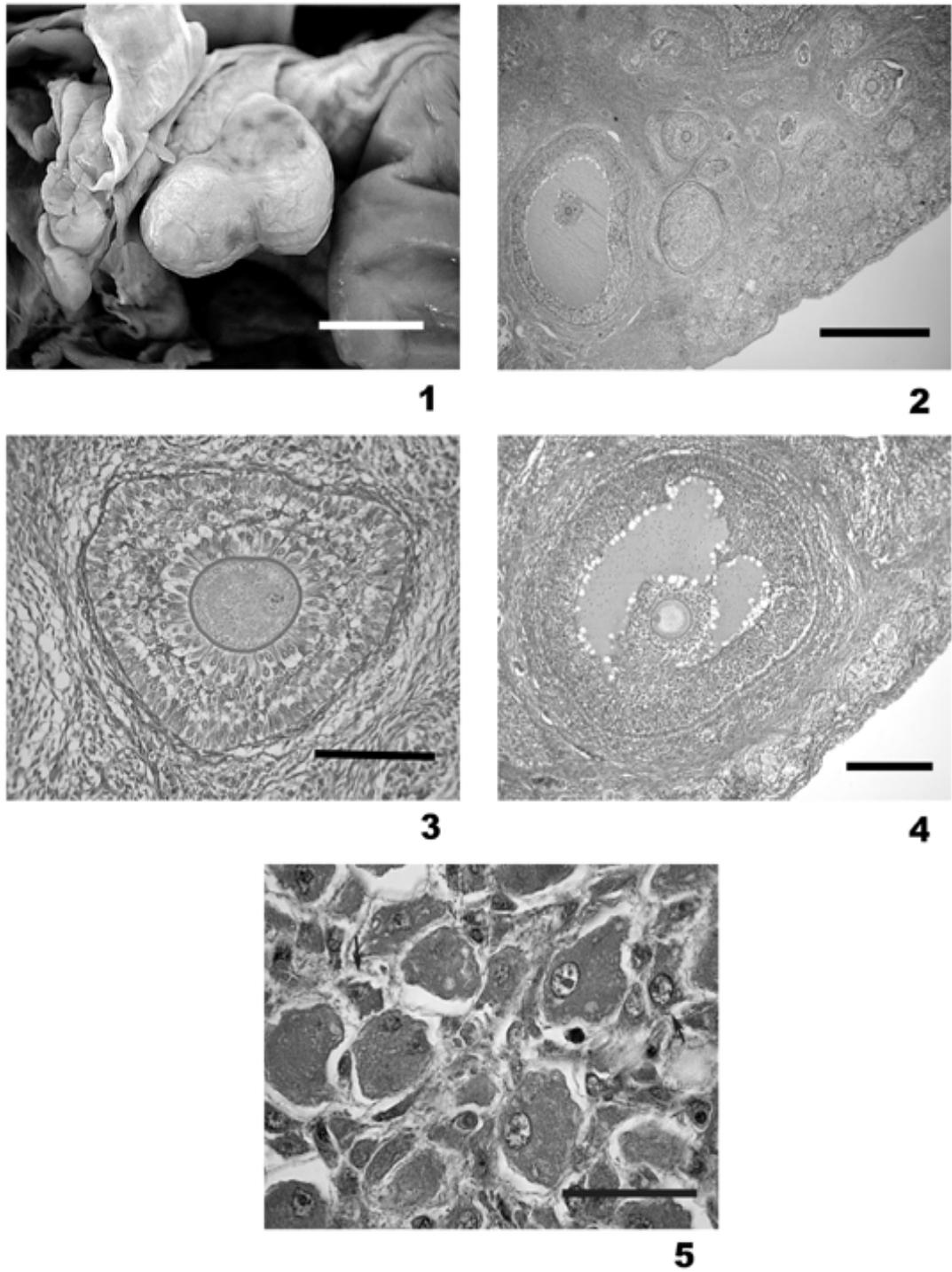
Figure 7: Detail of a corpus luteum showing P450c17 expression (brown staining) in some large luteal cells. Mayer's hematoxylin (Bar: 100 µm).

Figure 8: Aromatase cytochrome P450 expression (brown staining) in granulosa cells from an antral follicle. Mayer's hematoxylin (Bar: 50 µm).

Figure 9: Detail of a corpus luteum of pregnancy showing 3 β -HSD expression (brown staining) in luteal cells. Mayer's hematoxylin (Bar: 150 µm).

Figure 10: Detail of the follicular wall of two very large antral follicles showing 3 β -HSD expression (brown staining) in the granulosa layer. Mayer's hematoxylin (Bar: 150 µm).

Figure 11: Section of an ovary from a pregnant female showing 3 β -HSD expression (brown staining) in the theca layer of atretic follicles and in interstitial glands. Mayer's hematoxylin (Bar: 250 µm).



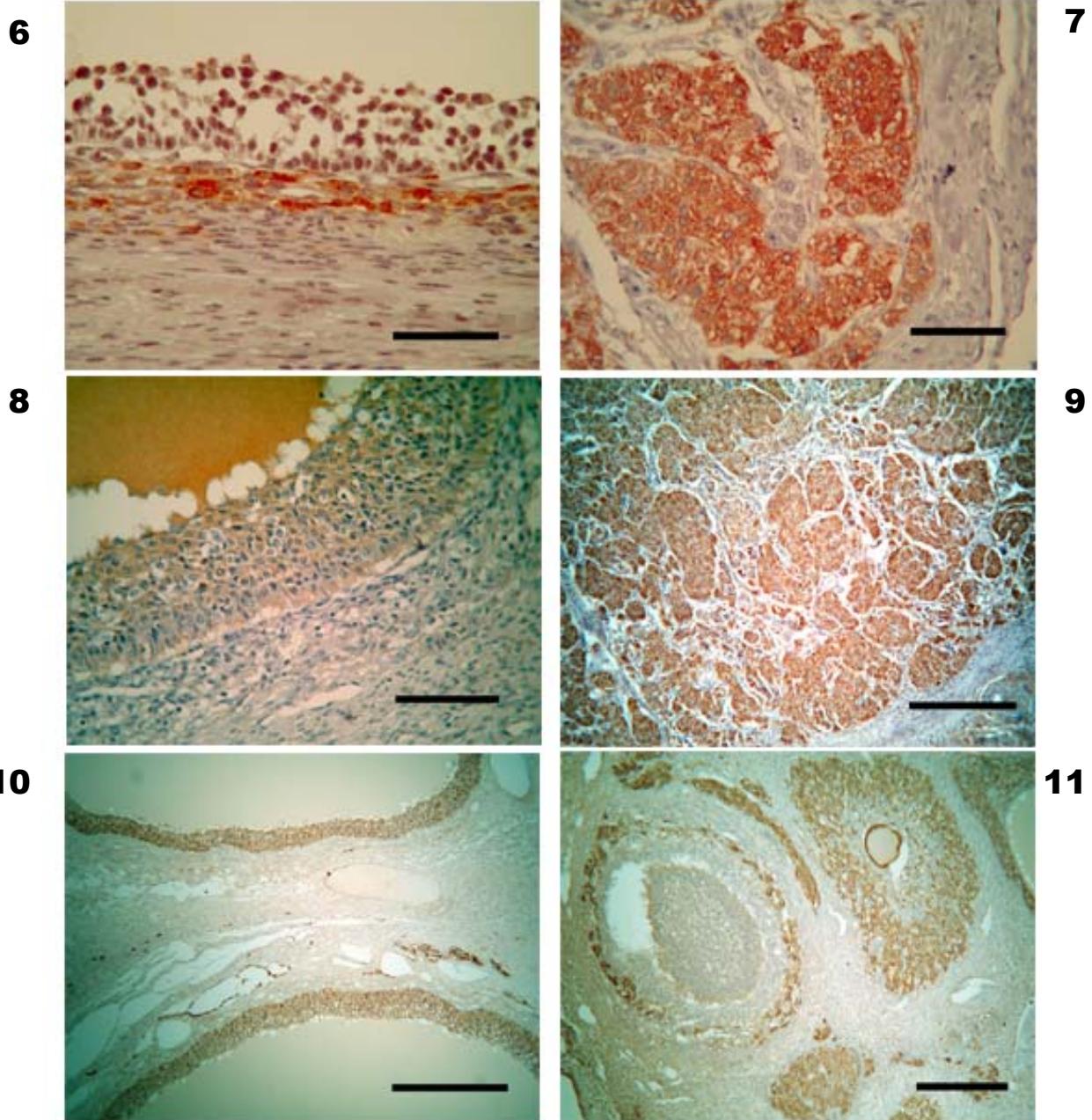


Table 1: Sizes and volume (mean \pm standard deviation, in mm, and mm^3 , respectively) of the ovaries of the collared peccary.

| | n | Size (mm) | | | Volume (mm^3) |
|----------------------------------|----|-----------------|-------------------------|--------------------------|-----------------------------|
| | | r_1 | r_2 | r_3 | |
| Non-pregnant in follicular phase | 10 | 6.00 ± 1.02 | $5.18 \pm 0.58\text{a}$ | $4.97 \pm 1.02\text{a}$ | $366.9 \pm 118.7\text{a}$ |
| Non-pregnant in luteal phase | 12 | 6.23 ± 1.35 | $5.76 \pm 1.58\text{b}$ | $5.22 \pm 1.54\text{ab}$ | $489.1 \pm 337.2\text{ab}$ |
| Pregnant | 32 | 6.90 ± 1.69 | $6.54 \pm 1.60\text{b}$ | $6.16 \pm 1.55\text{b}$ | $722.8 \pm 414.5\text{b}$ |

a, b Values appearing in rows with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$).

Table 2: Classification and characterization of ovarian follicles in the collared peccary female.

| Follicle type | n | Layers of granulosa cells | Follicular diameter ($\mu\text{m} \pm \text{SD}$) | Oocyte diameter ($\mu\text{m} \pm \text{SD}$) | Presence of zona pellucida | Presence of theca interna |
|------------------|----|---------------------------|---|---|----------------------------|---------------------------|
| Primordial | 50 | 1 | 22.7 \pm 4.8a (12 – 32) | 20.5 \pm 3.6a (16.3 – 23.1) | - | - |
| Primary | 50 | 1 | 26.0 \pm 4.1a (34 - 190) | 22.9 \pm 4.3a (19.3 – 24.2) | - | - |
| Small pre-antral | 50 | 2-4 | 294.6 \pm 97.4b (190 – 460) | 84.6 \pm 24.2b (51.9 – 106.2) | + | + |
| Large pre-antral | 50 | 5-6 | 633.6 \pm 333.7c (400 – 1230) | 96.4 \pm 22.6c (61.7 – 145.7) | ++ | ++ |
| Small antral | 50 | 7-10 | 917.7 \pm 509.4d (530 – 1620) | 100.3 \pm 16.3d (76.6 \pm 116.1) | ++ | ++ |
| Large antral | 50 | >10 | 2252.7 \pm 558.2e (1531 – 3542) | 111.5 \pm 60.4d (34.6 – 180.9) | ++ | ++ |

a, b, c, d, e Values appearing in rows with different superscripts are significantly different (P<0.05).

Table 3: Mean diameter and mean luteal volume of the CL observed in pregnant (n=31) and non-pregnant (n=17) collared peccary female.

| | n | Diameter of CL (mean ± desv.std., in mm) | Volume of CL (mean ± desv.std., in mm ³) |
|---|----|---|---|
| Pregnant females | 31 | 7.98 ± 2.59 | 434.10 ± 316.19 ^a |
| Non-pregnant females in luteal phase | 17 | 6.93 ± 2.12 | 189.1 ± 271.9 ^b |

a, b Values appearing in rows with different superscripts are significantly different (P<0.05).

3. Characteristics of the estrus of the female collared peccary (*Tayassu tajacu*) from Eastern Amazon

In preparation to be submitted

López-Béjar, M., Gálvez, H. and Mayor, P. (2004). Estrus detection by using vaginal cytologic and external genitalia examination in collared peccary (*Tayassu tajacu*) females from eastern Amazon. 15th International Congress on Animal Reproduction, Porto Seguro, Brazil. Accepted.

Key Words: collared peccary, *Tayassu tajacu*, estrus characteristics, vaginal cytology, external genitalia, mating

Abstract

This study describes external genitalia characteristics and sexual receptivity during estrus of the collared peccary female (*Tayassu tajacu*) from eastern Amazon. Two consecutive studies are described. The objective of the first was to characterize vaginal cytology and external genitalia features of females with estrous signs. In the second study, we evaluated the effectiveness of the vaginal cytology and external genitalia examinations to predict the period of sexual receptivity. For Study 1, a total of 47 estrous cycles of 14 captive females were monitored. Estrus was characterized by reddish and tumefacted appearance of the external genitalia, presence of vaginal mucus, and by vaginal opening. The presence of vulva tumefaction, reddish appearance, vaginal mucus, and vaginal opening were observed for 4 ± 1.8 ($X \pm SD$), 3.9 ± 1.4 , 2.4 ± 1.3 , and 2.1 ± 0.8 days, respectively. These estrous signs were respectively observable 2.8 ± 1.2 , 2.3 ± 0.9 , 1.05 ± 0.5 , and 1.3 ± 0.7 days before the serum estradiol peak. Superficial plus intermediate cells became predominant (presence overpassing 60% of the total cells) for a 4.4 ± 2.6 days period in vaginal smears, beginning this predominance 2.3 ± 1.5 days before the estradiol peak. The maximum density (45% of the total) of superficial cells was delayed 0.8 ± 0.5 days from the serum estradiol peak. After estrus, superficial and intermediate cells were notably reduced and the external genitalia showed a pale and non-tumefacted vulva and a vaginal closure. Based on serum estradiol measurements, the positive predictive values of the examination of the vaginal cytology and external genitalia changes to detect estrus were 86.4% and 88.9%, respectively. For the second study, every female used in the Study 1 were placed with one single male until mating or during a 30 days period. Mating was confirmed in 10 out of the 14 cycling females and occurred 3.1 ± 0.9 , 1.02 ± 0.25 , 2.76 ± 1.23 , and 1.3 ± 0.7 days after the first signal of presence of vulva tumefaction, vaginal mucus, reddish appearance, and vaginal opening, respectively, and 0.6 ± 0.5 days after the peak of superficial and intermediate vaginal cells. Thus, sexual receptivity was located on the last third of

the period in which estrous signs were showed. In conclusion, examination of vaginal cytology and external genitalia is a useful tool to detect estrus and to predict the period of male acceptance of the collared peccary female. The presence of superficial cells at a proportion higher than 40% and the presence of eosinophilic cells (superficial plus intermediate cells) at a proportion higher than 60% in the vaginal films could be taken as an indicator of estrus

Introduction

The collared peccary, *Tayassu tajacu*, which belongs to a family within the Suiformes, Tayassuidae, represents an important source of meat for local people in Amazon region (Robinson and Redford, 1991) and is one of the most hunted species (Redford, 1993) in Latin America. Effective captive breeding programs could stand as renewable systems of exploitation to be used in tropical forests where a substantial demand of peccaries exists. Field studies showed that this species breed throughout the year with little or no seasonal periodicity in the Amazon region (Gottdenker and Bodmer, 1998). Experimental studies reported that the collared peccary female presents an estrous cycle length ranging from 22 to 28 days (Brabell, 1993; Mauget et al., 1997), a sexual receptivity period from 2 (Lochmiller et al., 1984) to 4 (Mauget et al., 1997) days, a gestation length mean of 145 days (Sowls, 1997) and a low litter size ranging from 1.7 to 1.9 fetuses or new born (Gottdenker and Bodmer, 1998, Lochmiller et al., 1984, Mayor et al. 2004).

A more detailed knowledge on the reproductive physiology of collared peccary is essential to establish accurate management practices in the exploitation of this Suidae. Vaginal cytology and external genitalia features have been proved as effective tools for determining estrous cycle events in swine (Gordon, 1997). The use of vaginal cytology in wildlife management, as an indicator of reproductive status, was first described for domestic guinea pigs, rats and mice (Denenberg et al., 1964) and later extended to other wild species (Kirkpatrick, 1980; Mayor et al., 2003). The objective of the present study was

to establish external genitalia characteristics and sexual receptivity during estrus of the collared peccary female (*Tayassu tajacu*) from eastern Amazon.

Material and methods

Experimental design

Two consecutive studies were designed. The objective of the first one was to characterize vaginal cytology and external genitalia features of females with estrous signs. In the second study, we evaluated the effectiveness of the vaginal cytology and external genitalia examinations to predict the period of sexual receptivity.

The studies were conducted on an experimental farm at EMBRAPA-UFPA, Belém (State of Para, Brazil), between June 2003 and January 2004. The climate is typically equatorial with an average annual temperature of 20-30°C and a daily variation of 4°C, with an average relative humidity of 78%. Annual rainfall in the whole country oscillates between 1,500 mm and 1,900 mm.

Study 1

Fifteen captive collared peccary females were maintained in individual rooms of 72 m² under natural lighting conditions during 150 days. The females were fed commercial sow food with a calorific supply of 2500 kcal and protein level of 14%. Water was always available. Prior to data collection, animals were subjected to a minimum 15-day adaptation period. All animals were in excellent health throughout the study (go to Annexes).

Changes in external genitalia and vaginal cytology features were examined four times per week between 09:00 and 11:00h a.m.. The examination of external genitalia included the observation and subsequent description of the labia and commisures of the vulva and mucus in the vestibulum vaginae. The external vaginal opening was also checked and classified as being open or closed. Vaginal opening was considered to be open if the cotton-tipped swab for vaginal

cytology sampling was easily introduced into vagina.

Samples for vaginal cytology were obtained by passing a cotton-tipped swab into the caudal vagina. The swab was rubbed against the vaginal wall. The cells were transferred to a glass slide by gently rolling the swab. Finally, the film was allowed to air dry and subsequently stained with a Diff-Quick® stain (Baxter S.A., Valencia, Spain). Vaginal cytology was categorized similarly to that of domestic animals (Thrall and Olson, 1999), taking into account basal, parabasal, intermediate and superficial cells. Basal cells are small with a discrete amount of cytoplasm and a hyperchromatic nucleus. Parabasal cells are small and rounded, with round nuclei and a small amount of cytoplasm. Large and small intermediate cells show a large cytoplasm and are denoted polygonal, rounded or oval. Superficial cells, the largest epithelial cells, bear a pyknotic nucleus and are occasionally enucleate. The appearance and the proportional quantity of cell types were used to determine phases of the sexual cycle of the collared peccary in a similar way to the method described by Mayor et al. (2003).

Blood samples (2.0 ml) were collected two times per week into silicone tubes by cephalic and saphenous venipuncture in order to detect serum estradiol-17β concentrations. Serum was removed after centrifugation at 2000 g for 15 min within 1 h of collection and stored at -20 °C until assayed. Serum estradiol-17β concentrations were measured by a direct, non-extraction radioimmunoassay. Control samples with low, medium and high concentrations of 17β-estradiol were included at frequent intervals within each assay. The 17β-estradiol antiserum used in the assays crossreacted with relevant steroids (ImmunoChem™ Progesterone^{125I}, Biomedicals, Inc) as follows: estradiol-17β (100%) and estrone (6.2%), estriol (1.45%). All other steroids tested crossreacted < 0.01. The interassay coefficients of variations were 15.4% for the low control (mean 49.2 pg/ml), 5.5% for the medium control (240 pg/ml) and 7.6% for the high control (935.9 pg/ml) samples, respectively. The intra-assay coefficients of variation were 15.7% for the low

control (mean 25.4 pg/ml), 5.5% for the medium control (152 pg/ml) and 3.5% for the high control (657 pg/ml) samples, respectively. Sensivity of the standard curve, defined as the first point that was significantly different from 0, was 10 pg/ml.

Because 14 out of the 15 females showed estradiol peaks this peak was used as indicator of estrus to evaluate the detection of estrus based on external genitalia features and vaginal cytology. The results were grouped as follows: correct positive diagnosis (a), incorrect positive diagnosis (b), correct negative diagnosis (c) and incorrect negative diagnosis (d). From these values, the sensitivity ($100 \times a/(a+d)$), specificity ($100 \times c/(c+b)$), positive predictive value ($100 \times a/(a+b)$) and negative predictive value ($100 \times c/(c+d)$) of the estrous detection were calculated. Overall accuracy was defined as ' $a+c/total$ '.

One female presented sustained low levels of estradiol in serum during the experimental periods and no evident changes in external genitalia and cytology features, indicating no cyclic activity. The study population was therefore constituted of the 14 cyclic animals.

Study 2

Every cyclic female finishing the Study 1 period was placed with one single male. External genitalia and vaginal cytology features were daily registered until mating or during a 30 days period. Mating was confirmed by the presence of sperm cells in the vaginal smears (Figure 1).

With the objective of reducing stress, blood samples were not collected in this study.

Results

Study 1

Based on serum estradiol measurements, a total of 47 estrous cycles were monitored in the 14 studied females during the study periods. The average value of the estradiol peak was 127.5 ± 20.2 ($X \pm SD$) pg/ml.

During the period close to the estradiol peak, the external genital and vaginal smears features

changed. Females in estrous phase presented an open external vaginal opening. Reddish and tumefacted external genitalia, and fluid vaginal mucus were signs related to the estrous phase (Figure 2). The presence of vulva tumefaction, reddish appearance, vaginal mucus, and vaginal opening were observed for 4 ± 1.8 ($X \pm SD$), 3.9 ± 1.4 , 2.5 ± 1.3 , and 2.1 ± 0.8 days, respectively. These estrous signs were respectively observable 2.8 ± 1.2 , 2.3 ± 0.9 , 1.05 ± 0.5 , and 1.3 ± 0.7 days before the serum estradiol peak. Superficial plus intermediate cells became predominant (presence overpassing 60% of the total cells) for a 4.4 ± 2.6 days period in vaginal smears, beginning this predominance 2.3 ± 1.5 days before the estradiol peak (Figure 3). The maximum density (45% of the total cells) of superficial cells was delayed 0.8 ± 0.5 days from the serum estradiol peak. After estrus, superficial and intermediate cells were notably reduced and the external genitalia showed a pale and non-tumefacted vulva and a vaginal closure. Figure 3 shows vaginal cell patterns during estrus (a) and 14 days after estrus (b).

Based on serum estradiol measurements, the positive predictive values of the examination of the vaginal cytology and external genitalia changes to detect estrus were 86.4% and 88.9%, respectively (Table 1).

Estradiol measurements showed 7 estruses which were not observed through examination of external genitalia features. Five estruses observed on the basis of external genitalia features were non-detected by serum estradiol. The examination of external genitalia features presented a sensitivity of 85.1% and a specificity of 88.4%. The overall accuracy of this methodology to predict the estradiol peak was 83.9%.

The serum estradiol measurements detected 9 estruses which were not observed through the study of vaginal cytology. Six estruses observed on the basis of vaginal cytology were non-detected by serum estradiol. The study of vaginal cell changes as a predictor of estradiol peak showed a sensitivity of 80.9% and a specificity of 86.7%. The overall accuracy was 83.7%.

Study 2

Mating was confirmed in 10 out of the 14 cycling females and occurred 3.1 ± 0.9 , 1 ± 0.2 , 2.8 ± 1.2 , and 1.3 ± 0.7 days after the first signal of presence of vulva tumefaction, vaginal mucus, reddish appearance, and vaginal opening, respectively, and 0.6 ± 0.5 days after the peak of superficial and intermediate vaginal cells. Thus, sexual receptivity was located on the last third of the period in which estrous signs were showed, and first mating was estimated to occur 1.3 ± 0.9 days following the estradiol peak.

The day of mating, the external genitalia presented a reddish but non-intense coloration, slight tumefaction and evident presence of fluid vaginal mucus. In two mated females it was observed the presence of a gelatinous plug occluding the external vaginal opening. Day of mating was characterized by the vaginal epithelial cells pattern of 7% basal cells, 29% parabasal cells, 30% intermediate cells and 34% superficial cells.

Four out of the 10 mated females became pregnant.

Discussion

The data here describe useful physiological events considered to be signs of estrus of the collared peccary female. Similarly to the swine (Gordon, 1997), the peccary female shows a clear pattern of change in the vaginal epithelium and external genitalia features, depending on the estrous cycle state. Periods of peak blood estrogen levels and changes in external genitalia features and vaginal cell pattern tracked the physiological approach of estrus. Examination of external genitalia features presented an overall accuracy of 83.9%, and vaginal cell changes were related to estrus with an overall accuracy of 83.7%.

Females in estrus were characterized by the presence of abundant eosinophilic cell content, especially superficial cells, whereas basal and parabasal cells were diminished. The vaginal epithelial cells pattern was characterized by

homogeneity in the percentages of parabasal, intermediate, and superficial cells were present at the day of mating. The presence of superficial cells at a proportion higher than 40% and the presence of eosinophilic cells (superficial plus intermediate cells) at a proportion higher than 60% in the vaginal films could be taken as an indicator of estrus. However, based on external genitalia features, the wide range of estrous length observed among individuals becomes this estrous indicator less precise. Estrous length has a great intraspecific variability due to estrus and ovulation can be modified by external and internal factors (Levasseur and Thibault, 1980; Wingfield et al., 1994). External genitalia signs of estrus should be helped by vaginal cytology in the confirmation of estrus.

In two mated females it was observed the presence of a gelatinous plug occluding the vaginal aperture. The low frequency of vaginal plug visualization could be explained because the collared peccary female quickly eliminates the plug (Sowls, 1984), and because, as reported in rats, deep vaginal copulatory plugs can not easily seen by vulvar inspection alone (Voipio and Nevalainen, 1998).

Our results reinforce previous findings (Gottdenker and Bodmer, 1998) in which poliestrous pattern was described.

Accurate monitoring of the estrus is critical for the success of timed mating or artificial insemination. Analyses of exfoliated vaginal epithelial cells are a simple technique that provides information about the sexual status of the females. The simplicity of this method could allow its application for reproductive management of the species in captivity among rural populations in Amazon region and Latin America. The present study constitutes the first trial in the collared peccary to correlate changes in vaginal epithelium and external genitalia features to serum estradiol levels, confirming the estrus prediction value through successful controlled mating. In conclusion and from a practical point of view, our findings suggest that the appearance of the external signs of estrus and vaginal cytology may be useful indicators of the

estrous phase and period of sexual receptivity in the collared peccary.

Acknowledgements

We thank the experimental farm of EMBRAPA-Pará for supplying the experimental animals. We would also like to thank the Department of Reproduçao Animal of the Universidade Federal do Pará (Brazil) for their help in data collection. We would also like to thank the European Union (Research for the Development, INCO-DEV; Fifth Framework Programme; contract n°: ICA4-CT-2001-10045) and Spanish Ministry of Science and Technology (MCYT; AGL2001-4961-E) for supporting the project.

References

- Denenberg, V.H., Hudgens, G.A. and Zarrow, M.X. (1964). Mice reared with rats: modification of behavior by early experience with another species. *Science*, 143:380-1.
- Gordon, I. (1997). Controlled reproduction in pigs. Wallingford: CAB International, p. 65-79.
- Gottdenker, N. and Bodmer, R.E. (1998). Reproduction and productivity of white-lipped and collared peccaries in the Peruvian Amazon. *J Zool Lond*, 245:423-30.
- Kirkpatrick, R.L. (1980). Physiological indices in wildlife management. In: Schemmitz SD, editor. *Wildlife management techniques manual*. Wildlife Society, Washington, p. 99-112.
- Levasseur, M.C. and Thibault, C. (1980). Reproductive life cycles. In: Hafez ESE, editor. *Reproduction in farm animals*. Lea & Febiger, Philadelphia, p. 134-47.
- Lochmiller, R.L., Hellgren, E.C. and Grant, W.E. (1984). Selected aspects of collared peccary (*Dicotyles tajacu*) reproductive biology. *Zoo Biol*, 3:145-9.
- Mauget, R., Feer, F., Henry, O. and Dubost, G. (1997). Hormonal and behavioural monitoring of ovarian cycles in peccaries. *Proceedings of the 1st International Symposium on Physiology and Ethology of Wild and Zoo Animals. Suppl. II*, p. 145-9.
- Mayor, P., Jori, F. and Lopez-Bejar, M. (2004). Anatomicohistological characteristics of the tubular genital organs of the female collared peccary (*Tayassu tajacu*) from North-eastern Amazon. *Anat Hist Embryol*, 33:65-74.
- Mayor, P., López-Béjar, M., Jori, F., Fenech, M. and López-Gatius, F. (2003). Reproductive functional anatomy and oestrous cycle pattern of the female brush-tailed porcupine (*Atherurus africanus*, Gray 1842) from Gabon. *Anim Reprod Sci*, 77:247-59.
- Redford, K.H. (1993). Hunting in neotropical forests: A subsidy from nature. In: Hladik CM, Hladik A, Linares OF, Pagezy H, Semple A, M. Hadley M, editors. *Tropical forests, people and food: Biocultural interactions and applications to development*. The Parthenon Pub Group, Paris, p. 227-46.
- Robinson, J.G. and Redford, K.H. (1991). *Neotropical wildlife use and conservation*. University of Chicago Press, Chicago.
- Sowls, L.K. (1997). *Javelines and other Peccaries: The biology, management and use*. College Station. Texas A. and M. University Press, Texas, p. 86-104.
- Sowls, L.K. (1984). *The Peccaries*. The University of Arizona Press, Tucson.
- Thrall, M.A. and Olson, P.N. (1999). The vagina. In: Cowell RL, Tyler RD, Meinkoth J.H, editors. *Diagnostic cytology and haematology of the dog and cat*. Mosby Publishers, London, p. 240-8.
- Voipio, H.-M. and Nevalainen, T. (1998). Improved method for vaginal plug detection in rats. *Scand J Lab Anim Sci*, 25:5-9.
- Wingfield, J.C., Whaling, C.S. and Marler, P. (1994). Communication in vertebrate aggression and reproduction: The role of hormones. In: Knobil E, Neil JD, editors. *The physiology of reproduction*, Vol 2. Raven Press, New York, p. 303-42.

Figure 1: Vaginal cytology in a collared peccary female, showing a sperm and superficial cells the day after mating. Papanicolaou stain (bar: 20 μ m).

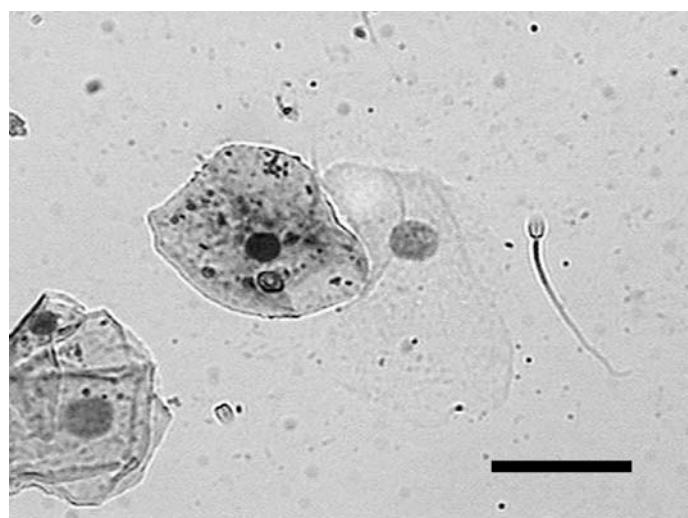


Figure 2: Changes in external genitalia in relation to the estradiol peak value in collared peccary females (47 estrous cycles). Values are adjusted to Day 0 corresponding to the serum estradiol peak level.



Figure 3: Mean changes in vaginal superficial cells (% S) during the estrous cycle of the collared peccary female (47 estrous cycles). Day 0 is normalized with respect to day of the estradiol peak.

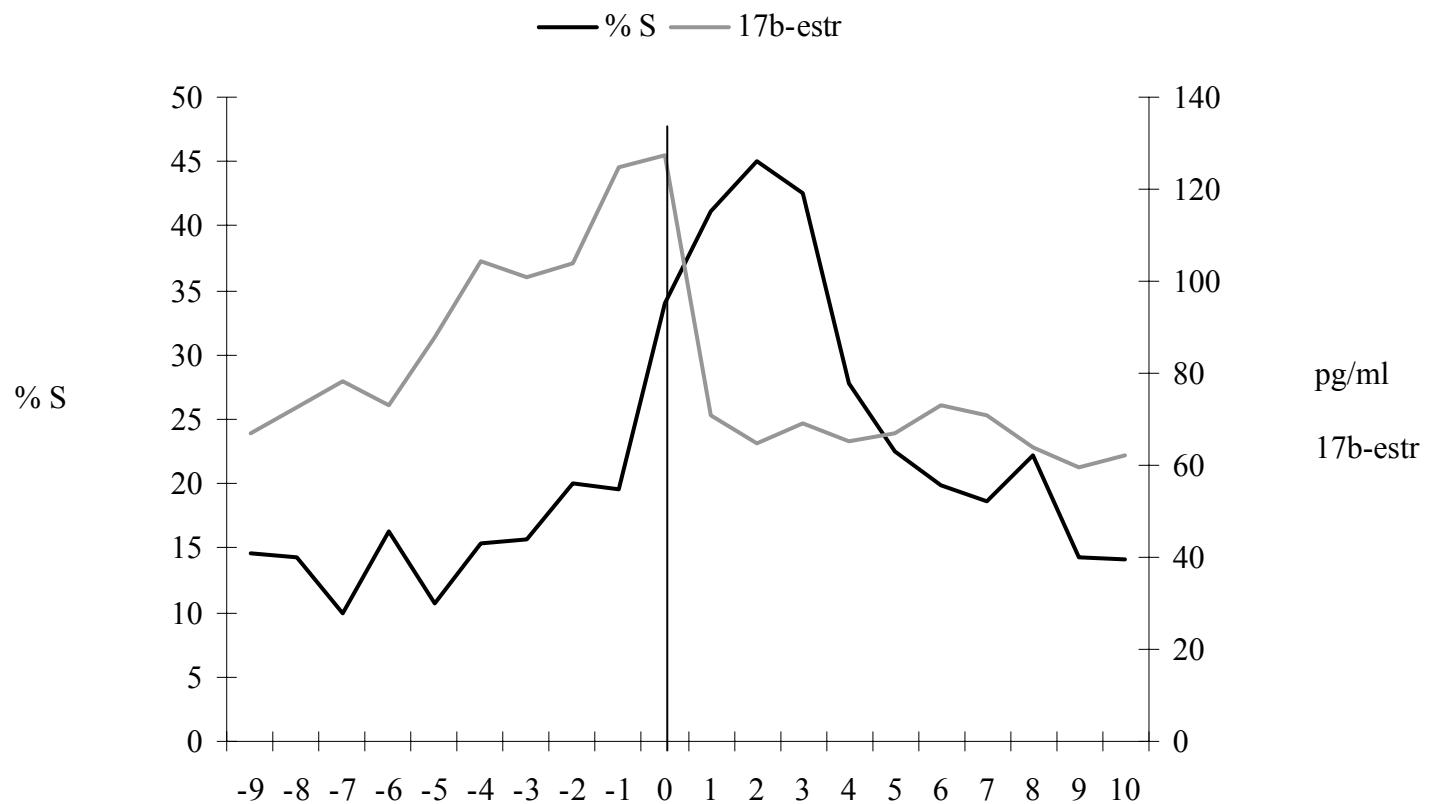
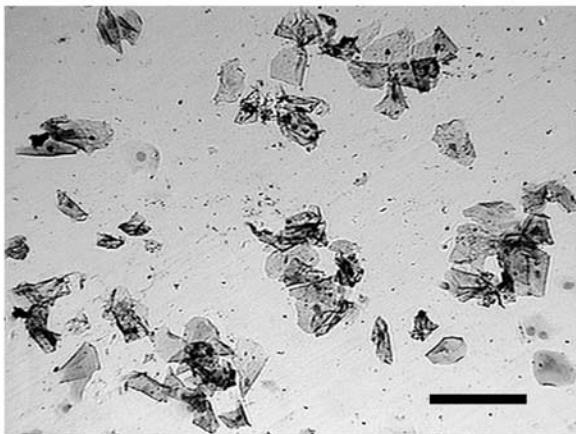
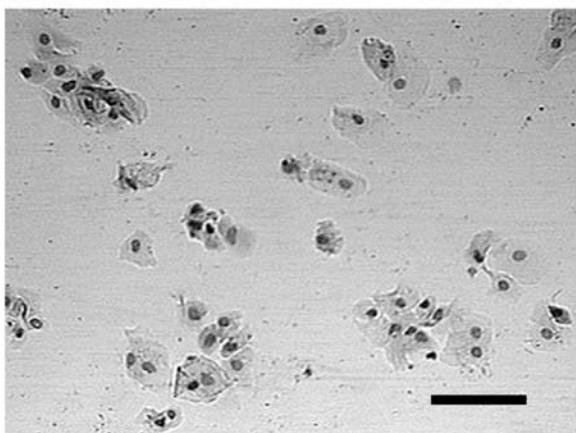


Figure 4: Vaginal cell pattern of a collared peccary female: a) during estrus, showing the predominance of superficial cells; and b) 14 after estrus, showing the predominance of parabasal cells. Papanicolaus stain (bar: 60 µm).



a



b

Table 1: Accuracy of vagina smears and external genitalia as methodology for estrous diagnosis in collared peccary (n=47). The estrus is confirmed with respect the presence of a serum estradiol peak.

| Evaluation | Vaginal cytology | Estrus predictor |
|---------------------------------|------------------|------------------|
| Estrous diagnosis correct | 38 | 40 |
| Estrous diagnosis incorrect | 6 | 5 |
| Non-estrous diagnosis correct | 39 | 38 |
| Non-estrous diagnosis incorrect | 9 | 7 |
| Sensitivity (%) | 80.9 | 85.1 |
| Specificity (%) | 86.7 | 88.4 |
| Positive predictive value (%) | 86.4 | 88.9 |
| Negative predictive value (%) | 81.3 | 84.4 |
| Overall accuracy (%) | 83.7 | 83.9 |

4. Integrating ultrasonography within the reproductive management of the collared peccary (*Tayassu tajacu*)

In preparation to be submitted

Mayor, P., Guimaraes, D.A. and López-Béjar, M. (2004). Pregnancy diagnosis in the collared peccary (*Tayassu tajacu*) by real-time ultrasonography. 15th International Congress on Animal Reproduction, Porto Seguro, Brazil. Accepted.

Mayor, P., Jori, F. and López-Béjar, M. (2004). Prediction of gestational age in the collared peccary by real-time ultrasonography. Wildlife as Natural Resource. 6th International Wildlife Ranching Symposium, Paris, France. Accepted.

Key words: collared peccary, *Tayassu tajacu*, ultrasonography, pregnancy diagnosis, gestational age

Abstract

Ultrasound imaging has been used to elucidate certain aspects of the reproductive biology of wild or endangered species. However, to our knowledge, this tool has never been used for reproductive monitoring of the collared peccary (*Tayassu tajacu*). In this study, real-time ultrasonography was used in sixteen captive collared peccary females to diagnose early pregnancy status and predict gestational age. Based on the detection of an embryo, the earliest pregnancy diagnosis was made on Day 18 after mating; the mean time needed for diagnosis being 22 days. On Day 26, the specificity of the pregnancy test was 100%, and on Day 28, its sensitivity was 100%. Overall accuracies on Days 22, 26 and 28 were 56%, 93%, and 100%, respectively. On Days 26 and 28, all pregnancy and non-pregnancy diagnoses, respectively, were correct. The fetal measurements that best correlated with gestational age were crown-rump-length (CRL) and the length and diameter of the thorax. CRL was considered the most practical measurement because, contrary to thoracic fetometry, it could be determined when the embryo was first detected. Our findings revealed real-time ultrasound scanning to be a very accurate method for early pregnancy diagnosis and prediction of gestational age in the collared peccary.

Introduction

The collared peccary, *Tayassu tajacu*, belongs to a family within the Suiformes, Tayassuidae. This pig-like artiodactyl is an important source of meat for local people across the Amazon (Robinson and Redford, 1991). Its distribution range spreads southwards from the Chihuahuan and Sonoran Deserts of southwestern Texas, New Mexico and Arizona, through Central America to northern Argentina. This species could stand as a candidate for captive breeding programs as a way of alleviating hunting pressures on this species and exploiting renewable natural resources for use in tropical forests where there is considerable demand for wildlife products.

The reproductive biology of the collared peccary has not yet been well defined (Gottdenker and Bodmer, 1998). Its most relevant features are: a gestation period ranging from 141 to 151 days (Sowls, 1997; Lochmiller et al., 1984); an ovulation rate of 2 to 2.1 ovulations (Hellgren et al., 1985; Gottdenker and Bodmer, 1998); and a mean litter size of 1.7 to 1.9 fetuses or new borns (Lochmiller et al., 1984; Gottdenker and Bodmer, 1998; Nogueira-Filho and Lavorenti, 1997). In a recent study, we further characterized the follicular and luteal phases of the estrous cycle by examining uterine and vaginal cytology (Mayor et al., 2004).

Improved knowledge of reproductive physiology has greatly enhanced the captive breeding success of some wild species, thus creating self-sustaining populations. Ultrasonography has already proved useful for assessing the reproductive status of both wild and endangered species (Griffin and Ginther, 1991; Kähn, 1984; Göritz et al., 1997; Gansloßer et al., 1995; Asher et al., 1997; Radcliffe et al., 2000). Its applications such as pregnancy diagnosis and predicting parturitions are valuable tools for the reproductive management of these species in captivity (Göritz et al., 1997; Radcliffe et al., 2000; Place et al., 2000).

As far as we are aware, ultrasonography has not yet been exploited for evaluating pregnancy in the collared peccary. The aim of this study was to integrate this procedure within the reproductive management of the collared peccary as a method of: 1) early pregnancy diagnosis, and 2) obtaining fetal measurements to predict gestational age.

Materials and methods

Twenty mature peccary females were kept in captivity on an experimental farm at EMBRAPA-UFGP, Belem do Para (Brazil) from June 2003 to January 2004. Paddock temperature ranged from 22° to 32° C and animals were maintained under natural lighting conditions. The females were fed commercial sow food with a calorific supply of 2500 kcal and protein level of 14%. Water was always available. Prior to data

collection, animals were subjected to a minimum 15-day adaptation period. All animals were in excellent health throughout the study (go to Annexes). Until diagnosed to be in estrus, they were kept away from males.

Each female was presented to a single male for a maximum period of 3 days, when the animal's external genitalia and vaginal smears showed estrous signs. Vaginal samples were collected daily during this period and mating was confirmed by the presence of spermatozoa in vaginal smears in 16 out of 20 females (80%). The day of mating was taken as Day 0 of a possible pregnancy. After mating or at the end of Day 3, females were again isolated from males.

Ultrasonography examinations

Pregnancy testing was conducted by serial transabdominal ultrasonography every 2 days starting on Day 12 post mating using a portable B-mode ultrasound scanner equipped with a 5.0 MHz linear-array transducer (Pie Medical, Maastricht, Holland). No sedated females on lateral recumbency were scanned at either the left or right abdominal wall. After Day 30 of pregnancy, ultrasounds were performed every 10 days in pregnant animals. The duration of the ultrasonography exams was of 2 to 5 minutes per female. All examinations were performed by the same operator.

The urogenital tract was scanned longitudinally from its caudal to cranial extreme ends. Measurements to a maximum of 30 mm were made using the ultrasound unit's inbuilt caliper system. The serial data recorded per embryo or fetus were: embryo vesicle diameter, embryo and fetal crown-rump-length (CRL), thoracic length (TL) and diameter (TD), skull length (SL) and biparietal diameter of the cranium (BPD).

A presumptive early pregnancy diagnosis was based on the detection of the embryo vesicle, as a discrete, non-echoic structure or line within the uterine lumen. A positive diagnosis was made on the basis of the detection of an embryo proper. Confirmation of pregnancy diagnosis was based on recorded farrowings or abortions. The number of viable fetuses was determined through fetal

cardiac activity. Pregnancy diagnosis was negative when uterine contents were not detected on Day 28 after mating. Confirmation of non-pregnancy was based on a negative diagnosis between Days 40 and 50, and non-abortion or parturition confirmed in a subsequent revision.

On the basis of the final farrowing data, the pregnancy diagnosis results were grouped as follows: correct positive diagnosis (a), incorrect positive diagnosis (b), correct negative diagnosis (c), and incorrect negative diagnosis (d). From these values, the sensitivity ($100*a/a+d$), specificity ($100*c/c+b$), positive predictive value ($100*a/a+b$) and negative predictive value ($100*c/c+d$) of ultrasound pregnancy diagnosis were calculated as described by Szenci et al. (14). Overall accuracy was defined as ' $a+c/total$ '.

Statistical analysis

Regression models were derived to estimate the gestational age of the fetus from the biometric measurements. Statistical analysis was conducted as described by Radcliffe et al. (2000). The relationships between estimated gestational age (EGA) and each of the ultrasonographic measurements (CRL, TL, TD, SL and BPD) were plotted as linear regressions and expressed as straight-line equations using the GraphPad Prism program (GraphPad Software, San Diego, CA, USA). The plot of residuals against observed gestational age was U-shaped violating the regression assumption of linearity, thus indicating that a curvilinear relationship should be considered. This was done by adding a single binomial term, which also increased the estimated precision.

Values are provided as the mean \pm standard deviation (S.D.)

Results

Ultrasonography examinations

On Day 12 post mating, the embryo vesicle could be observed as a non-echoic accumulation of fluid in the lumen of the uterine horn (Fig. 1). The average diameter of the embryo vesicle at this stage was 5.4 mm. As pregnancy continued, the embryo vesicle grew in diameter and could

be observed more clearly, appearing as an elongated shape in a longitudinal view of the uterine horns and spherical shape in a transversal view of the uterine horns. On Day 18, the average diameter of the embryo vesicle was 10.7 mm (Fig. 2). Between Days 20 and 30, the anechoic vesicle had reached a diameter of 39.0 to 48.0 mm (Fig. 3). In four non-pregnant females, similar non-echoic areas were detected in the lumen of the uterine horn up until Day 24 post mating.

The embryo proper could first be identified within the embryonic vesicle on Day 22.4 ± 2.1 (from 18 to 25 days of pregnancy). Between Days 18 and 25, the embryo could be observed as an echoic point fixed to the embryo vesicle (Fig. 2), separated from the uterine cavity by the amniotic membrane, which appeared as a very narrow, hypo-echoic line. On Day 20, the crown-rump length (CRL) and trunk diameter of the embryos measured approximately 5.5 mm and 2.2 mm, respectively. Table 1 shows the serial measurements of embryo and fetal crown-rump length (CRL), thoracic length (TL) and diameter (TD), skull length (SL) and biparietal diameter (BPD) during pregnancy.

From Days 20 to 30, the full diameter of the conceptus (embryo and membranes) could be seen, through the fetal fluid, to rapidly increase. At this stage, the allantochorion expanded to occupy the whole volume of the uterine horn; we could see an obvious separation between the amniotic fluid surrounding the fetus, and the larger volume of the outer allantoic fluid. Allantoic fluid volume in the uterus rapidly expanded from gestation Day 30 until Days 70-75, when the growth of fetal membranes was maximal. On Day 30, the CRL and trunk diameter of the embryos averaged 14.3 mm and 2.37 mm, respectively (Fig. 3). At this stage, folds protruded into the lumen, giving the appearance of chambers or compartments in the uterus.

Between Days 35 and 40, the contours of the embryo became evident and several fetal structures could be identified: head, neck, abdomen and limbs (Fig. 4). From Days 42 to 49,

the first signs of fetal ossification appeared (Fig. 5). The spinal cord and the fore- and hindlimb buds also became visible; echoic reflections of cross-sections of ribs could also discerned. At this stage of pregnancy, the CRL of the embryos was approximately 6.79 cm.

Up until Day 30 of pregnancy, the linear-array transducer was placed at the inguinal region between the two caudal mammary glands. From Day 55 onwards, the fetus took up a ventral position in the abdominal cavity.

A fetal heartbeat was detected on Days 45 to 50 of pregnancy and the heart was visible as an echoic body inside the pericardial cavity. At this stage, lungs were identified as non-echogenic bodies with echoic artifacts, probably due to the pulmonary stroma. Around Day 60, abdominal organs (stomach, liver and intestines) could also be identified.

The linear regressions of gestational age effects on CRL, TD, TL, SL and BPD were highly significant ($P<0.0001$). The simple binomial equation for estimating gestational age by CRL ($n=78$) had the highest coefficient of determination with an $R^2 = 0.9923$ ($F=8271.3$). This gave rise to a final pooled model:

$$\text{Estimated Gestational Age (days)} = -4.953 + (0.2583 * \text{CRL}) + (0.000278 * \text{CRL}^2).$$

Simple regressions derived from the measurements TL ($n=54$) and TD ($n=54$) showed $R^2 = 0.9804$ ($F=2404.2$) and 0.9441 ($F=847.5$), respectively. The equations derived from TL and TD were:

$$\text{EGA} = -2.926 + (0.119 * \text{TL}) + (0.000134 * \text{TL}^2), \text{ and}$$

$$\text{EGA} = -0.365 + (0.05 * \text{TD}) + (8.012e-005 * \text{TD}^2).$$

In contrast, the coefficients of determination based on BDP ($n=49$) and SL ($n=49$) were lower (0.827 and 0.762, respectively).

Out of the 16 experimental females in which mating was confirmed, 10 females became pregnant and all of them delivered at term. Six

mated females (37.5%) were registered as non-pregnant. The mean duration of gestation was 138.3 ± 5.3 days, ranging from 127-147 (n=10). Average litter size was 1.89 ± 0.41 , ranging from 1-2 (n=10) with a sex ratio of 46% males to 54% females. Average determinations made in the newborns (n=19) were: CRL 25.1 ± 1.8 cm, thoracic diameter 20.7 ± 1.0 cm, thoracic length 9.9 ± 1.1 cm, abdominal perimeter 17.3 ± 0.5 cm and weight 820 ± 93 g.

Accuracy of ultrasonographic imaging for pregnancy diagnosis

Table 2 shows the results of pregnancy diagnoses made at various time intervals after mating. The earliest pregnancy diagnosis was made on post mating Day 18. After pregnancy Day 24, accuracy was 100% for pregnant females and 75% for non-pregnant females. By Day 26, all the positive pregnancy diagnoses were correct. By Day 28, all the non-pregnancy diagnoses were correct. The sensitivity of this method of pregnancy diagnosis was 20% on Day 20, increasing to 100% on Day 28. Specificity was 50% on Day 20 and increased to 100% on Day 24.

Discussion

Our findings confirm the practical efficiency of ultrasonography as a management tool for captive peccaries in terms of early pregnancy diagnosis and the prediction of gestational age through serial embryo and fetal morphometric measurements. If the date of mating is unknown, establishing the gestational age of the conceptus is essential for the correct management of pregnant females.

Presumptive early pregnancy diagnosis is based on the detection of a discrete, non-echoic structure or line within the uterine lumen (Kastelic et al., 1991, Williams et al., 2001). In the peccary, the first signs of fluid accumulation were observed between Days 12 and 14 of pregnancy. However, as for other species (Griffin and Ginther, 1991 and 1992), presumptive early diagnosis (prior to the detection of an embryo proper) showed a low sensitivity in this species, and must be subsequently confirmed by the

progressive elongation of the non-echoic area and eventual detection of the conceptus. The effectiveness of presumptive pregnancy diagnosis may be limited by the presence of small amounts intrauterine fluid in non-pregnant females. As described for cattle (Kastelic et al., 1991), this fluid is indistinguishable from the embryo vesicle.

Based on the detection of an embryo, the earliest pregnancy diagnosis was made on pregnancy Day 18 and the mean time for diagnosis was 22 days into pregnancy. The specificity and sensitivity of the pregnancy exam were 100% on Days 26 and 28, respectively. Overall accuracies on Days 22, 26 and 28 were 56%, 93%, and 100%, respectively. On Days 26 and 28, all pregnancy and non-pregnancy diagnoses, respectively, were correct. Similar or slightly higher accuracies for pregnancy diagnosis in pigs have been achieved by real-time ultrasonography (Taverne et al., 1985; Martinat-Botte et al., 1985; Inaba et al., 1986; Botero et al., 1986; Clark and Knox, 2000; Rensis et al., 2000). The conceptus could be visualized on Day 17 of pregnancy in swine (Taverne et al., 1985; Inaba et al., 1983), and high sensitivity and specificity values were recorded on pregnancy Day 21±3 in sows (Inaba et al., 1983; Almond and Dial, 1987; Kauffold et al., 1997; Waberski and Wietze, 1998; Gordon, 1997; Clark and Knox, 2000).

The use of transabdominal ultrasonography before Day 20 of pregnancy is not an effective management strategy because of the high incidence of false negatives/positives. It is therefore important that the practitioner confirms a positive diagnosis with a repeat examination a few days later, particularly if the first scan was performed before Day 20 of pregnancy. This has also been described for the pig (Rensis et al., 2000). For the collared peccary, ultrasound pregnancy diagnosis was highly accurate from Day 26 of pregnancy onwards.

From Day 50, it was much easier to observe a pregnancy through ultrasound because of the constant fluid accumulation which displaces the uterus towards the abdominal wall, reducing the distance between the fetus and the probe. In the

present study, the morphometric features of the peccary embryos and fetuses could be defined throughout pregnancy using this non-invasive procedure. Peccary and pig females show very similar structures at the early stages of embryo and fetal development. Between Days 35 and 40, the contours of the embryos become evident and it is possible to identify several structures: head, neck, abdomen and limbs. From Days 40 to 45, the first signs of fetal ossification can be observed. In pigs, fetal ossification takes place on Day 35 of pregnancy (Kähn, 1994). The fetal heartbeat in the peccary could be observed on Days 45 to 50 of pregnancy, around the time reported for the pig (Days 42-49 of pregnancy; Kähn, 1994, Lindahl et al., 1975). Around Day 60, the abdominal organs were identified. Maximum fetal growth was observed in the third month (between Days 60 and 90) and last month of gestation (Day 110 onwards). These events show a similar time course in the pig, with descriptions of a rapid increase in the surface area of the placenta between Days 35 and 70 (Knight et al., 1977; Biensen et al., 1998). From Days 70 to 105 placental growth in the pig slows down, and from Day 105 onwards another placental growth spurt occurs (Knight et al., 1977).

The fetal measurements showing best correlation with gestational age were CRL, TD and TL. Thoracic measurements were however difficult to obtain before Day 40, whereas CRL could be easily determined from first visualization of the embryo or fetus.

The mean gestation period was 138 days, confirming the day of effective mating. This length of pregnancy is similar to that estimated by Gottdenker and Bodmer (1998) for peccaries in the Peruvian Amazon and lower than that reported in studies conducted in semiarid regions of Texas (Sowls, 1997; Lochmiller et al., 1984; Hellgren et al., 1985). Our prolificacy rate at term of 1.9 newborns per parturition is also similar to previously reported rates (Sowls, 1997; Gottdenker and Bodmer, 1998; Nogueira-Filho and Lavorenti, 1997).

In summary, transabdominal ultrasonography is an efficient tool for the reproductive management of the female collared peccary. This non-invasive procedure was able to accurately diagnosis pregnancy as early as 28 days after mating. Gestational age could be determined through measurement of the crown-rump-length of the embryo or fetus from Day in which embryo was first detected until parturition.

Acknowledgements

We thank the experimental farm of EMBRAPA-Pará for supplying the experimental animals. We would also like to thank the Department of Reproduçao Animal of the Universidade Federal do Pará (Brazil) for their help in data collection. We would also like to thank the European Union (Research for the Development, INCO-DEV; Fifth Framework Programme; contract n°: ICA4-CT-2001-10045) and Spanish Ministry of Science and Technology (MCYT; AGL2001-4961-E) for supporting the project.

References

- Almond, G.W. and Dial, G.D. (1987). Pregnancy diagnosis in swine: Principles, applications, and accuracy of available techniques. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 191:858-870.
- Asher, G.W., Scott, I.C., O'Niell, K.T., Smith, J.F., Inskeep, E.K. and Townsend, E.C. (1997). Ultrasonographic monitoring of antral follicle development in red deer (*Cervus elaphus*). *Journal of Reproduction and Fertility*, 111: 91-99.
- Biensen, N.J., Wilson, M.E. and Ford, S.P. (1998). The impact of either a Meishan or Yorkshire uterus on Meishan or Yorkshire fetal and placental development to Days 70, 90, and 110 of gestation. *J. Anim. Sci.*, 76:2169-2176.
- Botero, O., Martinat-Botté, F. and Bariteau, F. (1986). Use of ultrasound scanning in swine for detection of pregnancy and some pathological conditions. *Theriogenology*, 26 (3): 267-278.
- Clark, S.G. and Knox, R.V. (2000). Utilizing real-time ultrasound to optimize swine reproduction. *Embr. Transfer Newsletter*, 18:16-22.

- Gansloßer, U., Hodges, J.K. and Kaumanns, W. (1995). Research and Captive Propagation. (eds). Finlander-Verlag, Fürth, p. 51-58.
- Gordon, I. (1997). Controlled Reproduction in Pigs. CAB International Eds. Wallingford, UK, p. 65-79.
- Göritz, F., Hildebrandt, T., Jewgenow, K., Wagner, N., Hermes, R., Strauß, G. and Meyer, H.H.D. (1997). Transrectal ultrasonographic examination of the female urogenital tract in nonpregnant and pregnant captive bears (Ursidae). *Journal of Reproduction and Fertility Suppl.*, 51: 303-312.
- Gottdenker, N. and Bodmer, R.E. (1998). Reproduction and productivity of white-lipped and collared peccaries in the Peruvian Amazon. *J. Zool. Lond.*, 245, 423-430.
- Griffin, P.G. and Ginther, O.J. (1992). Research applications of ultrasonic imaging in reproductive biology. *J. Anim. Sci.*, 70:953-972.
- Griffin, P.G. and Ginther, O.J. (1991). Dynamics of uterine diameter and endometrial morphology during the estrous cycle and early pregnancy in mares. *Anim. Reprod. Sci.*, 25:133-142.
- Hellgren, E.C., Lochmiller, R.L., Amoss, M.S. and Grant, W.E. (1985). Serum progesterone, estradiol- 17β , and glucocorticoids in the collared peccary during gestation and lactation as influenced by dietary protein and energy. *General and Comparative Endocrinology*, 59, 358-368.
- Inaba, T., Nakazima, Y., Matsui, N. and Imori, T. (1983). Early pregnancy diagnosis in sows by ultrasonic linear electronica scanning. *Theriogenology*, 20: 97-101.
- Kähn, W. (1994). Veterinary Reproductive ultrasonography. Mosby-Wolfe, London, p. 213-226.
- Kastelic, J.P., Bergfelt, D.R. and Ginther, O.J. (1991). Ultrasonic detection of the conceptus and characterization of intrauterine fluid on Days 10 to 22 in heifers. 17 *Theriogenology*, 35:569-581. 18.
- Kauffold, J., Ritcher, A. and Sobiraj, A. (1997). Results and experiences of a two-year investigation in the use of sonographic pregnancy control in sows at different stages of gestation. *Tierartl. Prax. Ausg. G. Grosstiere Nutztiere*, 25:429-437.
- Knight, J.W., Bazer, F.W., Thatcher, W.W., Franke, D.E. and Wallace, H.D. (1977). Conceptus development in intact and unilaterally hysterectomized-ovariectomized gilts: Interrelations among hormonal status, placental development, fetal fluids and fetal growth. *J. Anim. Sci.*, 44:620-637.
- Lindahl, I.L., Totsch, J.P., Martin, P.A. and Dziuk, P.J. (1975). Early diagnosis of pregnancy in sows by ultrasonic-depth analysis. *Journal of Animal Science*, 40, 220-222.
- Lochmiller, R.L., Hellgren, E.C. and Grant, W.E. (1984). Selected aspects of collared peccary (*Dicotyles tajacu*) reproductive biology. *Zoo Biol.*, 3, 145-149.
- Martinat-Botte, F., Bariteau, F., Badouard, B. and Terqui, M. (1985). Control pig reproduction in a breeding programme. *Journal of Reproduction and Fertility Suppl.*, 33, 211-228.
- Mayor, P., Jori, F. and Lopez-Bejar, M. (2004). Anatomicohistological characteristics of the tubular genital organs of the female collared peccary (*Tayassu tajacu*) from North-eastern Amazon. *Anat. Hist. Embryol.*, 33;65-74.
- Nogueira-Filho, S.L. and Lavorenti, A. (1997). O Manejo do caititu (*Tayassu Tajacu*) e do queixada (*Tayassu Pecari*) em cativeiro. En: Manejo e Conservação de Vida Silvestre no Brasil. 1 ed. Belém/PA-Brasília/DF: Mamirauá-CNPq, p. 285.
- Place, N.J., Weldele, M.L. and Wahaj, S.A. (2000). Ultrasonic measurements of second and third trimester fetuses to predict gestational age and date of parturition in captive and wild spotted hyenas *Crocuta crocuta*. *Theriogenology*, 58: 1047-1055.
- Radcliffe, R.W., Eyres, A.I., Patton, M.L., Czekala, N.M. and Emslie, R.H. (2000). Ultrasonographic characterization of ovarian events and fetal gestational parameters in two southern black rhinoceros (*Diceros bicornis minor*) and correlation to fecal progesterone. *Theriogenology*, 55: 1033-1049.
- Rensis, F., Bigliardi, E., Parmigiani, E. and Peters, A.R. (2000). Early diagnosis of pregnancy in sows by ultrasound evaluation of embryo development and uterine echotexture. *Veterinary Record*, 147, 267-270.

- Robinson, J.G. and Redford, K.H. (eds) (1991). Neotropical Wildlife Use and Conservation. University of Chicago Press, Chicago.
- Sowls, L.K. (1997). Javelines and other Peccaries: The biology, management and use. College Station. Texas A. and M. University Press, Texas, p. 86-104.
- Szenci, O., Fekete, C.S. and Merics, I. (1992). Evaluation of ultrasonography and the determination of conjugated oestrogen in faeces for the diagnosis of pregnancy in pigs. *Canadian Veterinarian Journal*, 33, 340.
- Taverne, M.A.M., Oving, L., van Lieshout, and Willemse, A.H. (1985). Pregnancy diagnosis in pig: a field study comparing linear-array real-time ultrasound scanning and amplitude depth analysis. *Vet Quarterly*, 7:271-276.
- Waberski, D. and Wietze, K.F. (1998). Sonographic diagnosis of reproductive failures in the pig - New aspects. *Prakt Tierarzt*, p. 41-44.
- Williams, S., Piñeyro, P. and Sota, R.L. (2001). Ultrasonografia reproductiva en producción porcina. *Anales Veterinaria*, 21 (1): 50-56.
- Wooward, T.O., Armastrong, J.D., Almond, G.W. and McCaw, M.E. (1985). Use of real-time ultrasound for pregnancy diagnosis in sows and gilts. *Journal of Animal Science*, 73 (Suppl.1), 251-260.

Legends to figures

Figure 1: Ultrasonographical view of the uterine horn of a pregnant peccary female. On Day 12, we can observe an anechoic fluid accumulation (arrowhead) into the lumen of the uterine horn (bar: 3 cm).

Figure 2: Ultrasonographical view of the uterine horn of a pregnant peccary female. On Day 18, we can first observe the embryo (arrowhead) as an echogenic structure into the anechogenic vesicle and separated from the uterine cavity through the placental membranes observed as a very narrow, hypoechoic line (bar: 3 cm).

Figure 3: Ultrasonographical view of the uterine horn of a pregnant peccary female on Day 30 of pregnancy. See the image of chambers or compartments in the uterine horns due to placental folds protruding into the uterine lumen (bar: 3 cm).

Figure 4: Ultrasonographical view of the uterine horn of a pregnant peccary female on Day 42. We can identify general fetal structures: head, neck, abdomen and limb buds (bar: 3 cm).

Figure 5: Ultrasonographical view of the uterine horn of a pregnant peccary female on Day 47. First signals of fetal ossification can be observed (bar: 3 cm).

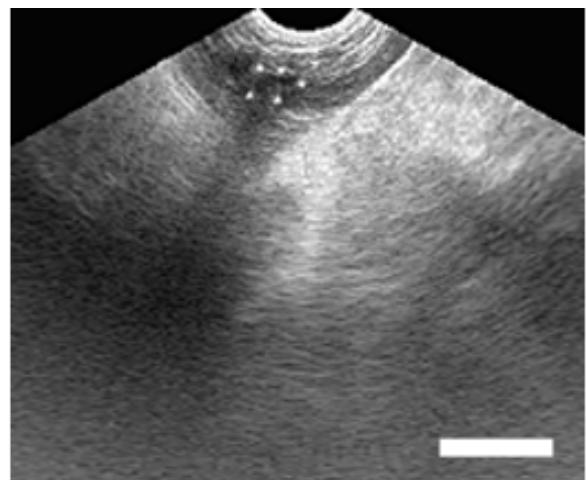
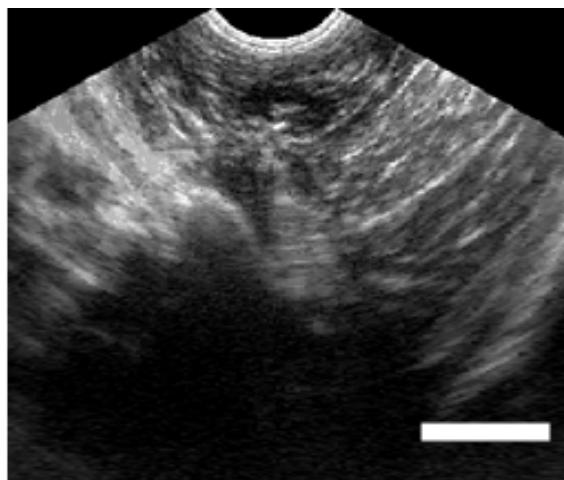
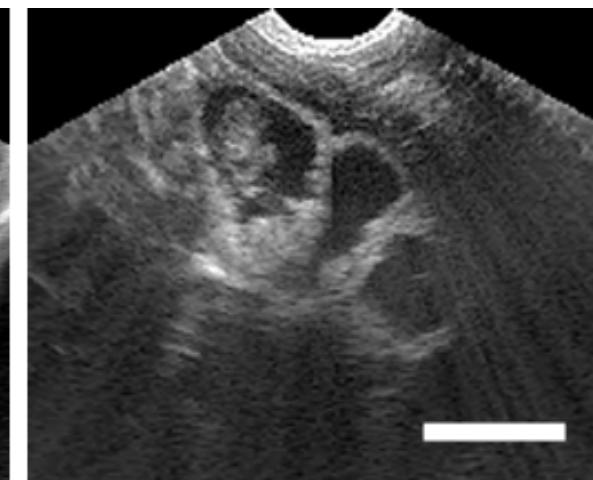
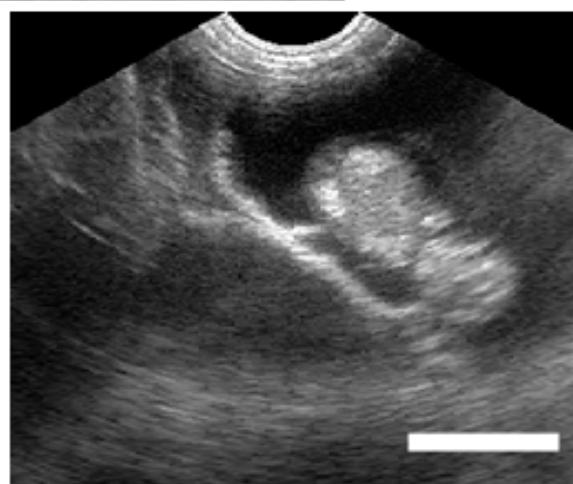
**1****2****3****4****5**

Table 1: Values (in cm) of embryo and fetal crown-rump-length, thoracic length and diameter, and skull length and biparietal diameter of the peccary female during pregnancy (n=10).

| Days of pregnancy | 20 | 25 | 30 | 35 | 40 | 50 | 60 | 70 | 80 | 90 | 100 | 110 | 120 | 130 | |
|---------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| CRL | 0.55 ± 0.19 | 1.28 ± 0.24 | 2.32 ± 0.28 | 3.25 ± 0.32 | 4.68 ± 0.54 | 6.79 ± 0.24 | 9.46 ± 0.68 | 11.90 ± 0.78 | 14.69 ± 0.86 | 16.79 ± 0.45 | 17.85 ± 0.34 | 19.05 ± 0.56 | 22.00 ± 0.80 | 24.43 ± 0.85 | |
| Torax | Length | | | | | 1.64 ± 0.21 | 2.51 ± 0.14 | 2.84 ± 0.36 | 3.55 ± 0.31 | 3.89 ± 0.27 | 5.46 ± 0.11 | 6.08 ± 0.09 | 6.20 ± 0.28 | 6.60 ± 0.35 | 7.47 ± 0.35 |
| | Diameter | | | | | 2.15 ± 0.21 | 2.40 ± 0.40 | 3.87 ± 0.22 | 4.74 ± 0.15 | 5.17 ± 0.26 | 7.00 ± 0.46 | 7.90 ± 0.39 | 8.43 ± 0.36 | 9.32 ± 0.46 | 10.43 ± 0.21 |
| Skull diameter. | | | | | | 1.54 ± 0.46 | 2.10 ± 0.21 | 2.65 ± 0.47 | 3.26 ± 0.07 | 3.57 ± 0.13 | 3.85 ± 0.25 | 3.93 ± 0.24 | 3.99 ± 0.19 | 4.22 ± 0.07 | 4.26 ± 0.17 |
| Biparietal diameter | | | | | | 1.24 ± 0.34 | 1.75 ± 0.26 | 2.10 ± 0.29 | 2.77 ± 0.05 | 2.92 ± 0.23 | 3.33 ± 0.28 | 3.32 ± 0.26 | 3.34 ± 0.20 | 3.37 ± 0.09 | 3.51 ± 0.11 |

Table 2: Early pregnancy diagnosis on Days 20 to 28 after mating in 16 peccary females according to transabdominal real-time ultrasonography.

| Evaluation | Days of pregnancy | | | | |
|----------------------------------|-------------------|-------|------|-------|-----|
| | 20 | 22 | 24 | 26 | 28 |
| Diagnosis pregnant correct | 2 | 5 | 8 | 9 | 10 |
| Diagnosis pregnant incorrect | 3 | 2 | 0 | 0 | 0 |
| Diagnosis non-pregnant correct | 3 | 4 | 6 | 6 | 6 |
| Diagnosis non-pregnant incorrect | 8 | 5 | 2 | 1 | 0 |
| Sensitivity (%) | 20 | 50 | 80 | 90 | 100 |
| Specificity (%) | 50 | 66.7 | 100 | 100 | 100 |
| Positive predictive value (%) | 40 | 71.4 | 100 | 100 | 100 |
| Negative predictive value (%) | 27.3 | 44.4 | 75 | 85.7 | 100 |
| Overall accuracy (%) | 30.25 | 56.25 | 87.5 | 93.75 | 100 |

5. Perfiles hormonales de progesterona y 17 β -estradiol durante la gestación del pécari de collar (*Tayassu tajacu*) en el este Amazónico

*Hormonal profiles of progesterone and oestradiol-17 β during pregnancy
in the collared peccary (*Tayassu tajacu*) from Eastern Amazon*

Palabras clave: gestación, progesterona, 17 β -estradiol, pécari de collar, *Tayassu tajacu*
Key Words: pregnancy, progesterone, oestradiol-17 β , collared peccary, *Tayassu tajacu*

Summary

In this study, 10 pregnant collared peccary females from Eastern Amazon region, were monitored through the analysis of hormonal profiles (progesterone and oestradiol- 17β), vaginal cytology and signs of external genitalia. Serum levels of progesterone increased by Day 4 after conception, reaching levels of 33.4 ± 5.6 ng/ml on Day 10. Serum levels of progesterone between Days 10 and 130 were maintained at values between 20 and 60 ng/ml. The high progesterone levels during pregnancy suggest that pregnancy viability in the collared peccary is supported by ovarian activity. Between 3 and 6 days before parturition we could observe a decrease of progesterone levels. During the two first weeks of pregnancy, serum oestradiol- 17β levels were no detectable. From Day 15 onwards, it took place an increase of oestradiol levels. Between Days 20 and 115 of pregnancy, oestradiol- 17β levels presented values between 20 and 70 pg/ml. From Day 120 onwards, oestradiol levels regularly increased, reaching maximum levels (131.4 ± 40.8 pg/ml) on day of parturition. It was observed a pattern of change of the cells of vaginal epithelium between 25 and 115 days of pregnancy. The external genitalia features showed no pattern of change along pregnancy of collared peccary. The high levels of serum oestradiol- 17β during pregnancy, suggest the ability of measuring serum oestradiol- 17β levels, in addition to progesterone levels, as a potential pregnancy diagnosis.

Resumen

En este estudio se ha realizado el seguimiento de 10 gestaciones en hembras de pécari de collar del este amazónico, mediante el análisis de los perfiles hormonales de progesterona y 17β -estradiol, citología vaginal y cambios morfológicos en los genitales externos. En la hembra de pécari de collar gestante, las concentraciones de progesterona sérica se incrementaron a partir del día 4 tras la fecundación hasta concentraciones de 33.4 ± 5.6 ng/ml en el día 10. Las concentraciones de progesterona se mantuvieron entre los días 10 y 130 de gestación en valores comprendidos entre

los 20 y 60 ng/ml. Las concentraciones elevadas de progesterona sugieren que la viabilidad de la gestación del pécari de collar está sustentada por la actividad ovárica. Entre los 3 y 6 días antes del parto se produjo una caída de las concentraciones de progesterona. El 17β -estradiol se mantuvo a niveles no detectables durante las dos primeras semanas de gestación (inferiores a 20 pg/ml). A partir del 15º día de gestación se produjo un incremento considerable de los niveles de 17β -estradiol. Entre los días 20 y 115 se observaron niveles medios de 17β -estradiol comprendidos entre 20 y 70 pg/ml. A partir del día 120 de gestación los niveles de 17β -estradiol se incrementaron de forma regular hasta llegar a niveles máximos (131.4 ± 40.8 pg/ml) el día del parto. Entre los días 25 y 115 de gestación la hembra gestante de pécari de collar presentó un patrón de cambio del epitelio vaginal. No se observaron cambios en los signos externos de los genitales a lo largo de la gestación. Las elevadas concentraciones séricas de 17β -estradiol, junto con niveles elevados de progesterona, durante la gestación sugieren la aplicabilidad de los niveles séricos de 17β -estradiol como metodología diagnóstica de gestación.

Introducción

Debido al impacto potencial de la caza de subsistencia y comercial que existe en los bosques tropicales, muchas especies están entrando en situación de extinción, bien local o generalizada debido a su sobrecaza (Emmons, 1990; Robinson and Redford, 1991). Por otro lado, el incremento de las densidades de población humana y la destrucción de los hábitats naturales han exacerbado esta circunstancia (Redford, 1993).

El pécari de collar, *Tayassu tajacu*, es un pequeño artiodáctilo perteneciente a la familia de los Suiformes que representa una importante fuente de alimento para los pobladores locales de la Amazonía (Robinson and Redford, 1991). Los programas de cría en cautividad pueden ser considerados como sistemas eficaces de explotación renovable de los recursos de los bosques húmedos tropicales donde existe una fuerte demanda de productos naturales. Debido a

la importancia del pécari de collar en estas localizaciones, esta especie podría incluirse en programas de manejo de cría de animales silvestres, con la finalidad de abastecer la demanda local que existe en América Latina.

Según estudios llevados a cabo en Texas con animales mantenidos en cautividad, la longitud de la gestación del pécari de collar varía entre 141 y 151 días (Lochmiller et al., 1984; Sowls; 1997). Este artiodáctilo presenta una tasa de ovulación de 2 a 2.1, en base al recuento de cuerpos lúteos (Hellgren et al., 1995; Gottdenker and Bormer, 1998) y un tamaño de camada pequeño entre 1.7 y 1.9 fetos o neonatos (Nogueira-Filho and Lavorenti, 1997; Sowls, 1997; Gottdenker and Bodmer, 1998).

Las concentraciones séricas de progesterona pueden utilizarse en el cerdo doméstico para el diagnóstico de gestación (Moriyoshi et al., 1997), ya que el mantenimiento de la gestación es totalmente dependiente de la funcionalidad del cuerpo lúteo de gestación, el cual se constituye como la fuente principal de progesterona. Igualmente, las concentraciones séricas de estrógenos pueden utilizarse en cerdo doméstico para el diagnóstico de gestación (Vos et al., 1999), ya que la hembra gestante presenta un marcado incremento de los niveles de estrógenos entre los días 16 y 30 de gestación, mientras que en hembras inseminadas no gestantes esta hormona es prácticamente residual. El patrón hormonal de progesterona y estradiol séricos durante la gestación ha sido estudiado en pécari de collar con anterioridad (Hellgren et al., 1995). El análisis de los perfiles hormonales de progesterona y estradiol durante la gestación podría ser útil como método diagnóstico de la misma y efectiva para el control reproductivo tanto de animales salvajes como mantenidos en cautividad. El objetivo de este estudio consiste en el análisis del perfil hormonal de la hembra gestante de pécari de collar para determinar el patrón hormonal de progesterona y estradiol de la especie durante la gestación. Adicionalmente se ha estudiado la existencia de un patrón de citología vaginal durante el transcurso de la gestación.

Material y métodos

Animales

Diez hembras de pécari de collar fueron mantenidas en cautividad entre Junio de 2003 y Enero de 2004 en la granja experimental de EMBRAPA-UFPa en Belém (Estado de Pará, Brasil). Todas las hembras fueron mantenidas bajo condiciones de luz natural. La región climática era ecuatorial con un promedio de temperaturas entre 20 y 30 °C y un porcentaje de humedad de 78%. Las precipitaciones anuales variaron entre los 1500 mm y los 1900 mm.

La dieta básica proporcionada consistía en ración comercial para cerdo doméstico con un aporte calórico de 2500 kcal por animal y 14% de proteína, y agua *ad libitum*. Previo al inicio de la experimental, los animales fueron sujetos a un periodo de adaptación mínimo de 15 días. En todo momento se aseguró la excelente condición de salud de los animales (ver Anexos).

Diseño experimental

En un principio se realizó el seguimiento del ciclo estral de las hembras de pécari de collar mediante el control de las modificaciones morfológicas de los genitales externos y la citología vaginal (Mayor et al., 2004). Las hembras diagnosticadas en fase estral fueron trasladadas a la instalación de un macho de pécari de collar, de comprobada fertilidad, con la finalidad de procurar cópula. El día 0 fue definido como el día de cópula y la cópula fue confirmada mediante la detección de células espermáticas en la citología vaginal. Despues de la confirmación de la cópula las hembras fueron separadas del macho.

Entre los días 25 y 30 después de la cópula, los tractos genitales de las hembras de pécari de collar fueron examinados mediante ultrasonografía transcutánea para realizar el diagnóstico de gestación de las hembras de pécari de collar. Se utilizó un sistema de ultrasonografía transabdominal a tiempo real, modo-B equipado con una sonda de 5.0 MHz (Pie Medical®, Maastricht, Holland) (ver Capítulo 4).

De las hembras que aceptaron la monta se extrajo sangre cada 10 días, a partir del día 5 después de la detección de células espermáticas en la citología vaginal y hasta el final de la gestación. En cuatro hembras gestantes de pécari de collar se realizó el seguimiento tres veces por semana de los órganos genitales externos y los cambios vaginales durante la gestación.

Examen de genitales externos

El examen de los genitales externos incluyó la observación y descripción de los labios y las comisuras de la vulva (hiperemia y tumefacción), y presencia y consecuente descripción del moco vaginal. La abertura vaginal también fue evaluada y clasificada como abierta o cerrada.

Citología vaginal

Las células vaginales se obtuvieron mediante el contacto de un hisopo húmedo con la mucosa vaginal caudal. Las células fueron transferidas por contacto a un portaobjetos. Finalmente, la película fue secada al aire y teñida mediante la tinción de Papanicolaou.

La citología vaginal fue categorizada tal y como hemos descrito previamente en otra especie salvaje (Mayor et al., 2003), teniendo en cuenta el recuento de leucocitos, y células basales, parabasales, intermedias y superficiales.

Técnica de extracción de suero

Las muestras de sangre fueron extraídas por punción de las venas cefálica y safena, y recogida en tubos siliconados. El suero fue obtenido a través de la centrifugación de la sangre a 2000 g durante 15 minutos después de un intervalo de 1 h tras de la extracción. Las muestras de suero fueron almacenadas en congelación a -20 °C hasta su posterior análisis.

Ensayos hormonales

Las concentraciones de progesterona fueron analizados mediante técnicas de inmunoensayo competitivo por quimioluminiscencia (Immulfite 2000 Progesterone®). La determinación de las concentraciones medias de progesterona fue realizada con el antisuero de progesterona. Dicho antisuero presentó reacciones cruzadas con los

siguientes esteroides relevantes: progesterona (100%), 11-desoxicorticosterona (1.82%), 17 α -hydroxyprogesterona (0.44%), corticosterona (0.42%), testosterona (0.12%), androstenediona (0.08%), pregnenolona (0.05%) y medroxiprogesterona (0.03%). El resto de esteroides que presentaron reacciones cruzadas presentaron un nivel de reacción <0.01%. Los coeficientes de interensayo e intraensayo presentaron variaciones de 10.16% y 6.4%, respectivamente. La sensibilidad de la curva estándar, definida como el primer punto que era diferente a 0, fue de 0.2 ng/ml. Todos los análisis fueron realizados por duplicado.

Las concentraciones de 17 β -estradiol fueron analizados mediante técnicas de inmunoensayo competitivo por quimioluminiscencia (Estradiol Immulite 2000 ®). El antisuero de 17 β -estradiol presentó reacciones cruzadas con los siguientes esteroides relevantes: 17 β -estradiol (100%), D-equilén (3.3%), etinil-estrona (2.6%), 17 β -estradiol-17-propionato (1.25%), estriol (0.8%), estrona (0.69%), equilén (0.38%). El resto de esteroides que presentaron reacciones cruzadas presentaron un nivel de reacción <0.01%. Los coeficientes de interensayo e intraensayo presentaron variaciones de 8.54% y 6.3%, respectivamente. La sensibilidad de la curva estándar, definida como el primer punto que era diferente a 0, fue de 15 pg/ml. Todos los análisis fueron realizados por duplicado.

Análisis estadístico

Las variaciones estadísticas de los promedios de concentraciones hormonales de progesterona y 17 β -estradiol a lo largo de la gestación se realizaron utilizando el test de Análisis de Varianza (ANOVA) de dos colas. Los análisis estadísticos fueron llevados cabo utilizando el paquete estadístico Statistical Analysis System (SAS Institute Inc., 1984). Las diferencias con valores de probabilidad de 0.05 ó menor fueron consideradas significativas. Los valores fueron presentados en término de promedio ± desviación estándar (S.D.).

Resultados

Animales

La copula fue confirmada por la presencia de células espermáticas en los frotis vaginal en 16 de las 20 hembras (80%). De estas 16 hembras copuladas, 10 hembras (50%) fueron diagnosticadas como gestantes por medio de ultrasonografía. Todas las hembras gestantes desarrollaron una gestación y parto normal. La duración media de la gestación fue de 138.6 ± 4.8 días, con un rango de 127-147 días (n=10).

Análisis de concentración de progesterona sérica

En la Figura 1 se muestran el perfil sérico de progesterona a lo largo de la gestación del pécari de collar. Las variaciones de los niveles séricos de progesterona a lo largo de la gestación no mostraron diferencias significativas. Los niveles constantes de progesterona durante la gestación presentaron unos valores medios de 37.7 ± 10.3 ng/ml. En la hembra de pécari de collar gestante las concentraciones de progesterona se incrementaron a partir del día 4 tras la fecundación hasta concentraciones de 33.4 ± 5.6 ng/ml en el día 10. Las concentraciones de progesterona se mantuvieron en valores comprendidos entre los 20 y 60 ng/ml a lo largo de la gestación. Entre los 3 y 5 días antes del parto se produjo una reducción a valores inferiores a 15 ng/ml.

Análisis de concentración de 17β -estradiol sérico

La Figura 2 muestra el perfil sérico de 17β -estradiol a lo largo de la gestación del pécari de collar. Los niveles medios de 17β -estradiol a lo largo de la gestación fueron de 49.3 ± 37.6 pg/ml. Las concentraciones séricas de esta hormona mostraron un incremento definido alrededor del día 15 después de la monta. Entre los días 20 y 115 se observaron niveles medios de 17β -estradiol comprendidos entre 20 y 70 pg/ml. A partir del día 120 de gestación los valores se incrementaron de forma constante hasta llegar a los niveles máximos en el día del parto (131.4 ± 40.8 pg/ml). Los niveles de 17β -estradiol a los 130-140 días fueron significativamente mayor a los observados entre los días 0 y 110 de gestación ($P<0.05$).

Cambios del perfil de la citología vaginal durante la gestación

La Figura 3 muestra los cambios observados en la citología vaginal a lo largo de la gestación de cuatro hembras de pécari de collar. Las hembras gestantes mostraron una ciclicidad irregular en el patrón de células vaginales entre los 25 y 115 días de gestación. Dichas hembras presentaron períodos con porcentajes medios de células superficiales e intermedias de 82%. Estos períodos se caracterizaron por un patrón de células vaginales de: 65% de células superficiales, 26% de células intermedias, 18% de células parabasales y 1% células basales (n=16). No se observaron leucocitos en las citologías vaginales.

En las dos últimas semanas antes del parto los niveles de células intermedias y superficiales se mantuvieron por encima del 70% de forma constante. Las citologías vaginales de los últimos 10 días presentaron un elevado nivel de moco vaginal y de leucocitos.

Características de los órganos genitales externos

En lo referente a los genitales externos, las hembras gestantes no mostraron ningún patrón de ciclicidad. La vulva presentó una coloración rojiza, sin tumefacción y sin evidencia de descarga de moco vaginal a lo largo de la gestación. En los últimos 8 días de gestación la vulva presentó una coloración roja, tumefacción y abundante moco vaginal.

Discusión

En este estudio se ha monitoreado el patrón hormonal de progesterona y 17β -estradiol séricos durante la gestación.

El pécari de collar empieza a sintetizar niveles detectables de 17β -estradiol a partir del 15º día de gestación. Este hecho es similar al observado en el cerdo doméstico, especie en la que a partir del día 10 a 12 de gestación el concepto empieza a producir estrógenos, participando en el reconocimiento de la gestación y provocando el aumento de la vida funcional de los ovarios (Morgan et al., 1987). Este período es

considerado crítico para el mantenimiento de la gestación (Senger, 1999). Los niveles séricos de progesterona aumentaron progresivamente a partir del día 4 y durante los primeros 10 días de gestación. De esta forma, el propio embrión podría determinar el mantenimiento del cuerpo lúteo, y a su vez el mantenimiento de las concentraciones elevadas de progesterona a lo largo de la gestación (Perry et al., 1976; Moeljono et al., 1977).

A partir del día 30 de gestación los niveles de progesterona no mostraron fluctuaciones significativas a lo largo de la gestación. El perfil hormonal de la hembra de pécari de collar gestante observado en este estudio concuerda con los datos aportados por Hellgren et al., (1985) y Sowls et al. (1997). Las elevadas concentraciones de progesterona sérica a lo largo de la gestación, valores medios de 37.7 ± 10.3 entre los días 10 y 120 de gestación, pueden ser debidas al incremento del volumen luteal de las hembras gestantes respecto a las hembras no gestantes en fase luteal (Capítulo 2). En el Capítulo 2 se observó que cuerpos lúteos de gestación en hembras en estado avanzado de gestación presentaban una intensa actividad esteroidea (indicada por el marcaje intenso del enzima 3β -HSD).

Las concentraciones de 17β -estradiol muestran un incremento más acusado alrededor del mes de gestación y continúan elevándose hasta alcanzar concentraciones de unos 70 pg/ml entre los días 60 y 70 de la gestación. Este incremento en la secreción de estrógenos puede ser de origen ovárico o fetal. Debido a que los valores de estrógenos de hembras no gestantes son menores a los que presentan las hembras gestantes (Capítulo 6), podemos suponer que esta hormona está siendo sintetizada principalmente por el feto en desarrollo, al igual que se ha mostrado en el cerdo doméstico (Vos et al., 1999). Este hecho apoya la aplicabilidad de los niveles séricos de estrógenos, en combinación con los de progesterona, como metodología diagnóstica de gestación, al igual que ocurre en el cerdo (Guthrie and Deaver, 1979; Saba and Hattersley, 1981; Cunningham, 1982). No obstante, debido a que las concentraciones de estrógenos no son

significativamente elevadas hasta los 30 días de gestación, ésta metodología puede no ser precisa para el diagnóstico precoz de gestación. Por otro lado, existe la posibilidad de falsos diagnósticos positivos debido al aumento de estrógenos durante el proestro de hembras no gestantes (Guthrie and Deaver, 1979), aspecto que se compensaría con el análisis de los niveles de progesterona.

En los exámenes histológicos de ovarios de hembras gestantes (capítulo 2) se observó que la hembra de pécari de collar presenta un crecimiento de grupos de folículos en los que se observó la dominancia de unos folículos sobre los otros. La evidencia de actividad folicular durante la gestación nos permite sugerir que parte de los estrógenos séricos analizados también pueden ser de origen ovárico. Por otro lado, este crecimiento folicular, responsable de la síntesis ovárica de estrógenos (Kirkpatrick, 1980; McDonald, 1980; Robel, 1993), podría justificar la existencia durante la gestación de un patrón de cambio del epitelio vaginal observado mediante citología vaginal. De hecho, en vaca, aproximadamente el 8-10% de las hembras gestantes muestran signos comportamentales de estro y presentan niveles elevados de progesterona (Thomas and Dobson, 1989).

A partir del día 120 de gestación los niveles de 17β -estradiol se incrementan de forma regular hasta llegar a niveles máximos el día del parto. Este incremento acusado de los niveles de estrógenos a final de gestación presenta un gran potencial como base de pruebas diagnósticas de gestación durante la última fase de gestación, al igual que ocurre en cerdo (Cunningham et al., 1983).

En concordancia con lo observado por Sowls et al. (1997) y Hellgren et al., (1985), en la fase final de gestación se produce un descenso de la progesterona sérica. En nuestro estudio este descenso se produce en los últimos 3-6 días de gestación (valores similares a los de Hellgren et al., 1985), mientras que Sowls et al. (1997) observan este descenso durante el último trimestre de gestación. El pécari de collar, al igual que el cerdo doméstico, presenta un

descenso de los niveles de progesterona asociado al parto (Baldwin and Stabenfeldt, 1975). Este descenso de los niveles séricos de progesterona se debe a la regresión del cuerpo lúteo al final de gestación, que en cerdo doméstico se encuentra completamente inactivo 2 ó 3 días después del parto (Quesnel and Prunier, 1995). Una de las consecuencias más importante del bloqueo de los niveles de progesterona y del aumento de los de estrógenos es la de estimular la contractibilidad uterina, permitiendo el inicio y asegurando la normalidad del parto (Maltier et al., 1993)

En esta última fase de gestación, la hembra de pécari de collar mantiene un patrón constante en cuanto a la citología vaginal, caracterizado por un abundante contenido de células vaginales eosinófilas y moco vaginal. A partir de esta fase la vulva se observa con coloración roja, tumefacta y con abundante moco vaginal. En los últimos días antes del parto la citología vaginal muestra en esta fase un elevado nivel de leucocitos. La acción de las hormonas sexuales puede modificar la actividad funcional de los leucocitos (Wischral, 2002), de tal forma que la actividad leucocitaria se estimula con la predominancia de estrógenos, mientras que la progesterona causa un efecto inhibitorio (Ramatdin et al., 1997). Consecuentemente, la situación hormonal en el periodo pre-parto, con una elevada tasa hormonal estrógeno/progesterona es responsable del sistema fagocitario de defensa tisular del epitelio vaginal contra microorganismos patógenos (Dhaliwall et al., 2001).

En este estudio se ha observado un patrón de cambio del epitelio vaginal durante la gestación que sugiere que la actividad folicular no está inhibida durante la gestación. La dinámica de los perfiles hormonales de 17β -estradiol y de progesterona de las hembras gestantes de pécari de collar sugiere la aplicabilidad de los niveles séricos de estrógenos como metodología diagnóstica de gestación.

Agradecimientos

Este estudio no se podría haber llevado a cabo sin la ayuda de la estación experimental

EMBRAPA de Belém do Pará (Brasil) al permitirnos disponer de los animales experimentales. Igualmente agradecemos la colaboración del Departamento de Reprodução Animal de la Universidade Federal do Pará - U.F.P.A. en la colección de datos. También queremos agradecer a la Unión Europea (Research for the Development, INCO-DEV; Fifth Framework Programme; contract nº: ICA4-CT-2001-10045) y al Ministerio Español de Ciencia y Tecnología (MCYT; AGL2001-4961-E) por la financiación al proyecto.

Referencias

- Baldwin, D.M. and Stabenfeldt, G.H. (1975). Endocrine changes in the pig during late pregnancy, parturition, and lactation. *Biol. Reprod.*, 12:508-515.
- Cunningham, N.F. (1982). Pregnancy diagnosis in sows based on serum oestrone sulphate concentration. *Br. Vet. J.*, 138:543-544.
- Cunningham, N.F., Hattersley, J.P. and Wrathall, A.E. (1983). Pregnancy diagnosis in sows based on serum oestrone sulphate concentration. *Vet. Rec.*, 113:229-233.
- Dhaliwall, G.S., Murria, R.D. and Woldehiwet, Z. (2001). Some aspects of PGF 2α immunology of the bovine uterus related to treatments for endometritis. *Anim. Reprod. Sci.*, 67:135-152.
- Emmons, L.H. (1990). Neotropical rainforest mammals: a field guide. Univ. of Chicago Press, Chicago, 281 pp.
- Gordon I. (1997). Estrus cycle and related features in swine. En Controlled Reproduction in Pigs. CAB International. Eds. Wallingford, UK, p. 65-79.
- Gottdenker, N. and Bodmer, R.E. (1998). Reproduction and productivity of white-lipped and collared peccaries in the Peruvian Amazon. *J. Zool. Lond.*, 245:423-430.
- Guthrie, H.D. and Deaver, D.R. (1979). Estrone concentration in the peripheral plasma of pregnant and nonpregnant gilts. *Theriogenology*, 11:321-329.
- Hellgren, E.C., Lochmiller, R.L., Amoss, M.S and Grant, W.E. (1985). Serum progesterone, estradiol- 17β , and glucocorticoids in the collared peccary during gestation and lactation as influenced by dietary protein and energy.

- General and Comparative Endocrinology, 59: 358-368.
- Hellgren, E.C., Lochmiller, R.L., Amoss, M.S., Jr, Seager, S.W.J., Magyar, S.J., Coscarelli, K.P. and Grant, W.E. (1989). Seasonal variation in serum testosterone, testicular measurements and semen characteristics in the collared peccary (*Tayassu tajacu*). J. Reprod. Fert., 85:677-686.
- Kirkpatrick, R.L., (1980). Physiological indices in wildlife management. En Schemmitz, S.D. Wildlife management techniques manual. 4º ed. Washington D.C., Wildlife Society, p. 99-112.
- Lochmiller, R.L., Hellgren, E.C. and Grant, W.E. (1984). Selected aspects of collared peccary (*Dicotyles tajacu*) reproductive biology. Zoo Biol., 3:145-149.
- Love, R.J., Evans, G., and Klupiec, C. (1993). Seasonal effects on fertility in gilts and sows. J. Reprod. Fert., 48: 191-96.
- Maltier, J-P., Legrand, Ch. and Breuller, M. (1993). Parturition. En Reproduction in mammals and man. Thibault, Ch., Levasseur and Hunter, R.H.F. (eds.), París, p. 481-503.
- Mayor, P., López-Béjar, M., Jori, F., Fenech, M. and López-Gatius, F. (2003). Reproductive functional anatomy and oestrous cycle pattern of the female brush-tailed porcupine (*Atherurus africanus*, Gray 1842) from Gabon. Anim. Reprod. Sc., 2394: 1-13.
- López-Béjar, M., Gálvez, H. and Mayor, P. (2004). Estrus detection by using vaginal cytologic and external genitalia examination in collared peccary (*Tayassu tajacu*) females from eastern Amazon. 15th International Congress on Animal Reproduction, Porto Seguro, Brazil. Accepted.
- McDonald, L.E. (1980). Female reproductive system. En Veterinary endocrinology and reproduction. Lea & Febiger, Philadelphia, p. 274-329.
- Moeljono, M.P.E., Thatcher, W.W. and Bazer, F.W. (1977). A study of prostaglandin F2 α as the luteolysis in swine. II. Characterization and comparison of prostaglandin F2 α , estrogens and progestin concentrations in utero-ovarian vein plasma of nonpregnant and pregnant gilts. Prostaglandins, 14: 543-555.
- Morgan, G., Geisert, R.D., Zavy, M.T., Shawley, R.V. and Fazleabas, A.T. (1987). Development of pig blastocysts in a uterine environment advanced by exogenous oestrogen. J. Reprod. Fert., 80: 125-131.
- Moriyoshi, M., Nozoki, K., Ohtaki, T., Nakada, K. and Nakao, T. (1997). Early pregnancy diagnosis in the sow by fecal gestagen measurement using a bovine milk progesterone qualitative test EIA kit. J. Reprod. Dev., 43 (4): 345-350.
- Nogueira-Filho, S.L. and Lavorenti, A. (1997). O manejo do caititu (*Tayassu Tajacu*) e do queixada (*Tayassu Pecari*) em cativeiro. En Manejo e Conservação de Vida Silvestre no Brasil.1 ed. Belém/PA-Brasília/DF. Mamirauá-CNPq, p.285.
- Perry, J.S., Heap, R.D.B. and Burton, R.D. (1976). Endocrinology of the blastocyst and its role in the establishment of pregnancy. J. Reprod. Fertil. (Suppl), 25: 85-104.
- Quesnel, H. and Prunier, A. (1995). Endocrine bases of lactational anoestrus in the sow. Reprod. Nutr. Dev., 35:395-414.
- Ramadin, A.A., Johnson, G.L. and Lewis, G.S. (1997). Regulation of uterine immune function during the oestrus cycle and in response to infectious bacteria. Lab. Anim. Sci., 75:1621-1632.
- Redford, K.H. (1993). Hunting in neotropical forests: A subsidy from Nature. En Tropical forests, people and food: Biocultural interactions and applications to development. Hladik, C.M., Hladik, A., Linares, O.F., Pagezy, H., Semple, A. and Hadley, M., p. 227-246.
- Robel, P. (1993). Steroidogenesis: The enzymes and regulation of their genomic expression. En Reproduction in mammals and man. Thibault, Ch., Levasseur and Hunter, R.H.F. (eds.), París, 135-143.
- Robinson, J.G. and Redford, K.H. (eds) (1991). Neotropical Wildlife Use and Conservation. University of Chicago Press, Chicago.
- Saba, N. and Hattersley, J.P. (1981). Direct estimation of oestrone sulphate in sow serum for a rapid pregnancy diagnosis test. J. Reprod. Fertil., 62:87-92.
- SAS. SAS User's Guide, 1984: Statistical Analysis Systems Institute, Inc. Cary, North Carolina.
- Senger, P.L (1999). Pathways to pregnancy and parturition. Ed. Current Conceptions, Inc. Pullman, Washington, D.C.

- Sowls, L.K. (1997). Javelines and other Peccaries: The biology, management and use. College Station. Texas A. and M. University Press, Texas, p. 86-104.
- Sowls, L.K., Smith, N.S., Holton, D.W., Moss, G.E. and Estergreen, L.V. (1976). Hormone levels and corpora lutea cell characteristics during gestation in the collared peccary. *Biol. Reprod.*, 14:572-578.
- Thomas, I. and Dobson, H. (1989). Oestrus during pregnancy in the cow. *Vet. Rec.*, 124:387-390.
- Vos E.A., Van Oord R., Taverne M.A.M. and Kruip T.A.M. (1999). Pregnancy diagnosis in sows: direct ELISA for estrone in feces and its prospects for an on-farm test, in comparison to ultrasonography. *Theriogenology*, 51:829-840.
- Wischral, A., Verreschi, I.T.N., Lima, S.S., Yashi, L.F. and Barnabé, R.C. (2002). Pré-parturitum profile of steroids and prostaglandin in cows with with or without foetal membrane retention. *Anim. Reprod. Sci.*, 67:181-188.

Figura 1: Valores séricos medios de progesterona (ng/ml) de hembras de pécari de collar ($n=10$) a lo largo de la gestación. Los días de gestación fueron estandarizados de acuerdo a los 138.6 días de promedio de gestación. Los valores están ajustados al día 0 correspondiente al día de monta efectiva.

Figure 1: Mean serum values of progesterone (ng/ml) in collared peccary females ($n=10$) during gestation. Days of pregnancy is normalized with respect to the 138.6 days of average gestation length. Day 0 corresponds to day of effective mating.

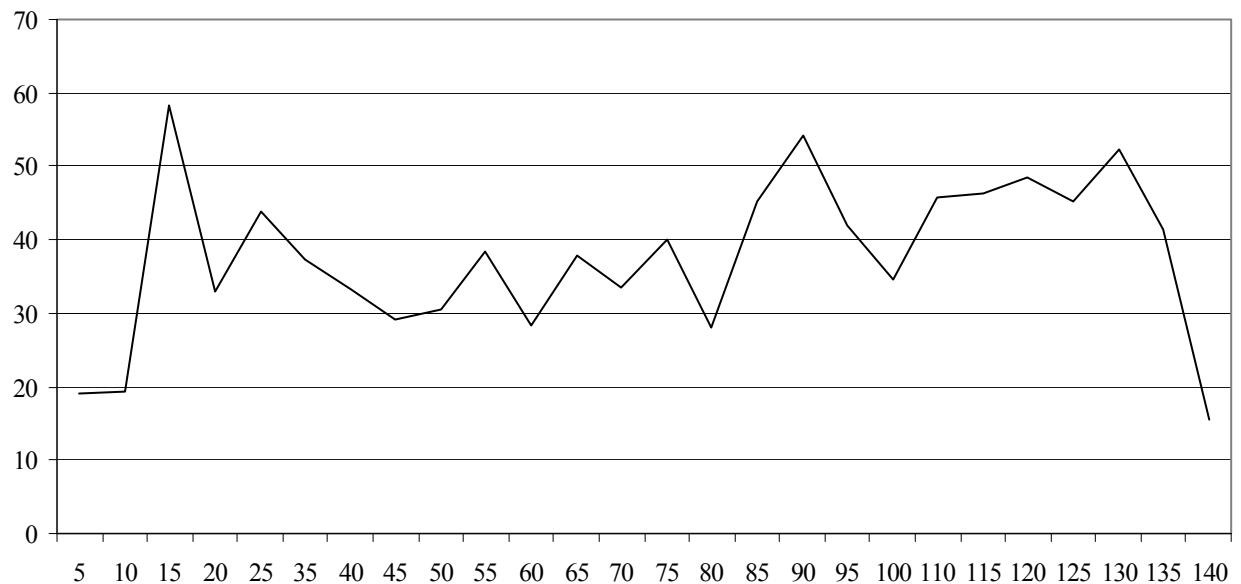


Figura 2: Valores séricos medios de 17β -estradiol (pg/ml) de hembras de pécari de collar ($n=10$) a lo largo de la gestación. Los días de gestación fueron estandarizados de acuerdo a los 138.6 días de promedio de gestación. Los valores están ajustados al día 0 correspondiente al día de monta efectiva.

Figure 2: Mean serum values of oestradiol- 17β (pg/ml) in collared peccary females ($n=10$) during pregnancy is normalized with respect to the 138.6 days of average gestation length. Day 0 corresponds to day of effective mating.

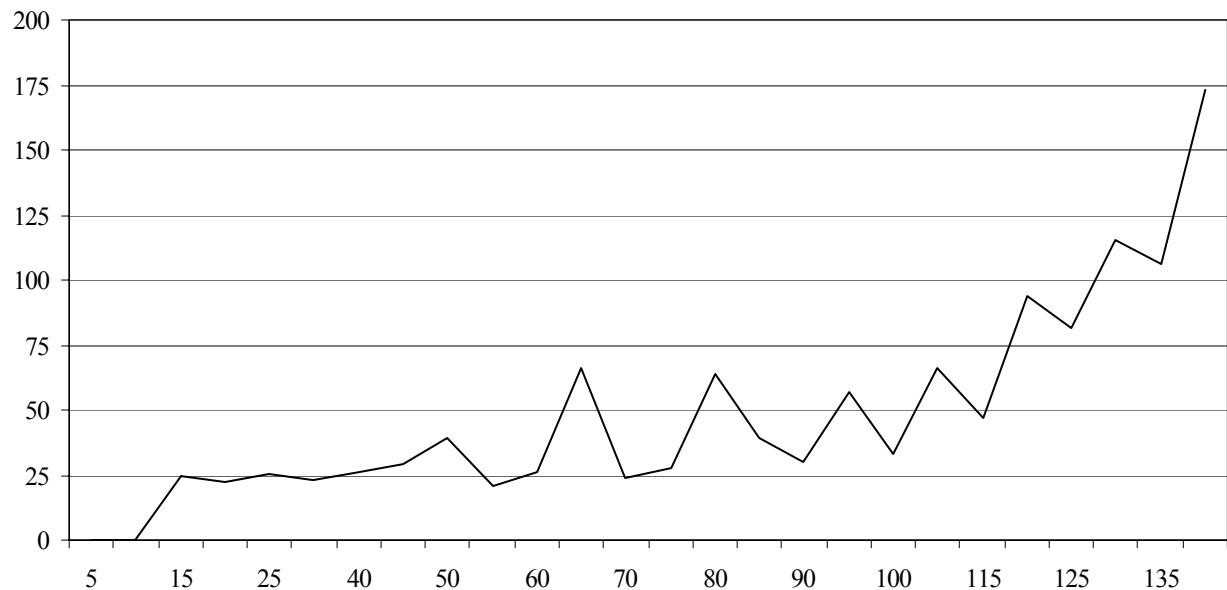
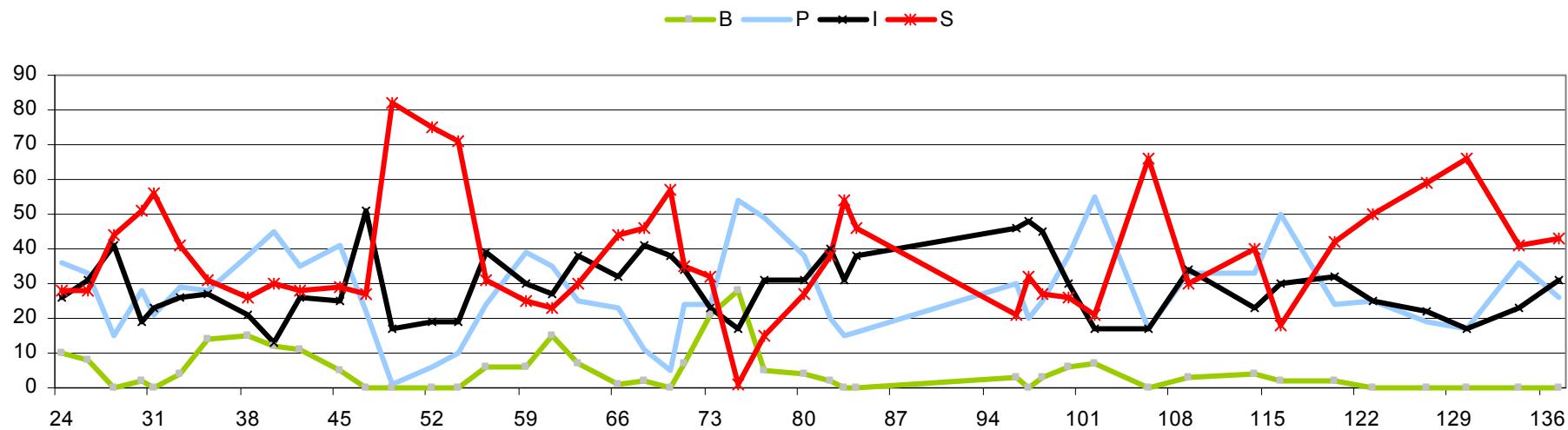


Figura 3: Cambios medios en la citología vaginal a lo largo de la gestación de la hembra de pécari de collar ($n=4$). Células basales (B), parabasales (P), intermedias (I) y superficiales (S). Los días de gestación fueron estandarizados de acuerdo a los 138.6 días de promedio de gestación. Los valores están ajustados al día 0 correspondiente al día de monta efectiva.

Figure 3: Mean changes in vaginal epithelial cells during gestation in the collared peccary female ($n=4$). Basal (B), parabasal (P), intermediate (I) and superficial (S) cells. Days of pregnancy is normalized with respect to the 138.6 days of average gestation length. Day 0 corresponds to day of effective mating.



**6. Celo ovulatorio post-parto de la hembra de
pécarí de collar (*Tayassu tajacu*) en la Amazonía**

*Ovulatory post-partum oestrus in the collared peccary female
(*Tayassu tajacu*) from Amazon*

Palabras clave: biología reproductiva, celo post-parto, pécarí de collar, *Tayassu tajacu*
Key Words: reproductive biology, post-partum oestrus, collared peccary, Tayassu tajacu

Summary

In this study, the post-partum period of collared peccary female was analysed. Twenty females were studied during the first month after parturition through hormonal profiles of progesterone and oestradiol- 17β , vaginal cytology and features of female external genitalia. Experimental females were constantly maintained with the newborns. Among the 20 experimental females, 16 (80%) females presented a serum oestradiol- 17β peak (53.4 pg/ml) on Day 7 ± 1.5 of the post-partum period. Serum progesterone levels increased from post-partum Day 10 to 18, reaching levels of 30.8 ± 4.9 µg/ml. In these cycling females, it was observed a pattern of change on the cells of vaginal epithelium. Twelve (60%) females presented sperm cells through vaginal cytology on Day 8.8 ± 1.3 of the post-partum period. Six (30%) females copulated but not developed a pregnancy and showed a decrease in serum progesterone levels between Days 26 and 30 of the post-partum period. Pregnant females ($n=6$) showed high progesterone levels during the period of oestrus return in non-pregnant females. Four (20%) females showed no oestrus signs and low progesterone levels of 0.86 ± 0.44 ng/ml. This study confirms that lactating collared peccary female can show an ovulatory and fertile post-partum oestrus in the early post-partum period.

Resumen

En este estudio se analizó el periodo post-parto de la hembra de pécari de collar. Veinte hembras fueron estudiadas durante el primer mes después del parto mediante el análisis de los perfiles hormonales de 17β -estradiol y progesterona, citología vaginal y estudio de los genitales externos con la finalidad de detectar el celo post-parto. Las hembras del estudio se mantuvieron en constante contacto con sus crías. De las 20 hembras experimentales, en 16 (80%) hembras se observó el día 7 ± 1.5 post-parto un pico de 17β -estradiol sérico llegando a valores de 53.4 pg/ml y los niveles séricos de progesterona se incrementaron desde el día 10 hasta llegar a

niveles de 30.8 ± 4.9 µg/ml en el día 18 de post-parto. En estas hembras se observó un patrón de cambio de las células del epitelio vaginal. Doce (60%) hembras fueron montadas por el macho el día 8.8 ± 1.3 post-parto. Las hembras que no resultaron gestantes ($n=10$) presentaron una disminución de los valores séricos de progesterona a partir del día 26, llegando a los valores mínimos el día 30 de post-parto. Las hembras gestantes ($n=6$) presentaron elevados niveles de progesterona en el periodo correspondiente al retorno del celo de hembras no gestantes. Cuatro (20%) hembras mostraron bajos niveles medios de progesterona sérica de 0.86 ± 0.44 ng/ml y no se observó sintomatología de celo. Este estudio demuestra que la hembra lactante de pécari de collar presentar celo ovulatorio y fértil en el periodo post-parto temprano.

Introducción

Las poblaciones humanas de los bosques húmedos tropicales dependen de los mamíferos para la obtención de proteína e ingresos económicos (Lahm, 1993; Redford, 1993). Los programas de cría en cautividad podrían ser considerados como sistemas eficaces de explotación renovable de los recursos de los bosques húmedos tropicales donde existe una fuerte demanda de productos naturales (Jori et al., 1998).

El pécari de collar, *Tayassu tajacu*, es una de las especies que presenta una mayor presión de caza en la Amazonía (Robinson and Redford, 1991). Debido a la importancia del pécari de collar en estas localizaciones, esta especie podría incluirse en programas de manejo de cría de animales silvestres.

El pécari de collar es un pequeño artiodáctilo que pertenece a una familia bien diferenciada dentro de los Suiformes, la Tayassuidae. Anteriores estudios de campo y en cautividad en Texas han demostrado que el pécari de collar es una especie de reproducción estacional (Low, 1970; Sowls, 1984). Sin embargo, estudios realizados en la Guyana Francesa (Henry and Dubost, 1990),

diferentes áreas de Brasil (Nogueira-Filho and Lavorenti, 1997; Silva et al., 2002) y noreste de la Amazonía Peruana (Gottdenker and Bodmer, 1998) demuestran el carácter de especie de reproducción no estacional. Sowls (1997) y Mauget et al. (1997) observaron una longitud de ciclo estral de 22 a 28 días. Sowls (1997) y Lochmiller et al. (1984) concluyeron que el periodo de gestación del pécari de collar variaba entre los 141 y 151. Este artiodáctilo presenta una tasa de ovulación entre 2 y 2.1 folículos ovulados, basándose en el recuento de cuerpos lúteos (Hellgren et al., 1995; Gottdenker and Bodmer, 1998), y un tamaño de camada entre 1.7 y 1.9 fetos/hembra gestante (Nogueira-Filho and Lavorenti, 1997; Sowls, 1997; Gottdenker and Bodmer, 1998).

La biología reproductiva del pécari de collar que habita en la región amazónica podría ser considerada prácticamente desconocida (Gottdenker and Bodmer, 1998). Es necesario un conocimiento más preciso de la reproducción del pécari de collar con la finalidad de establecer programas de manejo más eficientes en la producción de esta especie.

La existencia y el aprovechamiento del celo post-parto son factores importantes porque ayudaría a disminuir el intervalo entre partos, aumentando el número de partos por año y, en último término, optimizando la productividad del pécari de collar. Low (1970) y Sowls (1997) en Texas (USA) observaron la presencia de celo ovulatorio post-parto. Sowls (1984) demostró que la hembra de pécari de collar entraba en celo a los 3 y 7 días después del parto, pero sólo se producía la ovulación cuando la camada recién nacida era retirada en un tiempo breve después del parto.

El objetivo del presente estudio consiste en la confirmación de la existencia y caracterización hormonal del celo post-parto en la hembra del pécari de collar.

Material y métodos

Animales

Veinte hembras de pécari de collar en post-parto fueron mantenidas en cautividad en una granja

experimental de EMBRAPA-UFGP, Belém (Estado de Pará, Brasil), entre Junio de 2003 y Enero de 2004. Todas las hembras fueron mantenidas bajo condiciones de luz natural. La región climática ecuatorial presentó un promedio de temperaturas entre 20 y 30 °C y un porcentaje de humedad de 78%. Las precipitaciones anuales variaron entre los 1500 mm y los 1900 mm.

La dieta básica proporcionada consistió en una ración comercial para cerdo doméstico con un aporte calórico de 2500 kcal por animal y 14% de proteína, y agua *ad libitum*. Previo al inicio de la experimental, los animales fueron sujetos a un periodo de adaptación de un mínimo de 15 días. En todo momento se aseguró la excelente condición de salud de los animales experimentales (ver Anexos).

Diseño experimental

Veinte hembras en situación de post-parto fueron mantenidas junto con su camada y con machos con la finalidad de facilitar la entrada en celo y la detección de la monta.

El periodo post-parto de estas hembras, desde el día 3 y hasta el día 30 de post-parto, fue estudiado mediante el análisis del perfil hormonal de 17 β -estradiol y progesterona, citología vaginal y estudio de los genitales externos con la finalidad de detectar el celo post-parto.

El examen de los genitales externos y la citología vaginal fueron realizados cada día, y se realizó una extracción de sangre cada 2 días de las hembras de pécari, hasta la detección de los signos de celo postparto mediante citología vaginal.

En el caso de detectar signos de celo en la citología vaginal, 10 días después de la detección se realizó una nueva extracción de suero y de citología vaginal.

Examen de los genitales externos

El examen de los genitales externos incluyó la observación y descripción de los labios y las comisuras de la vulva (hiperemia y tumefacción), y presencia y consecuente descripción del moco

vaginal. La abertura vaginal fue considerada abierta cuando el hisopo utilizado en la citología vaginal fue fácilmente introducido en la vagina.

Citología vaginal

Las células vaginales se obtuvieron mediante el contacto de un hisopo húmedo con la mucosa vaginal caudal. Las células fueron transferidas por contacto a un portaobjetos. Finalmente, la película fue secada al aire y teñida mediante la tinción de Papanicolau.

La citología vaginal fue categorizada tal y como describieron Mayor et al. (2003) para otra especie salvaje, teniendo en cuenta el recuento de leucocitos, y células basales, parabasales, intermedias y superficiales. La predominancia de células superficiales e intermedias en la citología vaginal en una proporción mayor a 60% fue considerada como un indicador de celo (capítulo 3). Adicionalmente, se utilizó la citología vaginal para confirmar la cópula mediante la observación de células espermáticas.

Técnica de extracción de suero

Las muestras de sangre fueron extraídas por punción de las venas cefálica y safena, y fue recogida en tubos siliconados. El suero fue obtenido a través de la centrifugación de la sangre a 2000 g durante 15 minutos después de un intervalo de 1 h tras de la extracción. Las muestras de suero fueron almacenadas en congelación a -20 °C hasta su posterior análisis.

Ensayos hormonales

Las concentraciones de progesterona fueron analizados mediante técnicas de inmunoensayo competitivo por quimioluminiscencia (Immulfite 2000 Progesterone®). La determinación de las concentraciones medias de progesterona fue realizada con el antisuero de progesterona. Dicho antisuero presentó reacciones cruzadas con los siguientes esteroides relevantes: progesterona (100%), 11-desoxicorticosterona (1.82%), 17 α -hydroxyprogesterona (0.44%), corticosterona (0.42%), testosterona (0.12%), androstenediona (0.08%), pregnenolona (0.05%) y medroxiprogesterona (0.03%). El resto de esteroides que presentaron reacciones cruzadas presentaron un nivel de reacción <0.01%. Los

coeficientes de interensayo e intraensayo presentaron variaciones de 10.16% y 6.4%, respectivamente. La sensibilidad de la curva estándar, definida como el primer punto que era diferente a 0, fue de 0.2 ng/ml. Todos los análisis fueron realizados por duplicado.

Las concentraciones de 17 β -estradiol fueron analizados mediante técnicas de inmunoensayo competitivo por quimioluminiscencia (Estradiol Immulfite 2000 ®). El antisuero de 17 β -estradiol presentó reacciones cruzadas con los siguientes esteroides relevantes: 17 β -estradiol (100%), D-equilén (3.3%), etinil-estrona (2.6%), 17 β -estradiol-17-propionato (1.25%), estriol (0.8%), estrona (0.69%), equilén (0.38%). El resto de esteroides que presentaron reacciones cruzadas presentaron un nivel de reacción <0.01%. Los coeficientes de interensayo e intraensayo presentaron variaciones de 8.54% y 6.3%, respectivamente. La sensibilidad de la curva estándar, definida como el primer punto que era diferente a 0, fue de 15 pg/ml. Todos los análisis fueron realizados por duplicado.

Resultados

De las 20 hembras de pécari de collar, 16 hembras (80%) mostraron celo post-parto, evidenciado mediante citología vaginal. En 9 (56.2%) de estas 16 hembras, se observó cópula confirmada por la presencia de células espermáticas en la citología vaginal. De esas 9 hembras que aceptaron monta, 6 hembras (66.6%) fueron diagnosticadas como gestantes mediante ultrasonografía.

Examen de los genitales externos

Los genitales externos desde el post-parto y hasta la segunda semana de post-parto se mantuvieron constantemente tumefactos, rojizos y edematosos. No se pudo establecer un patrón de cambio de los signos de los genitales externos durante el periodo post-parto.

Examen de la citología vaginal

Basándose en los exámenes citológicos, en las hembras que mostraron sintomatología de celo post-parto, las células superficiales e intermedias alcanzaron el 76% durante el celo post-parto, con

una predominancia de las mismas entre los días 6 y 9 post-parto (Fig. 1). En los tres primeros días post-parto la citología vaginal mostró unos elevados porcentajes de células superficiales e intermedias. Entre los días 3 y 5 de post-parto la mayor parte de células vaginales estuvo formada por células parabasales. A partir del día 6 post-parto, se produjo un incremento de células superficiales e intermedias. La disminución de estas células tuvo lugar a partir del día 10 post-parto. Basándonos en las características de la citología vaginal, el celo tuvo una duración de 2.85 ± 1.23 días ($n=16$). Durante el celo post-parto los porcentajes de las células vaginales fueron de: células superficiales entre 28 y 46%, intermedias entre 27 y 32%, parabasales entre 19 y 23% y basales entre 0 y 7% ($n=16$). La densidad predominante de células superficiales e intermedias con valores superiores al 60% fue considerada indicio de celo (Capítulo 3).

El moco vaginal estuvo presente de forma casi constante en la mayor parte de las citologías vaginales de post-parto, desde el primer día y hasta el día 14. La presencia de leucocitos fue un hallazgo común en las citologías durante los primeros 6.7 ± 2.7 días post-parto.

En 9 hembras de pécari de collar se observaron células espermáticas el día 8.8 ± 1.3 post-parto.

En 4 hembras no se observó un patrón de cambio de células del epitelio vaginal mediante la técnica de citología vaginal.

Concentraciones séricas de progesterona y 17β -estradiol

En 16 hembras se observaron valores fluctuantes de ambas hormonas séricas (Figs. 2 y 3) a lo largo del periodo de post-parto.

En las hembras que mostraron sintomatología de celo mediante citología vaginal, se observó niveles no detectables por la técnica (<20 pg/ml) durante los primeros 6 días después del parto. El día 7 de post-parto se observó un pico de 17β -estradiol sérico llegando a valores promedio de 53.4 ± 8.1 pg/ml. La caída de los niveles séricos de 17β -estradiol se produjo entre los días 8 y 10 post-parto. Los valores de 17β -estradiol a partir

del día 10 post-parto volvieron a ser no detectables por la técnica diagnóstica. Los niveles séricos de progesterona en los primeros 10 días después del parto se mantuvieron en niveles inferiores a 5 ng/ml. El día 10 post-parto, la progesterona sérica inició su incremento hasta llegar a niveles máximos (30.8 ± 4.9 ng/ml) a los 18 días post-parto y 11 días después de la detección del pico de estradiol.

Las hembras que aceptaron monta pero no resultaron gestantes ($n=10$) presentaron una disminución de los valores séricos de progesterona a partir del día 26 ± 2.5 de post-parto, llegando a los valores mínimos el día 32 post-parto y 25 ± 2.5 días tras el pico de estradiol. Estas hembras presentaron valores no detectables de 17β -estradiol sérico hasta el día 30.5 ± 2.1 post-parto ó 23.5 ± 2.1 días después del anterior pico de 17β -estradiol.

Las hembras que resultaron gestantes incrementaron los valores séricos de progesterona llegando a valores comprendidos entre 30 y 60 ng/ml en el periodo en el periodo correspondiente al retorno del celo de hembras no gestantes.

Las 4 hembras en las que no se observó sintomatología de celo presentaron unos niveles medios de progesterona sérica de 0.9 ± 0.4 ng/ml (0.3-1.6), constantes a lo largo del primer mes de post-parto. Los niveles de estrógenos séricos presentaron valores bajos (<30 pg/ml).

Discusión

En este estudio se ha realizado el seguimiento del periodo post-parto temprano de la hembra de pécari de collar. Mediante el análisis hormonal y la citología vaginal se ha demostrado que la hembra lactante de pécari de collar puede presentar celo post-parto fértil.

En la mayoría de mamíferos, el parto está seguido de un periodo post-parto anovulatorio de duración variable que tiende a prolongarse en función de la presencia de las crías (Peters and Lamming, 1990). La existencia y el aprovechamiento del celo post-parto son

importantes porque ayuda a disminuir el intervalo entre partos, aumentando el número de partos por año y, en último término, optimizando la productividad de crías por hembra y año. Sin embargo, la mayoría de mamíferos suelen entrar en periodo de anestro debido a que la hormona prolactina, cuyos niveles aumentan en la lactación, provoca un retraso de la reactivación de la actividad del eje hipotálamo-hipófisis-ovario. La lactación se constituye como uno de los principales reguladores con influencia inhibitoria marcada sobre el desarrollo del estro y de la ovulación (Quesnel and Prunier, 1995). No obstante, en especies de roedores y en el cerdo doméstico, la ovulación puede tener lugar durante el periodo temprano post-parto, e incluso en el periodo pre-parto (Delouis and Lammings, 1993). La presencia de este celo post-parto podría ser el resultado del pico de estrógenos que tiene lugar en la última fase de gestación del cerdo (Holness and Hunter, 1975).

En el presente estudio, hemos observado que, igual a lo descrito por Sowls (1984 y 1997), el pécari de collar puede presentar celo en el periodo temprano de post-parto. La aceptación de monta en el 45% de las hembras y el desarrollo de gestación en el 30% de las hembras confirman que este celo de post-parto puede ser ovulatorio y fértil. No obstante, a diferencia de Sowls (1997), se ha demostrado que este celo puede ser ovulatorio sin necesidad de realizar un destete temprano.

En la hembra de pécari de collar, durante el día 7 post-parto se observa un pico de 17β -estradiol sérico. La caída de los niveles séricos de 17β -estradiol se produce entre los días 8 y 10 post-parto. Las concentraciones de progesterona sérica se incrementan 4 días después del pico de estrógenos. Si la hembra no queda gestante, esta concentración vuelve rápidamente a los niveles basales el día 23 después del pico de estradiol. Sin embargo, si la hembra queda gestante las concentraciones de progesterona se mantienen entre 20 y 60 ng/ml a lo largo de la gestación (capítulo 5). Consecuentemente, al igual que en cerdo doméstico (Ellendorff et al., 1976), en hembras gestantes las concentraciones séricas de progesterona son elevadas durante el periodo

estimado de retorno de celo de hembras que no fueron fecundadas.

Los patrones de cambio del epitelio vaginal del celo post-parto muestran una predominancia de las células superficiales e intermedias que se mantuvo durante 3 días. No obstante, probablemente debido a la agresión que supone el parto, no se observaron cambios en los signos de los genitales externos relacionados con el celo post-parto, los cuales se observaron constantemente tumefactos, hiperémicos y edematosos.

En 4 hembras se observaron niveles basales de progesterona y de 17β -estradiol, de forma constante a lo largo del primer mes después del parto. En situación de anestro lactacional, las concentraciones de progesterona permanecen bajas durante la lactación, de acuerdo con la ausencia de cuerpos lúteos activos (Stevenson et al., 1981). Igualmente, en periodo de anestro lactacional los estrógenos se mantienen bajos (Baldwin and Stabenfeldt, 1975; Prunier et al., 1993).

La secreción de LH y el desarrollo folicular se encuentran inhibidos durante el último mes de gestación de la cerda, seguramente debido a la inhibición causada por la progesterona (Rexroad and Casida, 1975). El mecanismo fisiológico que explica el periodo de anestro lactacional observado en gran parte de los mamíferos se basa en que, después del parto, la secreción de LH aumenta pero de nuevo se encuentra inhibida por el establecimiento de la lactación. La inhibición de la secreción de LH ligada al efecto de la lactación está mediada por la liberación endógena de péptidos opiáceos (Barb et al., 1986; Mattioli et al., 1986) y por la prolactina (Booman et al., 1982), que actúan a nivel hipotalámico. En la cerda, la lactación presenta efectos inhibitorios sobre la actividad ovárica hasta los días 14-16 post-parto (Elsaesser and Parvizi, 1980). Se ha demostrado que la foliculogénesis se encuentra de forma activa durante la lactación, a pesar de que los folículos no alcancen el tamaño ovulatorio (Rojanasthien et al., 1987), posiblemente debido al efecto inhibitorio de la prolactina sobre la función

folicular (Stevenson et al., 1981; Kirkwood et al., 1984; Foxcroft et al., 1987). La función ovárica no suele reiniciarse hasta 3 ó 7 días después del destete debido a la disminución de la prolactina después del destete (Bevers et al., 1978; Stevenson et al., 1981). A partir del retorno de la ciclicidad ovárica se observan folículos con tamaño ovulatorio (Cox and Britt, 1982; Quesnel and Prunier, 1995),

La presencia de celo post-parto y el desarrollo de una nueva gestación constituyen un factor positivo para la especie pues garantiza una mayor productividad y una rápida reposición del tamaño poblacional del grupo. En este estudio se ha confirmado que la hembra de pécari de collar mantenida en cautividad en la Amazonía, puede presentar celo ovulatorio y fértil en el periodo post-parto temprano.

Agradecimientos

Este estudio no se podría llevar a cabo sin la ayuda de la estación experimental EMBRAPA de Belém do Pará (Brasil) al permitirnos disponer de los animales experimentales. Igualmente agradecemos la colaboración del Departamento de Reprodução Animal de la Universidade Federal do Pará - U.F.P.A. en la colección de datos. También queremos agradecer a la Unión Europea (Research for the Development, INCODEV; Fifth Framework Programme; contract nº: ICA4-CT-2001-10045) y al Ministerio Español de Ciencia y Tecnología (MCYT; AGL2001-4961-E) por la financiación al proyecto.

Referencias

- Baldwin, D.M. and Stabenfeldt, G.H. (1975). Endocrine changes in the pig during late pregnancy, parturition, and lactation. *Biol. Reprod.*, 12:508-515.
- Barb, C.R., Kraeling, R.R., Rampacek, G.B. and Whisnant, C.S. (1986). Opioid inhibition of luteinizing hormone secretion in the postpartum lactating sow. *Biol. Reprod.*, 35:385-371.
- Bevers, M.M., Willemse, A.H. and Kruip, T.A.M. (1978). Prolactin levels and the LH-response to synthetic LH-RH in the lactating sow. *Anim. Reprod. Sci.*, 4:155-163.
- Booman, P, Van de Wiel, D.F.M. and Jansen, A.A.M. (1982). Effect of exogenous prolactin on peripheral luteinizing hormone levels in the sow after weaning the piglets. Report B-200, Institut voor Veeteeltkundig Schoonoord, Driebergseweg 10, Zeist, The Netherlands, p. 1-58.
- Cox, N.M. and Britt, J.H. (1982). Relationship between endogenous gonadotropin-releasing hormone, gonadotropins, and follicular development after weaning in sows. *Biol. Reprod.*, 27:70-78.
- Delouis, Cl. and Richard, Ph. (1993). Lactation. En *Reproduction in mammals and man*. Thibault, M.C. and Levasseur, M.C. and Hunter, R.H.F., Ellipses, Paris, p. 503-531.
- Ellendorff, F., Meyer, J.N. and Elsaesser, F. (1976). Prospects and problems and fertility diagnosis in the pig by aid of progesterone determination. *Br. Vet. J.*, 132:543-550.
- Elsaesser, F. and Parvizi, N. (1980). Partial recovery of the stimulatory oestrogen feedback action on LH release during late lactation in the pig. *J. Reprod. Fert.*, 59:63-67.
- Foxcroft, G.R., Shaw, H.J., Hunter, M.G., Booth, P.J. and Lancaster, R.T. (1987). Relationships between luteinizing hormone, follicle-stimulating hormone and prolactin secretion and ovarian follicular development in the weaned sow. *Biol. Reprod.*, 36:175-191.
- Gottdenker, N. and Bodmer, R.E. (1998). Reproduction and productivity of white-lipped and collared peccaries in the Peruvian Amazon. *J. Zool. Lond.*, 245:423-430.
- Hellgren, E.C., Lochmiller, R.L., Amoss, M.S., Jr, Seager, S.W.J., Magyar, S.J., Coscarelli, K.P. and Grant, W.E. (1989). Seasonal variation in serum testosterone, testicular measurements and semen characteristics in the collared peccary (*Tayassu tajacu*). *J. Reprod. Fert.*, 85:677-686.
- Henry, O. and Dubost, G. (1990). Premiers resultants sur la saisonnalité de la reproduction des mammifères Guyanais. En : *Gestation de l'Ecosystème Forestier et Aménagement e l'Espace Régional. Congrès SEPANGUY*, Guyana, Cayenne, p.161-166.
- Holness, D.H. and Hunter, R.H. (1975). Post-partum oestrus in the sow in relation to the concentration of plasma oestrogens. *J. Reprod. Fertil.*, 45(1):15-20.

- Jori, F., López-Béjar, M. and Houben, P. (1998). The biology and use of the African brush-tailed porcupine (*Atherurus africanus*, Gray, 1842) as a food animal. A review. *Biodiversity and Conservation*, 7:1417-1426.
- Kirkwood, R.N., Lapwood, K.R., Smith, W.C. and Anderson, I.L. (1984). Plasma concentrations of LH, prolactin, oestradiol-17 β and progesterone in sows weaned after lactation for 10 or 35 days. *J. Reprod. Fert.*, 70:95-102.
- Lahm, S.A. (1993). Utilization of forest resources and local variation of wildlife populations in northeastern Gabon. En *Tropical forests, people and food: Biocultural interactions and applications to development*. Hladik, C.M., Hladik, A., Linares, O.F., Pagezy, H., Semple, A. and Hadley, M.N, p. 213-226.
- Lochmiller, R.L., Hellgren, E.C. and Grant, W.E. (1984). Selected aspects of collared peccary (*Dicotyles tajacu*) reproductive biology. *Zoo Biol.*, 3:145-149.
- Low, W.A. (1970). The influence of aridity on reproduction of the collared peccary (*Dicotyles tajacu* (Linn)) in Texas. Ph.D.Thesis. University of British Columbia.
- Mattioli, M., Conte, F., Galeati, G. And Seren, E. (1986). Effect of naxolone on plasma concentrations of prolactin and LH in lactating sows. *J. Reprod. Fert.*, 76:167-173.
- Mauguet, R., Feer, F. Henry, O. and Dubost, G. (1997). Hormonal and behavioural monitoring of ovrian cycles in peccaries. 1st International Symp on Phys and Ethol of Wild and Zoo animals. Proceeding. Suppl. II, p. 145-149.
- Mayor, P., López-Béjar, M., Jori, F., Fenech, M. and López-Gatius, F. (2003). Reproductive functional anatomy and oestrous cycle pattern of the female brush-tailed porcupine (*Atherurus africanus*, Gray 1842) from Gabon. *Animal Reproduction Science*, 2394: 1-13.
- Nogueira-Filho, S.L. and Lavorenti, A. (1997). O Manejo do caititu (*Tayassu Tajacu*) e do queixada (*Tayassu Pecari*) em cativeiro. En: *Manejo e Conservação de Vida Silvestre no Brasil*. 1 ed. Belém/PA-Brasília/DF: Mamirauá-CNPq, p. 285.
- Peters, A.R. and Lammings, G.E. (1990). Lactational anoestrus in farm animals. *Oxford Rev Reprod Biol*, 65:545-557.
- Prunier, A., Dorumad, J.Y. and Etienne, M. (1993). Feeding level, metabolic parameters and reproductive performance of primiparous sows. *Livest. Prod. Sci.*, 37:185-196.
- Quesnel, H. and Prunier, A. (1995). Endocrine bases of lactational anoestrus in the sow. *Reprod. Nutr. Dev.*, 35(4):395-414.
- Redford, K.H. (1993). Hunting in neotropical forests: A subsidy from Nature. En *Tropical forests, people and food: Biocultural interactions and applications to development*. Hladik, C.M., Hladik, A., Linares, O.F., Pagezy, H., Semple, A. and Hadley, M., p. 227-246.
- Rexroad, C.E. and Casida, L.E. (1975). Ovarian follicular development in cows, sows and ewes in different stages of pregnancy as affected by number of corpora lutea in the same ovary. *J. Anim. Sci.*, 41:1090-1097.
- Robinson, J.G. and Redford, K.H. (eds) (1991). *Neotropical Wildlife Use and Conservation*. University of Chicago Press, Chicago.
- Rojanasthien, S., Einarsson, S. and Settergen, I. (1987). Follicular development in lactating, post-weaning and anoestrus primiparous sows. *Acta Vet. Scand.*, 28:421-427.
- Silva, J.V., Cardoso, D., Guimaraes, D.A., Albuquerque, N., Le Pendú, Y. and Ohashi, O. (2002). Biologia reprodutiva de fêmeas de caititu (*Tayassu tajacu*) criadas em cativerio na Amazônia. *Revista Brasileira de Reprodução Animal Suppl.*, 5:180-182.
- Sowls, L.K. (1984). *The Peccaries*. The University of Arizona Press, Tucson.
- Sowls, L.K. (1997). *Javelines and other Peccaries: The biology, management and use*. College Station. Texas A. and M. University Press, Texas, p. 86-104.
- Stevenson, J.S., Cox, N.M. and Britt, J.H. (1981). Role of the ovary in controlling luteinizing hormone, and prolactin secretion during after lactation in pigs. *Biol. Reprod.*, 24:341-353.

Figura 1: Cambios de los porcentajes medios de células epiteliales de la vaginal a lo largo del periodo de post-parto en hembras (n=18) que presentaron pico de estradiol. Los días post-parto fueron estandarizados en base al pico de estradiol a los 7 días del parto. Células superficiales (S), intermedias (I), parabasales (P) y basales (B).

Figure 1: Mean changes in vaginal epithelial cells during the post-partum period in collared peccary females (n=18) with presence of oestradiol peak. Days of post-partum are normalized with respect to the 7 days of estradiol peak average time. Day 0 corresponds to day of parturition. Basal (B), parabasal (P), intermediate (I) and superficial (S) cells.

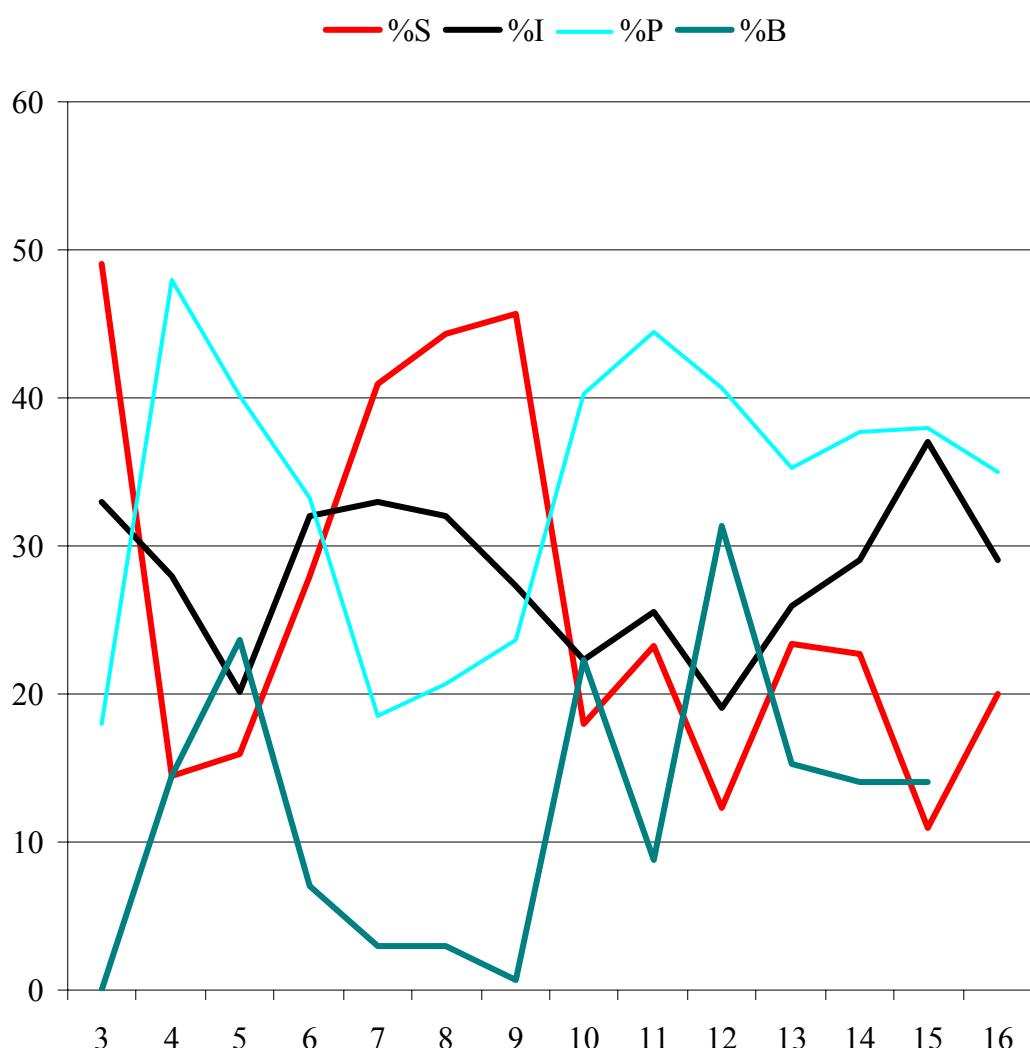


Figura 2: Valores séricos medios de 17β -estradiol (pg/ml) y progesterona (ng/ml) del cuello post-parto de hembras que no resultaron gestantes ($n=10$). Los días post-parto fueron estandarizados en base al pico de estradiol a los 7 días del parto. Día 0 corresponde al día de parto.

Figure 2: Mean serum levels of oestradiol- 17β (pg/ml) and progesterone (ng/ml) during the post-partum oestrus in collared peccary females, which not resulted in pregnancy ($n=10$). Days of post-partum are normalized with respect to the 7 days of estradiol peak average time. Day 0 corresponds to day of parturition.

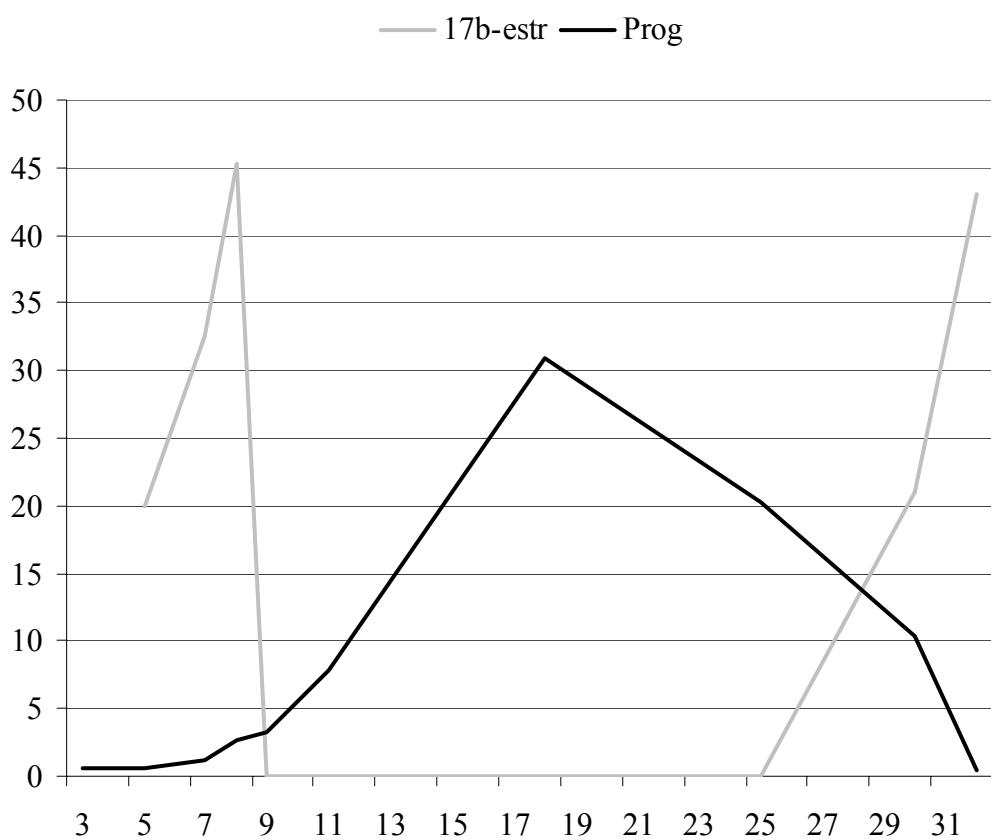
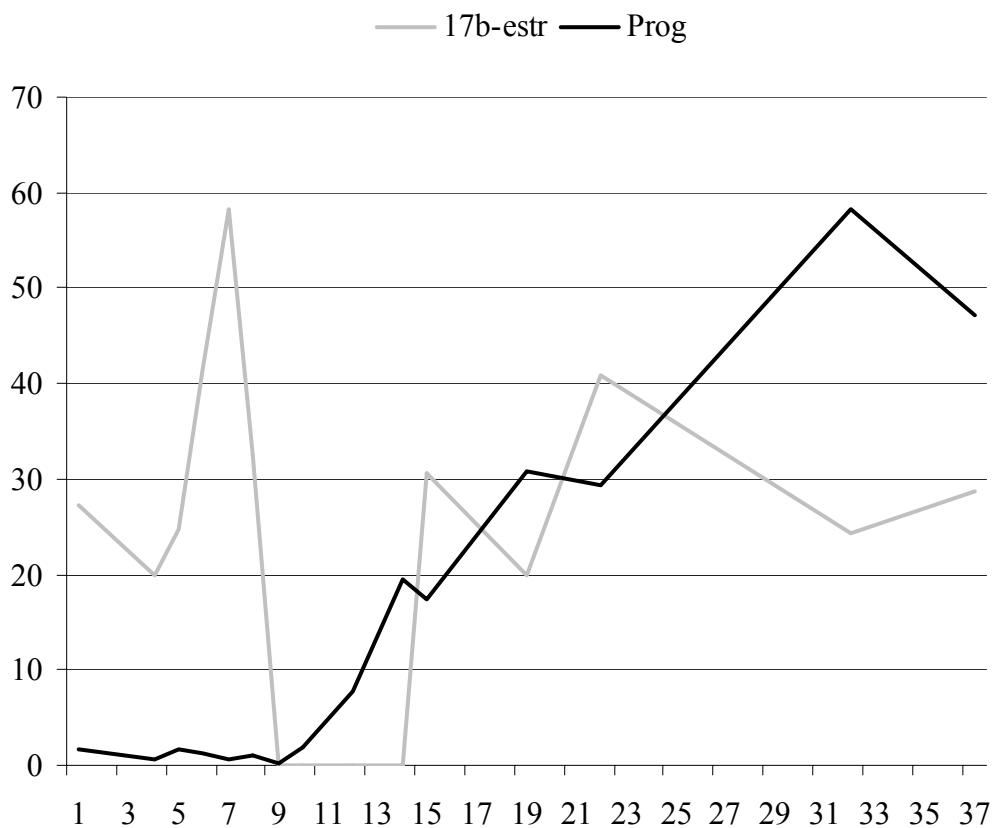


Figura 3: Valores séricos medios de 17β -estradiol (pg/ml) y progesterona (ng/ml) del celo post-parto de hembras que resultaron gestantes ($n=6$). Los días post-parto fueron estandarizados en base al pico de estradiol a los 7 días del parto. Los valores están ajustados al día 0 correspondiente al día de parto.

Figure 3: Mean serum levels of oestradiol- 17β (pg/ml) and progesterone (ng/ml) during the post-partum oestrus in collared peccary females, which resulted in pregnancy ($n=6$). Days of post-partum are normalized with respect to the 7 days of estradiol peak average time. Day 0 corresponds to day of parturition.



7. Parámetros reproductivos del pécarí de collar (*Tayassu tajacu*) mantenido en cautividad en dos zoocriaderos de la Amazonía: Iquitos (Perú) y Belém (Estado de Pará, Brasil)

*Reproductive parameters of the collared peccary (*Tayassu tajacu*) raised incaptivity in two farms from Amazon: Iquitos (Peru) and Belém (State of Pará, Brazil)*

Guimaraes, D.A., Viana da Silva, J., Mayor, P., Le Pendú, Y., Albuquerque, N.I. and Nogueira-Filho, S.L.G. (2004). Reproductive biology of female collared peccaries (*Tayassu tajacu*) raised in captivity in Amazon region. Wildlife as Natural Resource. 6th International Wildlife Ranching Symposium, Paris, France. Accepted.

Palabras clave: biología reproductiva, parámetros reproductivos, cautividad, pécarí de collar, *Tayassu tajacu*

Key Words: reproductive biology, reproductive parameters, captivity, collared peccary, Tayassu tajacu

Summary

In this study we present the reproductive parameters resulting from the analysis of 53 parturitions from 21 collared peccary females from Belém (State of Pará, Brazil), and 14 parturitions from 6 females from Iquitos (Peru). Parturitions occurred throughout the year. The mean duration of the gestation was 138 days. The average litter size was 1.89 newborns per parturition. Collared peccary females had a newborn sex ratio of 48.2% males and 51.8% females. The mean age at first conception was 615 days. Nevertheless, the earliest first parturition occurred at 381 days old. Mean age at first conception was 475 days, and the earliest estimated first fertilization was at 239 days. First post-partum oestrus was observed at 8.6 days. The estimated parturition-conception interval was 41 days. The mean calving interval was 179 days. Mean production was 2.35 litters per female and year. Taking into account the prolificacy and the number of births per female and year, the production of newborns per female and year was 4.4. Production in Iquitos was 2.1 litters per female and year, and 3.3 newborns per female and year. This study suggests that collared peccary raised in captivity presents interesting reproductive parameters for the zootechnical development of this species in the Amazon region.

Resumen

En este estudio se presentan los parámetros reproductivos resultantes del estudio de 53 partos de 21 hembras de pécari de collar entre Septiembre de 1999 y Diciembre de 2003 en una explotación de régimen intensivo en Belem do Pará (Brasil), y 14 partos de 6 hembras de pécari de collar entre Febrero de 2002 y Diciembre de 2003 en una explotación de régimen semi-intensivo en Iquitos (Perú). La duración media de la gestación fue de 138 días. El tamaño de camada fue de 1.89 crías por parto con una tasa de sexos de 48.2% machos y 51.8% hembras. La edad al primer parto fue de 615 días, sin embargo el primer parto más temprano se observó en una hembra a los 381 días de edad. La edad a la primera fecundación fue de 475

días, y la fecundación más temprana fue observada a los 8 meses de edad. El celo post-parto fue observado a los 8.6 días tras el parto. El intervalo de parto-concepción fue de 41 días y el intervalo entre partos fue de 179 días. El número de partos fue de 2.35 partos por hembra y año, y la producción de 4.4 crías por hembra y año. La producción de Iquitos fue de 2.1 camadas por hembra y año, y 3.3 crías por hembra y año. Este estudio sugiere que el pécari de collar mantenido en condiciones de cautividad presenta una productividad reproductiva interesante para el desarrollo zootécnico de esta especie en la Amazonía.

Introducción

Los mamíferos de la región Amazónica constituyen una fuente importante de proteína animal y de ingresos económicos para las poblaciones de los bosques tropicales (Lahm, 1993; Redford, 1993). Muchas especies, especialmente aquellas que presentan un valor comercial elevado se encuentran en peligro de desaparecer a nivel local y mundial, debido a la elevada presión de caza (Emmons, 1990; Redford and Robinson, 1991). Los programas de cría en cautividad pueden ser considerados como sistemas alternativos efectivos de explotación de estos recursos naturales de forma sostenible en aquellas localizaciones donde existe una demanda de productos derivados de las especies silvestres.

El pécari de collar (*Tayassu tajacu*) representa una importante fuente de carne de caza para los pobladores amazónicos (Redford y Robinson, 1991; Moreira y MacDonald, 1997) y está considerada como una especie de interés para ser introducida en programas de cría en cautividad. La función reproductiva es un factor básico a la hora de evaluar la eficiencia de la inclusión de una especie dentro de sistemas de zoocría. El objetivo de la cría es la obtención de unas tasas de producción máximas en un periodo de tiempo mínimo. Este conocimiento es esencial para establecer sistemas de manejo adecuados para futuras explotaciones comerciales. El objetivo de este estudio consiste en el análisis de los parámetros reproductivos de hembras de pécari

de collar mantenidas en cautividad en la región amazónica.

Material y Métodos

Localización

Los animales de este estudio pertenecían a los zoocriaderos experimentales de Iquitos (Perú) y Belém (Estado de Pará, Brasil).

El primer centro de zoocría se localizaba en la ciudad de Iquitos, capital del departamento de Loreto (Perú, Noroeste amazónico). El clima es básicamente ecuatorial con un promedio de temperaturas anual entre 22 y 32 °C, con una variación diaria de 4 °C, y un porcentaje de humedad media del 85%. Las precipitaciones anuales oscilaron entre los 1500 mm y los 3000 mm con un promedio de 2600 mm.

El segundo centro de zoocría se localizó en la ciudad de Belém, capital del estado de Pará (Brasil, este amazónico). El clima igualmente es básicamente ecuatorial con un promedio de temperaturas entre 20 y 30 °C y un porcentaje de humedad del 78%. Las precipitaciones anuales variaron entre los 1500 mm y los 1900 mm.

Animales

El número promedio de animales fue de 23 animales en la explotación de Iquitos y de 100 animales en la de Belém. En este estudio se estudiaron 53 partos de 21 hembras de pécari de collar entre Septiembre de 1999 y Diciembre de 2003 en Belem (Estado de Pará, Brasil), y 14 partos de 6 hembras de pécari de collar entre Febrero de 2002 y Diciembre de 2003 en Iquitos (Perú).

Ambos sistemas de zoocría ya estaban implantados con anterioridad al estudio. Los animales de la explotación de Iquitos provenían de la selva. Los animales de la explotación de Belém provenían tanto de la selva como de otras explotaciones.

Mantenimiento en cautividad

En el zoocriadero de Iquitos, los pecaríes de collar fueron mantenidos en cercados de aproximadamente 400 m². Los animales fueron

mantenidos al aire libre y se mantuvieron estables los grupos iniciales. La densidad de animales fue de 2-3 animales por cercado. El espacio ocupado por los animales fue de 125 m²/animal (rango 100-133).

En el zoocriadero de Belém, los pecaríes de collar fueron mantenidos en jaulas de aproximadamente 4x12 m². Los animales se mantuvieron al aire libre e igualmente se mantuvieron estables los grupos familiares. La densidad de pecaríes fue de 7-12 animales por jaula. El espacio ocupado por los animales fue de 5.6 m²/animal (rango 4-6.9).

Manejo reproductivo

En el zoocriadero de Iquitos, los grupos reproductivos estaban formados por una proporción variable de 1:1-2 (macho:hembra). Pudiendo mantener dos parejas sin problemas en la misma jaula. Los grupos fueron muy estables y se minimizaron los cambios entre grupos y el aislamiento de los animales.

En el zoocriadero de Belém, los grupos reproductivos estaban formados por una proporción de 1:2-3 (macho:hembra). Siempre se intentó mantener un único macho adulto por jaula, no obstante debido a las necesidades de espacio en alguna jaula se mantuvieron simultáneamente dos machos adultos.

El destete de las crías se realizó de forma natural. Las crías permanecieron en contacto constante desde el nacimiento hasta el rechazo de las mismas por parte de la madre. Despues del destete las crías permanecieron formando parte del grupo original.

Dieta

En el zoocriadero de Iquitos, los pecaríes de collar recibieron una alimentación basada en productos naturales de la selva, variable según la disponibilidad de los mismos, y un suplemento de ración concentrada de maíz y cascarilla de arroz de aproximadamente 200 g por animal. El agua se suministró en todo momento a entera disposición.

Estado sanitario

En todo momento se aseguró la excelente condición de salud de los animales experimentales (ver Anexos).

En el zoocriadero de Belém, los pecaríes collar recibieron una alimentación basada en una ración concentrada para cerdos con un aporte calórico de 2500 kcal por animal y un 14% de proteína. El agua se suministró en todo momento a entera disposición.

Parámetros reproductivos

Los datos relativos a la monta fueron analizados mediante la observación de células espermáticas en citología vaginal. El diagnóstico de gestación fue realizado por ultrasonografía, y confirmado por la observación de parto. De los partos observados se recogió la información referente a: fecha del parto, identificación de la madre, edad de la madre, prolificidad por parto y proporción de machos y hembras.

A partir de la información recogida se calculó los siguientes parámetros reproductivos:

- Edad a la 1º monta efectiva: Edad al 1º parto – Longitud media de gestación
- Edad al 1º parto: Días o meses de edad de hembras nulíparas en las que se observó el primer parto
- Longitud del celo: Periodo de tiempo en días en el que la hembra presentó receptividad al macho. Este periodo también fue determinado en función de los cambios de células vaginales y signos de genitales externos (Mayor et al., 2004)
- Longitud de gestación: Periodo de tiempo en días comprendido entre la detección de células espermáticas por citología vaginal y el parto
- Prolificidad: Cantidad de crías nacidas por parto
- Proporción de hembra/macho: Porcentaje de hembras y machos por camada
- Periodo entre partos (IPP): Periodo en días entre dos partos consecutivos de una misma hembra
- Intervalo parto-concepción (IPC): Diferencia de días entre IPP y Longitud de gestación
- Celo post-parto: Número de días tras el parto en el que se observaron células espermáticas en la citología vaginal

- Partos/año: 365 días (1 año)/IPP
- Producción anual/hembra: IPP * Prolificidad. Este parámetro fue calculado a partir de la información de los sucesivos partos de una misma hembra
- Distribución de partos a lo largo del año.

El intervalo entre partos fue calculado:

- 1.- Teniendo en cuenta la globalidad de hembras que presentaron dos partos consecutivos;
- 2.- Eliminando las hembras que presentaron intervalos anormalmente prolongados (>200 días) y que fueron consideradas hembras problemáticas.

Se consideró como potencial reproductivo de la especie el valor óptimo incluido dentro del rango del parámetro reproductivo.

Análisis estadístico

Las comparaciones estadísticas entre los valores promedios de los diferentes parámetros reproductivos fueron realizadas utilizando el test de análisis de varianza de dos colas. Las diferencias estadísticas entre grupos fueron determinadas por el test de Least Square Means. Los análisis estadísticos fueron llevados a cabo utilizando el paquete estadístico Statistical Analysis System (SAS Institute Inc., 1984). Las diferencias con valores de probabilidad de 0.05 o menor fueron consideradas significativas. Los valores fueron presentados en términos de promedio \pm desviación estándar (S.D.).

Resultados y Discusión

Durante el periodo de estudio se observaron 53 partos de 21 hembras diferentes en la explotación experimental de Belém y 14 partos de 6 hembras diferentes en la explotación experimental de Iquitos. La Figura 1 muestra la demografía y los eventos reproductivos acumulados, respectivamente, del zoocriadero de pécari de collar en Belém durante periodo comprendido entre mayo de 1998 y agosto de 2003. Después de un periodo de dos años, animales que provenían de la selva lograron llevar un buen rendimiento reproductivo. De esta forma, y teniendo en cuenta que el rendimiento reproductivo puede ser considerado como un

indicio de adaptación del animal a su entorno (Clutton-Brock, 1991), podríamos afirmar que los pecaríes de collar silvestres lograron adaptarse a las nuevas condiciones en cautividad.

Tal y como muestra la Figura 2, los partos observados en la explotación de Belém se distribuyeron de forma homogénea a lo largo del año. Estos datos apoyan la información aportada por Henry y Dubost, (1990), Gottdenker and Bodmer (1998) y Silva et al. (2002) en la que determinaban la falta de estacionalidad del pécari de collar en la región del noreste amazónico.

En la Tabla 1 se muestran los valores reproductivos medios observados en los animales de los zoocriaderos en Iquitos y de Belém. En la Tabla 2 se muestran los valores óptimos observados en ambos zoocriaderos. Estos valores dan una visión general del potencial reproductivo que el pécari de collar puede alcanzar en cautividad. Cabe destacar que en ninguna de las explotaciones se realizó ningún tipo de manejo reproductivo, con lo que cabe la posibilidad de que estos parámetros puedan ser mejorados.

Debido al reducido número de hembras adultas en el caso de la explotación de Iquitos ($n=6$), el análisis de este Capítulo se basó en los parámetros obtenidos de los animales de Belém ($n=21$).

La primera monta fértil se produjo a una media de 475 días de edad ($n=19$) y el primer parto a los 615 días. Las edades mínimas registradas por Nogueira-Filho and Lavorenti (1997) para la primera fecundación son 241 días. Este mismo autor reporta un primer parto a la edad de 381 días. En la Figura 3 se muestran las edades al primer parto de los pecaríes en relación con la generación a la que pertenecían. Las hembras que tuvieron el primer parto en el año 2002 parieron por primera vez antes que las hembras de anteriores generaciones. No obstante, posiblemente debido al reducido tamaño de muestra las diferencias no son significativas. Se observa que las nuevas generaciones de pécari de collar tienden a acortar el inicio de la vida reproductiva (hay animales de la 4^a generación que a los 8 meses presentaron su primera monta

fértil), llegando a presentar la primera monta fértil a una edad similar a la del cerdo doméstico (Gordon, 1997) y a los valores aportados por Nogueira-Filho and Lavorenti (1997). Es posible que las nuevas generaciones mejoren el grado de adaptación a los sistemas de explotación respecto a sus padres socializados ya a partir de la segunda generación (Smythe y Brown de Guanti, 1995), mejorando en último término los parámetros reproductivos.

La prolificidad media fue de 1.89 crías por camada ($n=53$), con la observación de un único parto 3 crías. Anteriores estudios del animal en cautividad y en estado salvaje reportan un tamaño de camada del pécari de collar entre 1.65 y 2.00 crías por hembra gestante (Lochmiller et al., 1984; Hellgren et al., 1985; Nogueira-Filho and Lavorenti, 1997; Sowls, 1997; Gottdenker y Bodmer, 1998). A pesar de que la proporción de hembras nacidas es mayor, no se presentaron diferencias significativas.

El intervalo medio entre partos fue de 179 días ($n=32$). Anteriores estudios del animal en cautividad y en estado salvaje estiman el intervalo entre partos entre 203 y 261 días (Nogueira-Filho and Lavorenti, 1997; Gottdenker y Bodmer, 1998). Teniendo en cuenta que el periodo de gestación es de 138 días (Capítulo 4 y 5), el intervalo medio de parto-concepción estimado fue de 41 días ($n=32$). Gottdenker y Bodmer (1998) estimaron el intervalo promedio parto-concepción en estado salvaje en 129 días para el pécari de collar en estado salvaje de la Amazonía peruana. Se consideró como anormales aquellos intervalos entre partos superiores a 200 días. Después de eliminar 10 datos que anormales (que correspondían a 4 hembras), el intervalo entre partos se redujo a 155 días de media ($n=22$) y consecuentemente el intervalo parto-concepción estimado fue de 17 días ($n=22$). Cabe destacar que el intervalo entre partos y parto-concepción fue significativamente mayor en Iquitos respecto a Belém.

La presencia de celo post-parto fértil se observó a los 8.6 días de media tras el parto ($n=18$). La aparición del celo post-parto se produjo de forma espontánea sin necesidad de separar las madres

de sus crías. Cuatro hembras fueron montadas el día 5-6 de post-parto. Sowls (1984) en anteriores estudios observó que la cópula podría ser efectiva cuando ésta tuviera lugar entre los 6 y 16 días después del parto siempre que se realizara un destete previo de las crías. En nuestro estudio, el 81.25% de las hembras estudiadas presentaron celo post-parto, el 50% de éstas fueron montadas en este celo post-parto y el 33% resultaron gestantes sin poner en práctica ningún sistema de destete.

La producción media por hembra y año fue de 4.44 crías por hembra y año. Se observó una hembra que presentó una producción de 5.95 crías por hembra y año como media de sus 10 partos.

Los parámetros reproductivos anteriormente analizados fueron extraídos de los datos de hembras que tuvieron como mínimo dos partos consecutivos. No obstante, se observó que el porcentaje de hembras adultas que no tuvieron parto en el zoocriadero de Belém fue de 18.75% (n=6). Debido a la configuración de los grupos de pécari de collar, se da la circunstancia que dentro de la unidad reproductiva (compuesta generalmente por 3 hembras y 1 macho), se observa que simultáneamente existen tres niveles de eficiencia reproductiva: a) hembras que se reproducen de forma constante, b) hembras que se reproducen de forma esporádica, c) hembras que nunca se reproducen. Debido a las condiciones de confinamiento y a las características etológicas de la especie estos datos es posible la existencia de un efecto inhibitorio de la eficacia reproductiva debido a la fuerte naturaleza jerárquica de la especie. Estos datos sugieren que se desconoce en tamaño de grupo o unidad reproductiva ideal. Esta suposición está apoyada por el hecho de que hembras que en un principio no se reproducían, al retirar del grupo las hembras que sí lo hacían, quedaron gestantes. No obstante, es necesario realizar nuevos estudios para confirmar esta hipótesis y definir el tamaño ideal de unidad reproductiva en términos de productividad.

Cabe destacar que en el tiempo que duró el estudio no se puso en práctica ninguna

modalidad de destete. Diversos autores (Rojanasthien et al., 1987; Quesnel and Prunier, 1995) han demostrado que en cerdo doméstico lactante, a pesar de que se observe foliculogénesis, los folículos no alcanzan el tamaño ovulatorio, con lo que la ovulación no llega a término. De esta forma, es posible que la instauración de sistema de destete precoz avance la ovulación de estas hembras y con ello se acorte el periodo parto-concepción y en último término la productividad del pécari de collar.

Este estudio muestra que el pécari de collar mantenido en cautividad y sin ser sometido a programas de manejo reproductivo, presenta unos parámetros reproductivos interesantes en términos de productividad y en algunos casos superiores a los que se habían descrito hasta la fecha. Los resultados de este estudio sugieren que el pécari de collar mantenido en condiciones de cautividad presenta una productividad reproductiva interesante para el desarrollo zootécnico de esta especie en la Amazonía.

Agradecimientos

Este estudio no se podría llevar a cabo sin la ayuda de Carlos Cornejo y BIOAM-Diversidad Amazónica y de la estación experimental EMBRAPA de Belém al permitirnos disponer de los animales experimentales. Igualmente agradecemos la colaboración de I.V.I.T.A-Iquitos y de U.F.P.A. en la colección de datos. También queremos agradecer a la Unión Europea (Research for the Development, INCO-DEV; Fifth Framework Programme; contract nº: ICA4-CT-2001-10045) y al Ministerio Español de Ciencia y Tecnología (MCYT; AGL2001-4961-E) por la financiación al proyecto.

Referencias

- Clutton-Brock, T.H. (1991) *The evolution of parenteral care*. Princeton: Princeton Univ. Press, 352 pp.
- Emmons, L.H. (1990). *Neotropical rainforest mammals: A field guide*. Univ. of Chicago Press, Chicago, 281 pp.
- Gordon, I. (1997). *Controlled reproduction in pigs (III)*. Cap International, New York.

- Gottdenker, N. and Bodmer, R.E. (1998). Reproduction and productivity of white-lipped and collared peccaries in the Peruvian Amazon. *J. Zool. Lond.*, 245: 423-430.
- Hellgren, E.C., Syntzke, D.R., Oldenberg, P.W. and Guthery, F. S. (1995). Demography of a collared peccary population in South Texas. *J. Wildl. Manage*, 59: 153-163.
- Henry, O. and Dubost, G. (1990). Premiers resultants sur la saisonnalité de la reproduction des mammifères Guyanais. En : Gestation de l'Ecosystème Forestier et Aménagement e l'Espace Régional. Congrès SEPANGUY, Guyana, Cayenne, p.161-166.
- Lahm, S.A. (1993). Utilization of forest resources and local variation of wildlife populations in northeastern Gabon. En: Tropical forests, people and food: Biocultural interactions and applications to development. Hladik, C.M., Hladik, A., Linares, O.F., Pagezy, H., Semple, A. and Hadley, M.N, p. 213-226.
- Moreira, J.R. and MacDonald, D.W. (1997). Técnicas de manejo de capivaras e outros grandes roedores na Amazônia. En Manejo e Conservação de Vida Silvestre no Brasil. Organizadores – Claudio Valladares-Padua, Richard E. Bodmer; organizador associado – Laury Cullen Jr. – Brasilia, D.F.: CNPq/Belém, PA: Sociedade Civil Mamirauá, p. 186-213.
- Nogueira-Filho, S.L. and Lavorenti, A. (1997). O Manejo do caititu (*Tayassu Tajacu*) e do queixada (*Tayassu Pecari*) em cativeiro. En: Manejo e Conservação de Vida Silvestre no Brasil. 1 ed. Belém/PA-Brasília/DF: Mamirauá-CNPq, p. 285.
- Quesnel, H. and Prunier, A. (1995). Endocrine bases of lactational anoestrus in the sow. *Reprod. Nutr. Dev.*, 35(4):395-414.
- Redford, K.H. (1993). Hunting in neotropical forests: A subsidy from Nature. En Tropical forests, people and food: Biocultural interactions and applications to development. Hladik, C.M., Hladik, A., Linares, O.F., Pagezy, H., Semple, A. and Hadley, M., p. 227-246.
- Redford, K.H. and Robinson, J.G. (1991). Subsistence and commercial uses of wildlife in Latin America. pp. 6-23. En Neotropical wildlife use and conservation. Robinson, J.G., y Redford, K.H. (eds). The University of Chicago Press, Chicago, 520 p.
- Rojanasthien, S., Einarsson, S. and Settergren, I. (1987). Follicular development in lactating, post-weaning and anoestrus primiparous sows. *Acta Vet Scand*, 28:421-427.
- Silva, J.V., Cardoso, D., Guimaraes, D.A., Albuquerque, N., Le Pendú, Y. and Ohashi, O. (2002). Biologia reproductiva de fêmeas de caititu (*Tayassu tajacu*) criadas em cativerio na Amazônia. *Revista Brasileira de Reprodução Animal Suppl.*, 5:180-182.
- Smythe, N. and Brown de la Guanti, O. (1995). La domesticación de la paca (*Agouti pacificus*). Guía de Conservación # 26. FAO, Roma, Itália. 95 p.
- Sowls, L.K. (1984). The Peccaries. The University of Arizona Press, Tucson.
- Sowls, L.K. (1997). Javelines and other Peccaries: The biology, management and use. College Station. Texas A. and M. University Press, Texas, p. 86-104.

Figura 1: Demografia del zoocriadero de pécarí de collar en la explotación de Belém durante periodo comprendido entre mayo de 1998 y diciembre de 2003.

Figure 1: Demography of a collared peccary exploitation in the exploitation of Belém, during the period between May '98 and December '03.

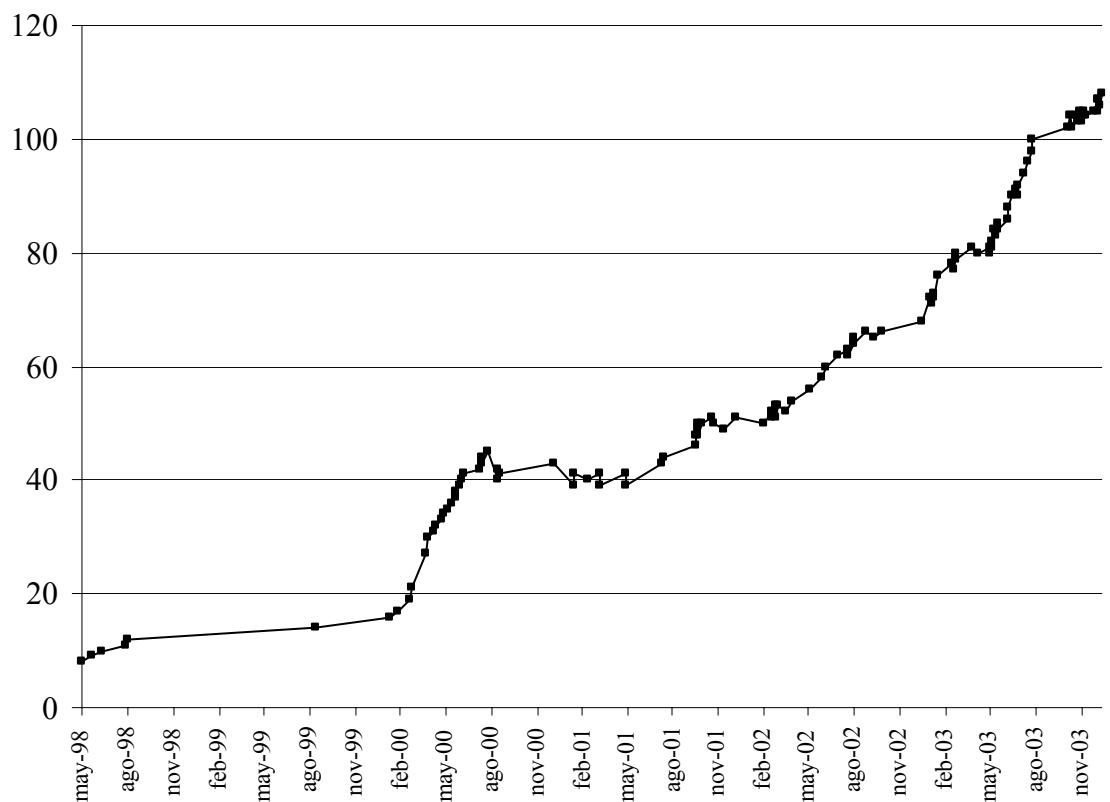


Figura 2: Distribución de partos acumulados a lo largo del año en la explotación de Belém (n=53).

Figure 2: Distribution of cumulated parturitions year along in the exploitation of Belém (n=53).

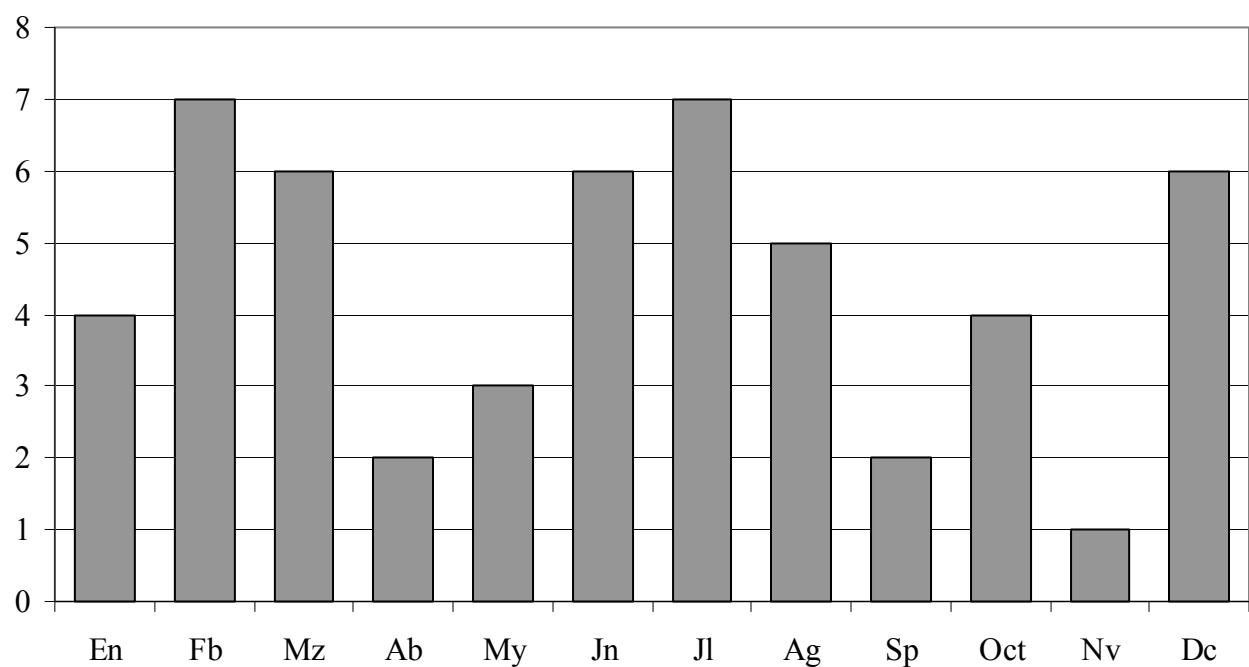


Figura 3: Edad al primer parto de las hembras de pécari de collar de la explotación de Belém en relación con el número de generación a la que pertenecían.

Figure 3: Age of first parturition of collared peccary females in the exploitation of Belém, according to the generation.

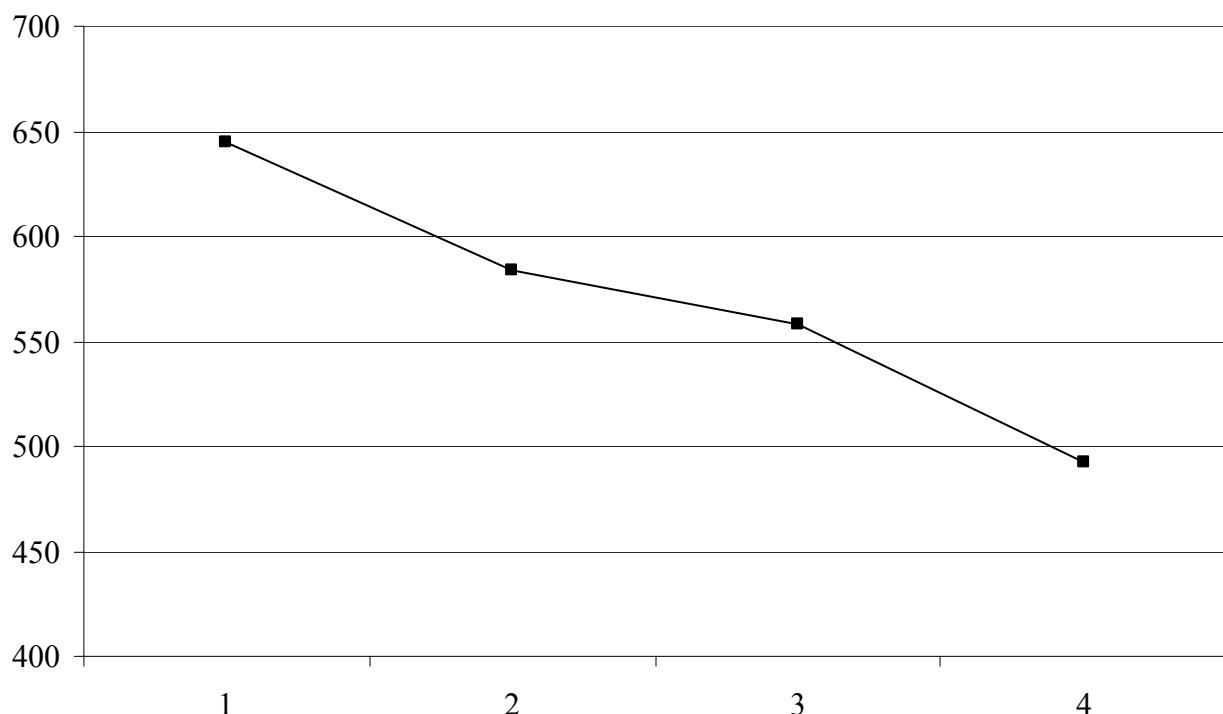


Tabla 1: Parámetros reproductivos del pécari de collar comparando los zoocriaderos de Belém (n=26) y de Iquitos (n=6).

Table 1: Reproductive parameters of collared peccary, comparing the exploitation of Belém (n=26) and Iquitos (n=6).

| Parámetros reproductivos | Belém | Iquitos |
|---|------------------|------------------|
| Edad 1º parto (días) | 615 ± 290.9 | 521 ± 84.1 |
| Edad 1º parto (meses) | 20.5 ± 9.7 | 17.4 ± 2.8 |
| Edad 1º fecundación (días) | 475 ± 290.9 | 381 ± 84.1 |
| Edad 1º fecundación (meses) | 15.8 ± 9.7 | 12.7 ± 2.8 |
| Longitud del estro (días) | 4.22 ± 1.27 | |
| Longitud gestación (días) | 138.3 ± 5.3 | |
| Prolificidad | 1.89 ± 0.41 | 1.68 ± 0.49 |
| Machos / hembras (camada) | 0.46 / 0.54 | 0.52 / 0.48 |
| Celo post-parto (días) | 8.6 ± 2.4 | |
| Intérvalo entre partos (días) | 179.2 ± 55.6 a | 227 ± 82.6 b |
| IPP (excluyendo datos >200 días) (días) | 155.2 ± 15.0 a | 176 ± 21.2 b |
| IPC (días) | 39.3 ± 55.5 a | 87 ± 82.6 b |
| Partos / hembra / año (excluyendo datos >200 IPP) | 2.35 ± 0.43 | 2.1 ± 0.2 |
| Producción anual por hembra | 4.44 ± 1.8 crías | 3.34 ± 1.2 crías |

Los valores que aparecen en las filas con diferentes letras (a, b) son valores significativamente diferentes ($P<0.05$).
a, b Values appearing in rows with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

Tabla 2: Potencial reproductivo en base a los parámetros reproductivos recogidos en la Tabla 1.

Table 2: Reproductive potential based in the reproductive parameters of Table 1.

| Parámetros reproductivos | Belém | Iquitos |
|-----------------------------|---------------------|---------------------|
| Edad 1º fecundación | 241 días - 8 meses | 321 días - 11 meses |
| Edad 1º parto | 381 días - 13 meses | 461 días - 15 meses |
| Longitud gestación | 135 días | |
| Prolificidad | 2.33 | 2 |
| Celo post-parto | 5 días | |
| IPP | 143 días | 154 días |
| IPC | 5 días | 14 días |
| Celos parto-concepción | 1 | 1 |
| Partos / hembra / año | 2.55 | 2.37 |
| Producción anual por hembra | 5.95 crías | 4.34 crías |

DISCUSIÓN GENERAL

El presente estudio intenta aportar datos que permitan analizar la fisiología reproductiva y el potencial reproductivo del pécari de collar de la Amazonía. Con esa finalidad, el objetivo de este estudio es analizar, predecir en lo posible y diagnosticar gran parte de los sucesos reproductivos que se desarrollan en la hembra del pécari de collar desde el inicio de del ciclo estral hasta el parto, y del periodo que tiene lugar hasta la siguiente gestación.

En los Capítulos 1 y 2 se ha llevado a cabo el estudio de la anatomía funcional de los órganos genitales femeninos del pécari de collar y de sus cambios en relación con el estado reproductivo. En el primero de los capítulos se sugiere la relación de los diferentes hallazgos morfométricos y estructurales observados en la túnica mucosa de oviducto, cuernos, cuerpo y cuello uterino, y vagina con el estado reproductivo de la hembra de pécari de collar. Al igual que en cerdo doméstico, el útero del pécari de collar es bicornuado y se acompaña de un pequeño cuerpo uterino y un largo cuello uterino (Schwarze, 1970; Getty, 1982; Dyce et al., 2002). El largo cuello uterino, al igual que en el cerdo doméstico, se caracteriza por la presencia de pulvini cervicali, filas de prominencias de la mucosa que se proyectan en el lumen y ocluyen el canal cervical, mejorando de esta forma la protección de las estructuras fetales (Schwarze, 1984; Dyce et al., 2002). Al igual que en la mayoría de animales (Dellmann and Carithers, 1996), se observó una secreción mucosa ocluyendo el canal cervical de las hembras gestantes. El aumento de la secreción cervical en la hembra gestante puede ser debido a la influencia ejercida por la progesterona, y tiene como función evitar la entrada de material exógeno al útero a lo largo de la gestación (Mullins and Saacke, 1989).

Al igual que en cerdo doméstico (Kaeoket et al., 2001), la morfología de las glándulas endometriales varía en función de la fase del ciclo estral del pécari de collar. Las hembras gestantes y no gestantes en fase luteal mostraron

una mayor hiperplasia con mayor ramificación de las glándulas endometriales. Estos cambios posiblemente sean debido a la influencia hormonal de los estrógenos y la progesterona que preparan la implantación uterina y la formación de la placenta (Priedkalns, 1987).

De forma similar a la cerda (Morton and Rankin, 1969), el pécari de collar presentó diferentes características del epitelio vaginal en función del estado sexual de la hembra. De esta forma, al igual que en cerdo, el grosor del epitelio vaginal de hembras en fase luteal es menor al de hembras en fase folicular. Este hallazgo sugiere que la citología vaginal puede constituirse, tal y como se confirma en el Capítulo 3, en un método diagnóstico de la fase sexual del pécari de collar.

El pécari de collar en fase folicular presenta un número medio de 30.4 folículos antrales, de los que 5.2 folículos son antrales grandes. Este hecho sugiere la existencia de una ola folicular que implica el crecimiento sincrónico de un grupo de folículos.

Las hembras de pécari de collar presentan dos tipos de CL: cíclicos y de gestación. Los CL de gestación son de mayor volumen que los cíclicos. Al igual que en el cerdo (Murphy, 2000), existen dos poblaciones de células luteales: pequeñas y grandes. Es posible que la diferencia de volumen luteal existente entre hembras gestantes y hembras en estado luteal sea la hipertrofia de las células luteales durante la gestación. Esta hipertrofia luteal del CL de hembras gestantes puede ser la responsable de las elevadas concentraciones de progesterona sérica que se observan a lo largo de la gestación del pécari de collar (capítulo 5).

El número medio de CL observados por hembra, indicio de la tasa ovulatoria (Cahill et al., 1979), es de 2.3 ± 0.6 folículos. La prolificidad observada en el pécari de collar fue de 1.9 fetos o neonatos por gestación (Capítulos 1, 4, 5 y 7). Van Aarde & Skinner, (1986) definieron la mortalidad ovular como la diferencia entre el

número de CL y los embriones o fetos observados por gestación. De esta forma, el pécari de collar presenta una mortalidad ovular baja de 0.4 ± 0.6 oocitos o embriones por gestación.

El examen de las células del epitelio vaginal y la apariencia de los genitales externos son técnicas que proporcionan información con rapidez sobre el estado sexual de las hembras (Denenberg et al., 1964; Kirkpatrick, 1980; Mayor et al., 2003), y son técnicas que permiten su aplicabilidad el manejo de la especie en cautividad por parte del poblador rural amazónico. En el capítulo 3 se ha evaluado la eficacia del estudio de los cambios en las características de los genitales externos y de la citología vaginal como método diagnóstico del estro y del periodo de receptividad sexual. Nuestros hallazgos sugieren que ambas pruebas diagnósticas pueden ser consideradas como indicadores útiles de la fase de estro y del periodo de receptividad sexual de la hembra de pécari de collar. Para analizar su efectividad fue necesario correlacionar las observaciones con el perfil hormonal de 17β -estradiol. Basándonos en nuestros hallazgos, hemos observado que el examen de los genitales externos presentó una precisión del 83.9%, y el estudio de los cambios de las células del epitelio vaginal mostró una precisión del 83.7%.

La hembra de pécari de collar en fase de estro presenta unos labios vulvares rojizos y tumefactos, y presencia de moco vaginal fluido y translúcido. La apariencia rojiza y la tumefacción de los genitales externos se prolongó durante 4 días, y la presencia de moco vaginal durante 2.5 días. El valor predictivo positivo de este método diagnóstico fue del 88.9%. No obstante, tal y como hemos observado en el Capítulo 6, esta prueba diagnóstica no es fiable para predecir el celo post-parto debido a que la agresión que supone el parto provoca que no exista un evidente patrón de cambio en la apariencia genital externa.

La presencia de células superficiales en una proporción mayor al 40% y de células eosinófilas (superficiales e intermedias) en proporciones superiores al 60% en la citología vaginal, puede

ser considerado como indicador de estro en el pécari de collar (Capítulos 3 y 6). El principio implicado en el patrón de cambio de los signos de los genitales externos y de la citología vaginal se basa en los niveles variables de estrógenos y progesterona a lo largo del ciclo estral (Kirkpatrick, 1980; McDonald, 1980).

La receptividad sexual por parte de la hembra de pécari de collar se produjo 1 ó 2 días después del pico de estrógenos. El día de la monta, los genitales externos se observaron rosáceos, ligeramente tumefactos y se evidenció la presencia de abundante moco vaginal. El periodo de receptividad sexual de monta se caracterizó por un patrón de células del epitelio vaginal con unos valores muy homogéneos en todas sus líneas celulares, con lo que no observó la predominancia de ningún tipo celular del epitelio vaginal.

La presencia del tapón vaginal, como indicio de la monta, fue observada únicamente en dos ocasiones. Es posible que la baja frecuencia de encuentro del tapón vaginal sea debido a que la hembra de pécari de collar, tal y como observó Sowls (1997), lo elimina rápidamente, o bien debido a que, al igual que en el caso de algunos roedores, el tapón se localiza tan profundo que puede no ser detectado con una simple inspección (Voipio and Nevalainen, 1998).

El diagnóstico temprano de gestación y el establecimiento de la edad gestacional de las hembras es esencial para realizar un manejo correcto de las hembras gestantes y para realizar un manejo de puerperio adecuado. En el Capítulo 4 se confirma el potencial de la ecografía como herramienta de trabajo para el manejo reproductivo del pécari de collar, especialmente en su práctica sobre el diagnóstico temprano de gestación y la predicción de la edad gestacional del feto en base a su morfometría.

El diagnóstico temprano presuntivo (anterior a la detección del embrión) en el pécari de collar, tal y como se ha comprobado en otras especies, (Griffin and Ginther, 1991, Kastelic et al., 1991) presenta una baja sensibilidad y consecuentemente, debería ser confirmado

posteriormente mediante la detección del concepto. La escasa efectividad del diagnóstico presuntivo se debe a la presencia fisiológica de pequeñas cantidades de fluido intrauterino en hembras no gestantes que puede ser fácilmente confundido con la vesícula embrionaria (Kastelic et al., 1991).

El diagnóstico definitivo más temprano, basado en la detección del embrión, se realizó el día 18 de gestación. Sin embargo, el diagnóstico definitivo se realizó como promedio a los 22 días de gestación. La sensibilidad del diagnóstico de gestación fue de 100% el día 28 de gestación y la especificidad alcanzó el 100% el día 24 de gestación. A nivel práctico, podríamos afirmar que en pécari de collar el diagnóstico ecográfico de gestación presenta una buena sensibilidad y especificidad a partir del día 26 de gestación.

En el Capítulo 4 se realizó la descripción y la toma de medidas del desarrollo fetal a lo largo de la gestación. Las medidas que presentaron una mayor correlación con la edad gestacional fueron la longitud total y la fetometría torácica. Sin embargo, debido a la dificultad de obtener datos de la fetometría torácica antes del día 40 de gestación, se consideró que la longitud total del embrión o feto es el parámetro más eficaz para predecir con mayor precisión la edad gestacional del embrión.

En el Capítulo 5 se estudió la dinámica de los perfiles hormonales de progesterona y 17β -estradiol durante la gestación del pécari de collar. Los niveles séricos de progesterona se incrementaron a partir del día 4 de gestación. A partir del día 30 de gestación los niveles elevados de progesterona no mostraron fluctuaciones significativas a lo largo de la gestación. El perfil hormonal de la hembra de pécari de collar gestante observado en este estudio concuerda con los datos aportados por Hellgren et al. (1985). Las elevadas concentraciones de progesterona sérica a lo largo de la gestación, posiblemente debido al incremento del volumen luteal de las hembras gestantes (Capítulo 2), sugieren que la gestación del pécari de collar, al igual que en cerdo doméstico (Morgan et al., 1987; Love et al.,

1993) está en todo momento sustentada por la actividad ovárica. Esta hipótesis está reforzada por los hallazgos observados en el Capítulo 2, en el cual se describe que las células luteales de CL activos presentaron una intensa actividad esteroidea (indicada por el intenso marcaje del enzima 3β -HSD en células luteales) en ovarios de hembras en estado avanzado de gestación.

De forma similar al cerdo doméstico (Vos et al., 1999), la hembra gestante de pécari de collar presenta un marcado incremento de los niveles de 17β -estradiol entre los días 16 y 30 de gestación, que se mantienen elevados a lo largo de gestación. En hembras no gestantes esta hormona presenta niveles residuales entre picos de estradiol (Capítulo 6). Este hecho apoya la aplicabilidad de los niveles séricos de 17β -estradiol como metodología diagnóstica de gestación (Guthrie and Deaver, 1979; Saba and Hattersley, 1981; Cunningham, 1982). No obstante, debido a que las concentraciones de 17β -estradiol no son considerablemente elevadas hasta los 30 días de gestación, ésta metodología puede no ser precisa para el diagnóstico precoz de gestación. Por otro lado, existe la posibilidad de falsos diagnósticos positivos debido al aumento de 17β -estradiol durante el proestro de hembras no gestantes (Capítulo 3; Guthrie and Deaver, 1979). Sin embargo, mediante el análisis de la progesterona sérica, la citología vaginal y la observación de los genitales externos podemos definir la fase sexual del ciclo estral de la hembra. De esta forma, el trabajo en conjunto de estas metodologías puede convertirse en un método eficaz para determinar el estado reproductivo de la hembra. No obstante, es necesario realizar estudios para confirmar esta hipótesis de trabajo.

Si bien, la aplicación de técnicas hormonales invasivas en animales mantenidos en cautividad permite completar la información biológica fundamental de especies silvestres; estas metodologías no parecen ser tan adecuadas para el estudio de animales en condiciones naturales. El manejo de individuos de vida libre es complicado debido a que la oportunidad de toma de muestra y el seguimiento del animal son limitados. A este efecto sería recomendable

estandarizar pruebas diagnósticas de gestación menos invasivas y sin necesitar capturar a los animales. Durante más de 25 años, laboratorios independientes han sido pioneros en la estandarización de técnicas para medir las concentraciones hormonales en orina y heces (Hodges et al., 1979; Lasley and Kirkpatrick, 1991; Wasser et al., 1996; Schwarzenberger et al., 1998; Radcliffe et al., 2000; Moreira et al., 2001; Hodges, 2001). Los metabolitos de las hormonas excretados vía fecal o urinario pueden presentar una buena correlación con los valores sanguíneos de la hormona, teniendo en cuenta el supuesto retraso en la excreta de los mismos. Sin embargo, cabe destacar que la detección de los metabolitos hormonales depende de la excreta y, en último término, del metabolismo de la especie estudiada. La ventaja obvia del análisis hormonal vía orina o heces es la no necesidad de manejar al animal, evitando las reacciones fisiológicas que supone el estrés. Desde el punto de vista de estudios realizados en cautividad, la principal utilidad de estas técnicas consiste en la comprensión del fracaso reproductivo de especies mantenidas en cautividad; mientras, desde el punto de vista de estudios realizados en animales en sus hábitats naturales, la evaluación del estado endocrino de estos individuos puede permitir correlacionar el estado fisiológico del animal con su medio ambiente natural (Puahzhenti and Wildt, 2004). Consecuentemente, sería aconsejable desarrollar técnicas que permitan la determinación hormonal de progesterona y estrógenos en heces u orina en el pécari de collar.

En la hembra gestante de pécari de collar se ha observado un patrón de cambio del epitelio vaginal. Este patrón de cambio del epitelio vaginal puede ser debido a la síntesis ovárica de estrógenos (Robel, 1993). En los exámenes histológicos de ovarios de hembras gestantes (Capítulo 2) se observó que la hembra de pécari de collar, al contrario de la cerda y al igual que en la vaca (Guibault et al., 1986; Pierson and Ginther, 1986; Taylor and Rajamahendran, 1991) presenta un crecimiento sincrónico de grupos de folículos en los que se observa dominancia de unos folículos sobre los otros. Este crecimiento folicular observado en el ovario de hembra

gestante puede ser responsable de parte de la síntesis ovárica de estrógenos durante la gestación del pécari de collar.

En la última fase de gestación se produce un incremento de los niveles de 17β -estradiol hasta llegar a niveles máximos el día del parto, y un descenso de los niveles séricos de progesterona posiblemente debido, tal y como se ha demostrado en cerdo (Quesnel and Prunier, 1995), a la regresión del cuerpo lúteo que 2 ó 3 días después del parto se encuentra completamente inactivo. La finalidad de la variación de la ratio estrógeno/progesterona es facilitar la contractibilidad del útero, permitiendo el inicio y asegurar la normalidad del parto (Maltier et al., 1993).

La presencia de celo post-parto y el desarrollo de una nueva gestación constituyen un factor positivo para la especie pues garantiza una mayor productividad y una rápida reposición del tamaño poblacional del grupo. En la mayoría de mamíferos, el parto está seguido de un periodo post-parto anovulatorio de duración variable que tiende a prolongarse con la lactación (Peters and Lamming, 1990). El periodo de anestro se debe al retraso de la reactivación de la actividad del eje hipotálamo-pituitaria-ovario causado por la hormona prolactina, cuyos niveles aumentan en la lactación (Quesnel and Prunier, 1995). No obstante, en pécari de collar hemos observado la existencia de celos fértiles durante el periodo post-parto temprano. La presencia de este celo post-parto podría ser el resultado del pico de estrógenos que tiene lugar en la última fase de gestación, como ocurre en el cerdo doméstico (Holness and Hunter, 1975).

La aceptación de monta a los 8.8 días post-parto en el 45% de las hembras y el desarrollo de gestación en el 30% de las hembras confirman que este celo post-parto puede ser ovulatorio y potencialmente fértil. Estos datos confirman las suposiciones de Sowls (1984 y 1997) y Low (1970). No obstante, en contraposición a lo observado por Sowls (1997), este celo puede ser ovulatorio sin necesidad de realizar un destete temprano. Por otro lado, según las estimaciones de Gottdenker y Bodmer (1998), el pécari de

collar de vida libre en la Amazonía peruana no aprovecha o no presenta este celo post-parto.

En el día 7 post-parto se observó un pico de 17β -estradiol sérico. Las concentraciones de progesterona sérica se incrementaron 4 días después del pico de 17β -estradiol. Si la hembra no quedó gestante, esta concentración volvió a niveles basales 23 días después del pico de 17β -estradiol. Si la hembra quedó gestante las concentraciones de progesterona se mantuvieron en valores comprendidos entre los 20 y 60 ng/ml durante el periodo estimado de retorno de celo. Durante el celo post-parto del pécari de collar la citología vaginal mostró una predominancia de células superficiales e intermedias que se mantuvo durante 3 días.

Al igual que en cerdo doméstico (Baldwin and Stabenfeldt, 1975; Prunier et al., 1993), en las hembras de pécari de collar que no presentaron celo post-parto y que probablemente se encontraban en situación de anestro lactacional, se observaron niveles bajos de progesterona y de 17β -estradiol. Es posible que la inhibición de la secreción de LH, causada en último término por la liberación endógena de péptidos opióceos (Barb et al., 1986; Mattioli et al., 1986) y por la prolactina (Booman et al., 1982), inactive el eje hipotálamo-pituitaria-ovario en esas hembras.

En el Capítulo 7 se analizan los valores reproductivos de la cría en cautividad en zoocriaderos de Belém (Estado de Pará, Brasil) y de Iquitos (Perú). Los partos observados en la explotación de Belém y de Iquitos se distribuyeron de forma homogénea a lo largo del año (Capítulos 1, 2 y 7), tanto en época seca como húmeda. Estos datos apoyan la información aportada por Henry y Dubost, (1990), Gottdenker and Bodmer (1998) y Da Silva et al. (2002) en la que determinaron la no estacionalidad del pécari de collar en la Amazonía.

La primera monta fértil se produjo a una media de 475 días de edad y el primer parto a los 615 días. Las edades mínimas registradas por Nogueira-Filho y Lavorenti (1997) para la primera fecundación son 241 días. Estos mismos

autores observan un primer parto a la edad de 381 días.

La longitud de la gestación fue de 138 días (Capítulos 4, 5 y 7). Este valor es similar al estimado por Gottdenker and Bodmer (1998) en la Amazonía peruana, y menor al observado en regiones semiáridas de Texas (141-151 días; Sowls, 1997; Lochmiller et al., 1984; Hellgren et al., 1985). La prolificidad observada de 1.9 neonatos por parto (Capítulos 1, 2, 4 y 7), es similar a la presentada en otros artículos (Sowls, 1997; Gottdenker and Bodmer, 1998; Nogueira-Filho and Lavorenti, 1997).

El intervalo medio entre partos fue de 179 días. Anteriores estudios estiman el intervalo entre partos entre 203 y 261 días (Nogueira-Filho and Lavorenti, 1997; Gottdenker y Bodmer, 1998). El intervalo medio de parto-concepción estimado fue de 41 días, menor al estimado por Gottdenker y Bodmer (1998). Se observó la presencia de celo post-parto a los 8 días de media tras el parto (Capítulos 6 y 7). Este hallazgo concuerda con Sowls (1984), quien en anteriores estudios observó que la cópula podría ser efectiva cuando ésta tuviera lugar entre los 6 y 16 días después del parto siempre que se realizara un destete previo de las crías. La producción media fue de 4.4 de crías por hembra y año.

El pécari de collar ha sido considerado una especie interesante para la cría en cautividad debido al hecho que presenta un corto ciclo reproductivo con varias camadas anuales y una rápida tasa de crecimiento similar a la de otros Suidos (Lochmiller et al., 1987; Dubost et al., 2003). Los estudios realizados en el pécari de collar mantenido en cautividad muestran que los parámetros reproductivos son más eficientes a los observados en otros estudios realizados en cautividad (Nogueira-Filho and Lavorenti, 1997; Sowls, 1997) o a estimaciones a partir de datos del animal en estado salvaje Gottdenker y Bodmer, 1998). De esta forma, y teniendo en cuenta que el evento reproductivo constituye el indicio de adaptación de un animal a su entorno, podríamos afirmar que los pecaríes de collar silvestres no sólo han logrado adaptarse a los sistemas de explotación, sino que han mejorado

considerablemente la eficacia reproductiva respecto a los valores reproductivos del animal observados en estado libre (Gottdenker and Bodmer, 1998).

No obstante, existe un porcentaje importante de hembras que no se está reproduciendo en las instalaciones de estudio. Éste es un factor importante a la hora de maximizar la productividad de la explotación de pécari de collar. Como hemos podido observar, parece existir un efecto inhibitorio de la eficacia reproductiva posiblemente debido a la fuerte naturaleza jerárquica de la especie. De esta forma, es necesario realizar estudios que interrelacionen la estructura social y la eficacia reproductiva de la especies para poder determinar el tamaño de grupo o unidad reproductiva ideal.

Basándonos en la información que se deriva de este estudio reproductivo, el pécari de collar aparece como un candidato con un gran potencial productivo para el desarrollo de sistemas de cría de animales silvestres de la Amazonía.

CONCLUSIONES

Las conclusiones que se derivan de este estudio son las siguientes:

1. La hembra de pécarí de collar en estado salvaje en el noreste de la Amazonía peruana, presenta cambios morfométricos y estructurales de la túnica mucosa de oviducto, cuernos y cuello uterino, vagina, y ovario en función del estado reproductivo.

The wild collared peccary female shows different morphometric and structural features in the tunica mucosa of the uterine tubes, uterine horns, cervix and vaginal epithelium, and ovary in accordance with the reproductive state of the female.

2. El examen citológico de la vagina y de los signos externos de los genitales son métodos diagnósticos útiles de detección del periodo de estro y de receptividad sexual de la hembra de pécarí de collar mantenida en cautividad en la Amazonía.

The features of external genitalia and vaginal cytology are useful indicators of oestrus and period of sexual receptivity in the female of the collared peccary maintained in captivity in the Eastern Amazon.

3. La ecografía transabdominal es una herramienta útil como método diagnóstico precoz de la gestación y como método predictor de la edad gestacional del feto en el pécarí de collar.

Transabdominal ultrasonography is an efficient tool for the early pregnancy diagnosis and prediction of gestational age in the collared peccary.

4. Se ha estudiado la dinámica de los perfiles séricos de progesterona y 17β -estradiol durante la gestación del pécarí de collar mantenido en cautividad en la Amazonía.

Progesterone and oestradiol- 17β profiles in the pregnant female of the collared peccary maintained in captivity in the Eastern Amazon have been monitored.

5. La hembra lactante de pécarí de collar mantenida en cautividad en la Amazonía puede presentar celo ovulatorio y fértil en el periodo de post-parto temprano.

The lactating collared peccary female can show an ovulatory and fertile post-partum oestrus at the early post-partum period.

CONSIDERACIONES ADICIONALES

Adicionalmente, y aunque no en relación directa con el tema de estudio, creemos oportuno resaltar diversos aspectos relativos a la cría en cautividad del pécari de collar que pueden afectar al potencial reproductivo de la especie y al desarrollo y extensión de su zoocría.

Aspectos sanitarios del pécari de collar mantenido en cautividad

Una de las ventajas de la cría de especies silvestres en países tropicales es la rusticidad de estas especies locales respecto a animales domésticos importados, y la supuesta mayor resistencia a enfermedades (Peters, 1988; Chardonnet et al., 1995; Hardouin and Thys, 1997). En esta línea, en los individuos de pécari de collar de las explotaciones que participaron de este estudio no se diagnosticaron causas de muerte aparentes por causas infecciosas (ver Anexo III), y la presencia de parásitos no fue determinante en ninguna de las bajas (ver Anexo II), a pesar de detectarse en algunos individuos cargas parasitarias importantes. Los análisis serológicos tampoco permitieron detectar la presencia o el contacto con enfermedades infecciosas frecuentes en los animales domésticos (ver Anexo IV). Igualmente, los parámetros hematológicos (ver Anexo II) no mostraron signos de enfermedad al ser comparados con los parámetros de la especie de otros estudios (Lochmiller et al., 1984).

En el Anexo III se observa que los individuos adultos fueron el grupo de individuos que mostró una menor tasa de mortalidad (14.3% respecto al total de muertes), siendo el mal manejo alimentario la principal causa de muertes de adultos (31.2%). Es posible que, tal y como hemos comentado, el elevado grado de rusticidad evitara la presencia de enfermedades infecciosas y parasitarias en las poblaciones de pécari de collar adulto mantenido en cautividad (Sowls, 1997). Esta baja tasa de mortalidad de individuos adultos nos permite ser optimistas en cuanto a la capacidad de adaptación de la especie a las condiciones de cautividad y en cuanto a su

resistencia natural a enfermedades infecciosas y parasitarias.

Sin embargo, la mayor parte de las muertes observadas en la explotación afectó a los neonatos (62.6% respecto al total de muertes). La tasa de mortalidad neonatal respecto a la población total de neonatos fue del 33.3% en Belém y del 8.7% en Iquitos. Consecuentemente, las tasas de supervivencia ($1 - \text{Mortalidad neonatal}$) fueron del 66.6% y 91.3% en Belém e Iquitos, respectivamente. Las principales causas de mortalidad neonatal fueron debidas al comportamiento materno-filial: abandono por parte de la madre (30.4%) y canibalismo (26.1%).

De esta forma, se observa que el estrés que sufren las hembras de pécari de collar en las explotaciones no se ve reflejado en los parámetros reproductivos directos, pero sí puede provocar perturbaciones que pueden ser causa de mortalidad neonatal durante las primeras semanas de vida de los lechones.

Teniendo en cuenta los parámetros reproductivos y la mortalidad de neonatos hasta las dos semanas de edad, periodo durante el cual puede considerarse que el neonato ya ha superado la etapa más crítica de su supervivencia, la Eficacia reproductiva (Producción anual de crías por hembra y año * Tasa de supervivencia neonatal) (Del Valle, 2002) es:

| | |
|----------|-----------------------------------|
| Iquitos: | 3.05 ± 1.2 crías (1.85-4.32) |
| Belém: | 2.96 ± 1.8 crías (2.25-4.33). |

Uno de los principales parámetros para mejorar la productividad de estos sistemas de zoocría es la mortalidad neonatal. Consecuentemente, se recomienda seguir estudiando las causas de esta mortalidad en animales jóvenes con el objetivo de establecer medidas de prevención que puedan mejorar la eficacia reproductiva del pécari de collar en cautividad.

Docilidad del pécari de collar

El pécari de collar en estado salvaje está considerado por los pobladores amazónicos como un animal agresivo. Esta percepción suele ser extrapolada a las poblaciones de esta especie criada en cautividad. Sin embargo, se sabe que desde la colonización de occidente las comunidades amazónicas criaron diversas especies de mamíferos nativos como mascotas, entre ellos el pécari de collar (Humboldt, 1820). Nuestra experiencia en el zoocriadero de Iquitos nos permite mostrar que animales destetados a los 30 días de edad y manejados adecuadamente responden positivamente al proceso de amansamiento. Por otro lado, la experiencia en el zoocriadero de Belém indica que individuos de pécari de collar que no han sido incluidos dentro de un proceso activo de domesticación se acostumbran a cierto tipo de manejo y el miedo al contacto humano desaparece gradualmente. Igualmente, es cierto que los animales silvestres no adaptados al sistema de zoocría suelen crecer con un instinto de miedo hacia el hombre, manifestándose en forma de huida, y cuando ésta no es posible, por una conducta agresiva que dificulta el manejo de los animales.

Durante el transcurso de los experimentos de este trabajo, se han llevado a cabo un manejo y manipulación del pécari de collar mediante contención física y sin necesidad de utilizar inmovilización con productos químicos (trasladados de animales de unas instalaciones a otras, variaciones en las proporciones de grupos de edad y de sexo, restricción del espacio disponible aumentando con ello la densidad de los animales, substitución de los alimentos comunes por otros, restricción del contacto social y sexual, y mayor contacto con el hombre). Las observaciones posteriores a cada uno de estos tipos de manejo muestran que las funciones fisiológicas aparentemente no se vieron afectadas y que el pécari de collar mantuvo, después de un periodo de adaptación, un buen rendimiento reproductivo.

Cualquier cambio de ambiente que exija del animal el reajuste de sus funciones y características corporales debe ser considerado

como un “estrés” (Cannon, 1935; Levine, 1985). Este proceso de reajuste temporal de un animal ante un cambio prolongado del medio se denomina aclimatación o adaptación (Levine, 1985; Broom and Johnson, 1993; Wan et al., 1994). Un estrés muy intenso puede llegar a determinar cambios irreversibles sobre las funciones y las características corporales, sobre las funciones fisiológicas (sobretodo la capacidad de reproducción del animal), llevándolo hasta la muerte (Broom and Johnson, 1993). Sin embargo, el pécari de collar ha mostrado una capacidad de adaptación rápida a los cambios ambientales. De esta forma, el grado de docilidad mostrado por el pécari de collar nos permite ser optimistas a la hora de plantear su incorporación a sistemas de zoocría.

Utilidad del pécari de collar

La importancia económica del pécari de collar dentro de los mercados locales, nacionales e internacionales ha favorecido un incremento del número de piezas abatidas por la caza. La zoocría puede erigirse como un sistema alternativo de producción de carne y cuero que permita alimentar los mercados existentes en algunas áreas de la Amazonía o de América Latina. De esta forma, la valorización del producto de la especie originado en zoocría puede ayudar a aliviar la presión de caza a la que se ve sometida esta especie.

Los productos derivados del pécari de collar son la carne y el cuero.

La carne de pécari de collar es una de las carnes silvestres más valoradas. En la región de la Amazonía peruana, ésta es vendida a un precio aproximado de 30 euros por animal y en zonas urbanas donde el consumo de carne silvestre presenta un valor agregado importante, en Brasil puede llegar a alcanzar precios de 7 US\$ por kg (Jori, comunicación personal).

Por otro lado, la carne procedente de animales de zoocría es capaz de garantizar los requerimientos sanitarios establecidos por los organismos competentes, evitando el riesgo de zoonosis y abasteciendo el mercado con un proyecto de mayor calidad sanitaria. Es obvio que la cría de

animales silvestres en cautividad presenta una mayor productividad por unidad de área que en condiciones silvestres (Del Valle, 2002). Consecuentemente, el desarrollo de la zoocría puede facilitar el abastecimiento del mercado de carne silvestre de forma regular y controlada. Por otra parte, permite también el mantenimiento de una oferta del producto, en detrimento de las fluctuaciones causadas por la escasez de piezas de caza en función de las condiciones climáticas o del declive de las poblaciones debido a la sobrecaza.

En esta línea, cabe destacar el aumento de la demografía en las ciudades amazónicas y la importancia del sector turístico emergente en esta región a como consumidor preferente de carne silvestre. Por lo tanto, la cría de esta especie puede constituirse como una actividad que permite satisfacer una demanda creciente, pudiendo consolidarse como fuente de proteína animal y de ingresos para los pobladores amazónicos.

Por otra parte, El cuero de pécarí es uno de los más valorados por la industria del cuero internacional, debido a su suavidad y durabilidad, dos cualidades que son difíciles de encontrar en un mismo cuero. Existe una demanda importante de los cueros de pécarí en Japón, Europa y EEUU. Perú es el único estado que está exportando cueros de pécarí con normalidad, produciendo un beneficio anual de 1.400.000 US\$ y con un valor total 4.250.000 US\$ en el sector internacional (Ojasti, 2000; Bodmer and Pezo, 1999).

Los cueros provenientes de animales de caza suelen presentar defectos causados por motivos sanitarios (ácaros y dermatitis) y por el sistema de sacrificio mediante la caza, ya que las marcas que dejan los proyectiles inutilizan gran parte de la superficie del cuero. De esta forma, el cuero de individuos criados en cautividad satisface con mayor eficiencia los mercados internacionales gracias al mayor control sanitario y a la minimización de las agresiones físicas que afectan al cuero, en comparación con los individuos criados en su medio ambiente original (Rengifo et al, 1996). Consecuentemente, el

cuero de especies silvestres provenientes de zoocría puede presentar un valor añadido que debería verse reflejado en los precios de compra del producto (Bodmer et al., 1997).

No obstante, la instauración de sistemas de zoocría podría derivar en un abuso en la extracción de animales del ecosistema natural para ser incluidos dentro de sistemas de zoocría, e incluso la venta de animales extraídos del medio natural como si éstos hubieran sido criados en cautividad. En este sentido, resulta fundamental establecer sistemas de control eficaces que permitan distinguir los productos procedentes de la zoocría de aquellos abastecidos por una caza ilegal, y evitar así posibles fraudes que puedan tener un impacto negativo en las poblaciones naturales de esta especie.

Costes de implementación de sistemas de zoocría de pécarí de collar

Debido a la precaria economía de la región, la experiencia del zoocriadero de Iquitos sirve de ejemplo para ilustrar que los costes de producción de la cría de pécarí de collar pueden ser significativamente bajos en comparación con otro tipo de producción de animales domésticos.

De esta forma, los costes que se derivan de los sistemas de zoocría de esta especie se caracterizan por:

- 1.- Bajo coste de implantación debido a instalaciones simples. La infraestructura de este tipo de zoocría es relativamente simple debido a la posibilidad de aprovechar madera del propio bosque. No obstante, al igual que los costes iniciales para construir la granja son mínimos, los costes de mantenimiento de las instalaciones son mayores debido al deterioro frecuente de los materiales.
- 2.- Bajo coste operacional debido a una escasa necesidad de mano de obra y a un simple manejo. Cabe destacar que el grado de docilidad facilita las prácticas de manejo, permitiendo en consecuencia una menor dedicación por parte del trabajador y una

menor necesidad de infraestructura. En esta línea, la presencia de individuos dóciles de pécari de collar en la explotación de Belém, permitió que un único trabajador pudiera ser responsable de 100 individuos de pécari de collar.

3.- Sistemas de alimentación basados en frutas, granos, tubérculos y subproductos, y opcionalmente complementada por ración concentrada. Se puede formular dietas fundamentadas en productos obtenidos de los propios campos de cultivos, pudiéndose utilizar incluso restos de alimentación humana. De esta forma, en el caso de explotaciones con un número limitado de animales (como es el caso del zoocriadero de Iquitos) el único gasto relativo a la alimentación consiste en el aporte de cereales y sales minerales. No obstante, en el caso de explotaciones mayores (como es el caso del zoocriadero de Belém), el elevado número de individuos dificulta las tareas de recolección y de almacenamiento de los alimentos. De esta forma, es necesaria una mayor inversión en la alimentación de los animales. Consecuentemente, es necesario estudiar raciones alimentarias económicas y con buenos índices de energía y proteína. En cualquier caso, si bien los costes de alimentación en cautividad son mucho mayores que en vida silvestre, la eficiencia de transformación de alimento en crecimiento también lo es.

Como complemento a los aspectos reproductivos, este estudio ha permitido resaltar que el pécari de collar presenta diversas cualidades biológicas que justifican su elección como especie útil para la producción de proteína animal en diversas áreas de la Amazonía y de América Latina. No obstante, es evidente que son necesarios otros estudios complementarios que permitan mejorar la productividad y su adaptación a los sistemas de producción. Tales estudios podrían orientarse a los siguientes campos:

- Mortalidad neonatal. Ésta es la principal causa de mortalidad observada en los zoocriaderos estudiados, llegando a un valor del 33.3%. Las causas principales se derivan del comportamiento materno-filial. Es importante estudiar qué factores generan dicha mortalidad e investigar las medidas preventivas necesarias para reducirla.
- Alimentación. En el caso de zoocriaderos con un elevado número de individuos no es factible la recolección de productos locales directamente del bosque. Consecuentemente, es necesario profundizar más en el desarrollo de una dieta equilibrada basada en productos locales que permita alimentar los animales a bajo coste.
- Tamaño ideal del grupo reproductor. Este estudio sugiere la existencia de un efecto inhibitorio de la eficacia reproductiva posiblemente debido a la fuerte naturaleza jerárquica de la especie. De esta forma, es necesario realizar estudios que interrelacionen la estructura social y la eficacia reproductiva de la especie, para poder determinar el tamaño de grupo o unidad reproductiva ideal.
- Para garantizar que la producción del pécari de collar pueda tener un impacto positivo en la conservación de esta especie, es importante investigar en el desarrollo de sistemas de identificación y control que permitan distinguir de forma eficaz, los productos derivados de la zoocría de aquellos procedentes de la caza ilegal.

Sin embargo, y a pesar de la escasa investigación de la cual ha sido objeto esta especie, el pécari de collar presenta en su estado actual de conocimiento, un gran potencial para ser incluido en sistemas de producción que permitan abastecer los crecientes mercados de carne y cuero de animales silvestres que se desarrollan en la Amazonía y en el resto de América Latina.

ANEXOS

ANEXO I

Parámetros hematológicos del pécari de collar (*Tayassu tajacu*) mantenido en cautividad en el zoocriadero de Iquitos (Perú)

Se colectó una muestra de sangre de 27 individuos adultos de pécari de collar mantenidos en cautividad, 15 machos y 12 hembras entre mayo y julio de 2003. Las muestras de sangre (2.0 ml) fueron colectadas en tubos con anticoagulante EDTA a través de la punción en las venas cefálica y safena evitando el uso de anestésicos. Los análisis hematológicos se realizaron en el laboratorio del Centro de Reproducción y Conservación de Primates, en la estación de Iquitos del I.V.I.T.A.- Instituto Veterinario de Investigaciones de Trópico y de Altura.

Tabla 1: Parámetros hematológicos de referencia de pécari de collar (n=27).

| Parámetros | <i>Tayassu tajacu</i> | |
|---|-----------------------|------------|
| | Promedio ± Desv.St. | Rangos |
| Eritrocitos ($\times 10^6/\text{ml}$) | 9.2 ± 1.75 | 6.31-12.35 |
| Hematocrito (%) | 44.5 ± 4.48 | 35-52 |
| Hemoglobina (g/100ml) | 16.7 ± 1.59 | 14.0-19.3 |
| VCM (fl) | 48.7 ± 3.01 | 42.1-55.4 |
| HCM (pg) | 17.9 ± 1.72 | 15.6-22.1 |
| MCHC (g/dl) | 35.6 ± 1.23 | 33.2-38.9 |
| Leucocitos ($\times 10^3/\text{ml}$) | 10.6 ± 2.06 | 7.0-15.2 |
| Neutrófilos (%) | 56.2 ± 7.6 | 41-69 |
| Neutrófilos ($\times 10^3/\text{ml}$) | 5.95 ± 0.80 | 4.35-7.13 |
| Linfocitos (%) | 35.5 ± 7.45 | 21-40 |
| Linfocitos ($\times 10^3/\text{ml}$) | 3.76 ± 0.79 | 2.23-4.24 |
| Eosinófilos (%) | 6.6 ± 4.28 | 2-14 |
| Eosinófilos ($\times 10^3/\text{ml}$) | 0.70 ± 0.45 | 0.21-1.48 |
| Monocitos (%) | 0 ± 0 | 0 |
| Monocitos ($\times 10^3/\text{ml}$) | 0 ± 0 | 0 |
| Basófilos (%) | 0 ± 0 | 0 |
| Basófilos ($\times 10^3/\text{ml}$) | 0 ± 0 | 0 |

Tabla 2: Parámetros hematológicos del pécari de collar en función del sexo (15 machos y 12 hembras).

| Parámetros | <i>Tayassu tajacu</i> | |
|---|-----------------------|----------------|
| | Hembras | Machos |
| Eritrocitos ($\times 10^6/\text{ml}$) | 8.9 ± 1.3 | 9.6 ± 2.4 |
| Hematocrito (%) | 42.7 ± 4.0 | 48.0 ± 3.3 |
| Hemoglobina (g/100ml) | 16.1 ± 1.3 | 18.0 ± 1.3 |
| Leucocitos ($\times 10^3/\text{ml}$) | 11.0 ± 2.3 | 9.8 ± 1.3 |
| Segmentados (%) | 61 ± 2.1 | 58.6 ± 5.8 |
| Linfocitos (%) | 37.4 ± 4.9 | 31.8 ± 7.0 |
| Eosinófilos (%) | 5.2 ± 2.8 | 9.3 ± 4.8 |
| Abastonados (%) | 0 ± 0 | 0 ± 0 |
| Monocitos (%) | 0 ± 0 | 0 ± 0 |
| Basófilos (%) | 0 ± 0 | 0 ± 0 |

ANEXO II

Seguimiento de la infestación anual parasitaria del pécari de collar (*Tayassu tajacu*) en el zoocriadero de Iquitos (Perú)

Se recolectaron muestras de heces recientemente eliminadas de individuos de pécari de collar (aproximadamente 20 g) con una frecuencia semanal. El material colectado fue colocado en viales, identificado y enviado al laboratorio. Los animales no recibieron ningún tratamiento parasitario preventivo durante el periodo del estudio.

Los análisis coprológicos se realizaron en el laboratorio del Centro de Reproducción y Conservación de Primates, en la estación de Iquitos del I.V.I.T.A.-Instituto Veterinario de Investigaciones de Trópico y de Altura. El análisis coprológico se realizó el mismo día de la toma de muestra. Las técnicas utilizadas para el análisis coprológico fueron el método de observación directa, la técnica de flotación con sulfato de zinc al 33%, y la técnica de recuento de parásitos en cámara de Mac Master. La lectura se hizo mediante microscopía óptica a 100x y 400x.

A pesar de la elevada tasa de eliminación parasitaria, en el pécari de collar, no se observó cuadros clínicos compatibles con una parasitosis masiva. En los animales necropsiados tampoco se observó lesiones específicas causadas por dicha infestación.

Figura 1: Infestación parasitaria mensual en Iquitos (Perú), en porcentaje de individuos infestados.

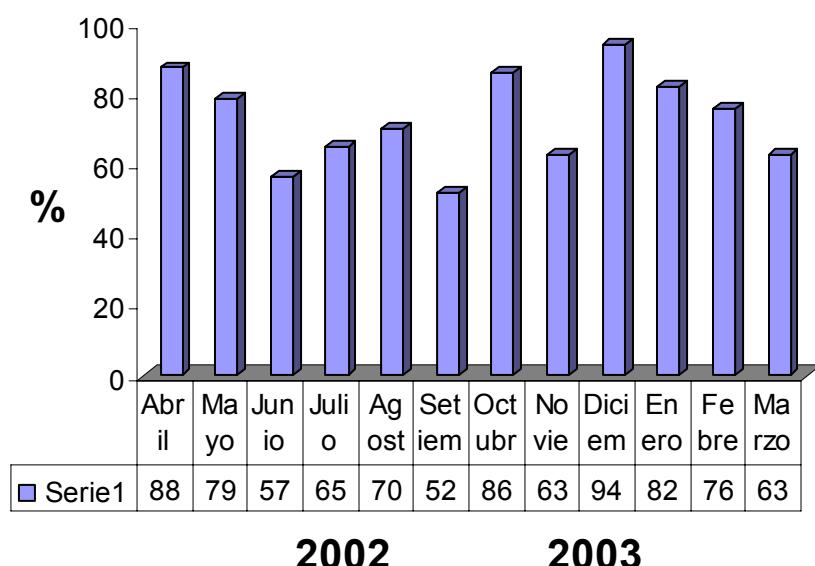


Figura 2: Tasa de eliminación de *Strongyloides* sp. y *Ascaris* sp. en relación con la precipitación (mm) y temperatura (°C) media mensual de la región de Iquitos (Perú) a lo largo del periodo de estudio. Fuente: SENAMHI, Estación Climatológica de Iquitos.

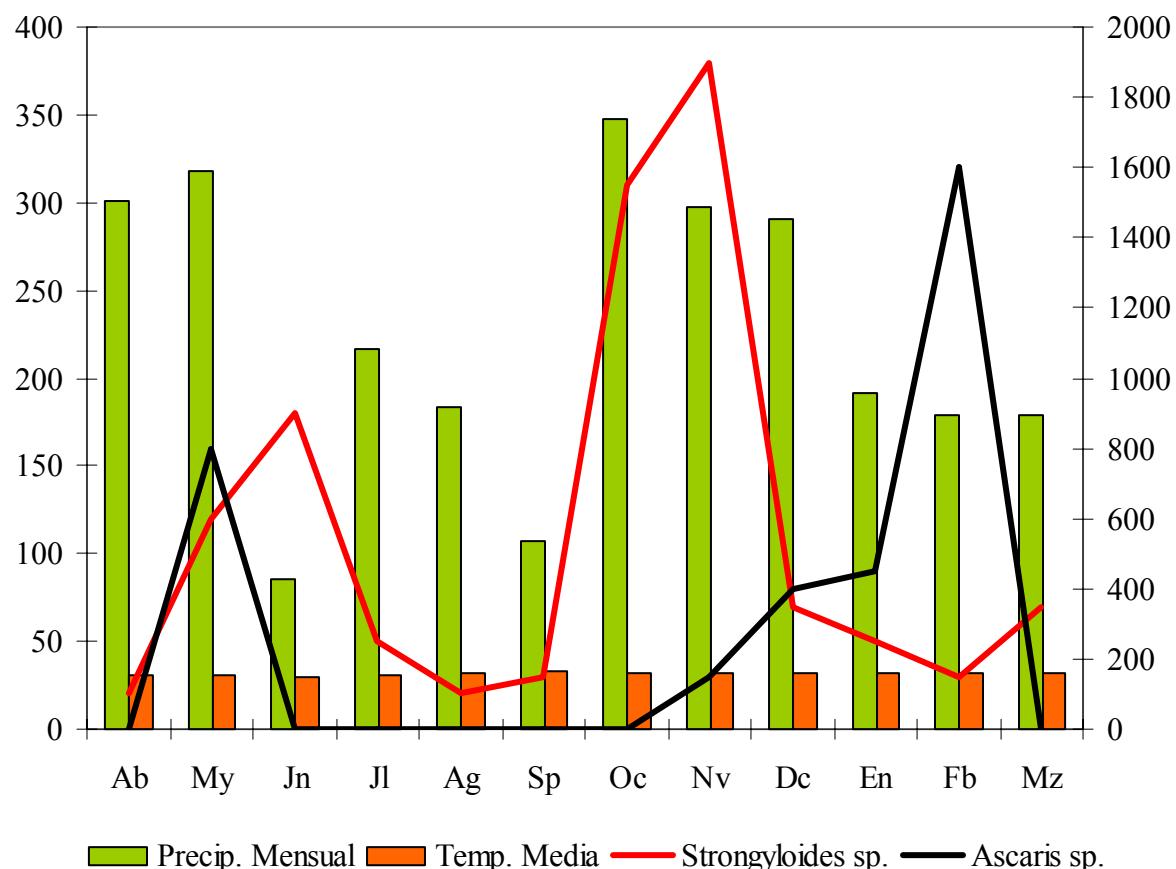
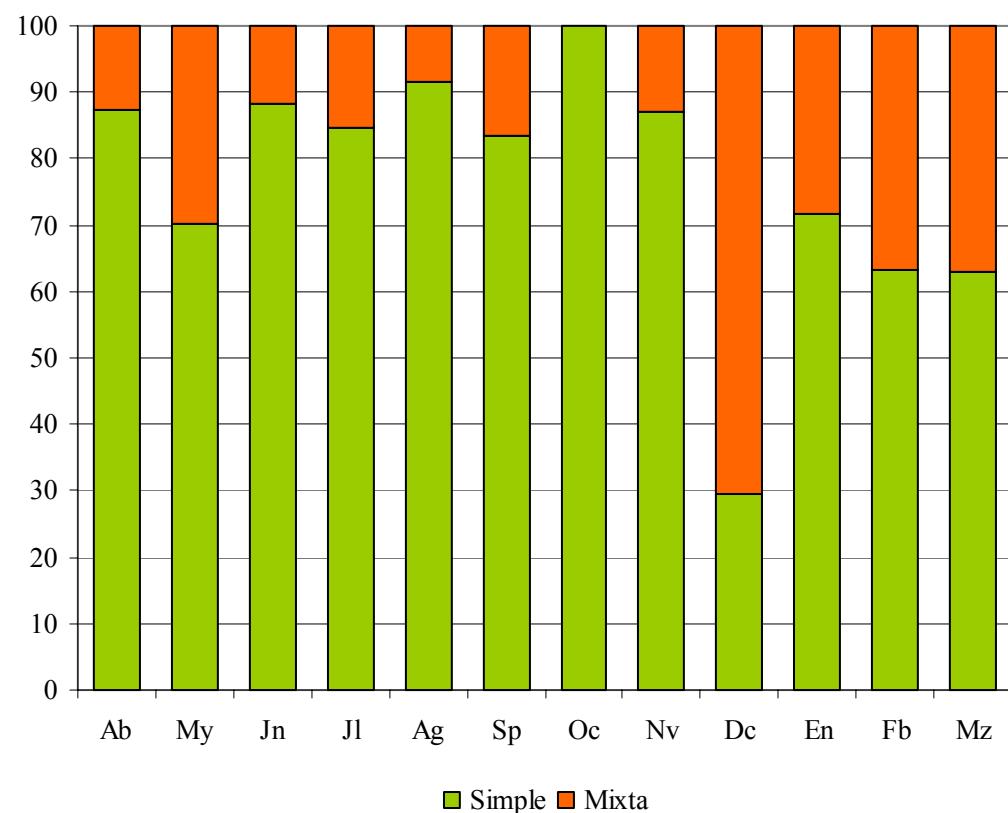


Figura 3: Infestaciones simples y mixtas del pécari de collar a lo largo del periodo de estudio



ANEXO III

Hallazgos post-mortem en la zoocría de pécari de collar (*Tayassu tajacu*) en dos zoocriaderos de la Amazonía: Iquitos (Perú) y Belém (Estado de Pará, Brasil)

Se realizó la necropsia de 38 animales muertos en el periodo comprendido, entre marzo de 2002 y febrero de 2003 en el zoocriadero de Iquitos (n=6), y desde mayo de 1998 hasta enero de 2004 en el zoocriadero de Belém (n=32). Previamente se registró los datos sobre sexo, edad, fecha de muerte e historia clínica. Los animales fueron clasificados como *neonatos*, *juveniles*, *sub-adultos* y *adultos* de acuerdo con la edad. Los límites etarios de las restantes clasificaciones de juveniles, subadultos y adultos fueron categorías extrapoladas de estudios anteriores (Lochmiller et al., 1987; NAHMS, 2000; Dubost et al., 2003).

Las necropsias siguieron un protocolo estándar. En base a los hallazgos de necropsia y al historial clínico se determinó la causa de muerte. Los animales cuya muerte no fue diagnosticada fueron clasificados como “causa desconocida”.

Tabla 1: Tasa de mortalidad por grupos de edad y por sexo de las zoocrías de Iquitos, Belém y en conjunto.

| | | Iquitos | Belém | Total |
|-------------------------|-------------------------|--------------|----------------|-----------------|
| Tasa de mortalidad real | | 20.7% (6/29) | 27.9% (43/154) | 26.78% (49/183) |
| | Neonatos | 16.6% (1/6) | 74.4% (32/43) | 67.35% (33/49) |
| Grupos de edad | Juveniles y sub-adultos | 50% (3/6) | 14.0% (6/43) | 18.37% (9/49) |
| | Adultos | 33.3% (2/6) | 12.5% (5/43) | 14.29% (7/49) |
| Sexo | Machos | 33.3% (2/6) | 41.9% (18/43) | 40.8% (20/49) |
| | Hembras | 66.6% (4/6) | 48.1% (25/43) | 49.2% (29/49) |

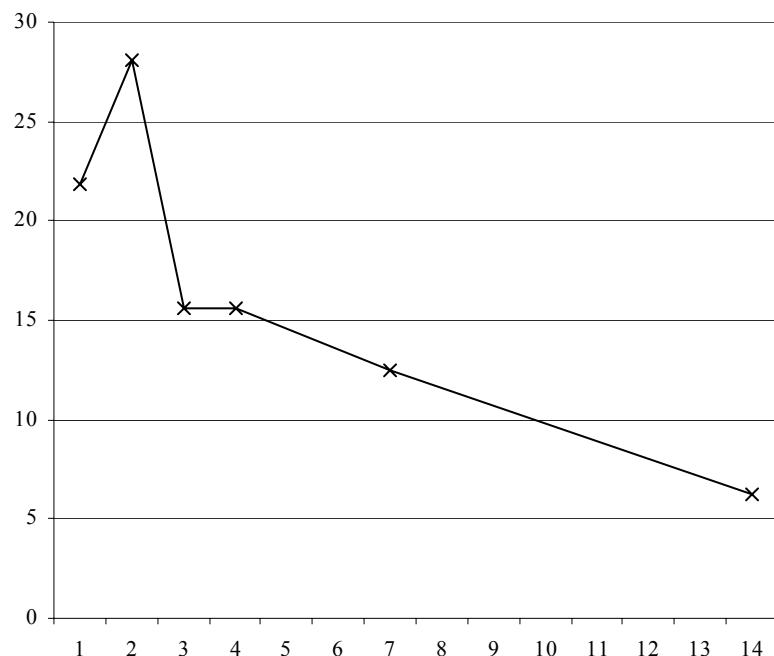
Tabla 2: Resultados en porcentajes de las necropsias realizadas en los 16 individuos juveniles, sub-adultos y adultos de las zoocrías de Iquitos (5 necropsias), Belém (11 necropsias) y en conjunto.

| Causa de muerte adultos | Iquitos | Belém | Total |
|------------------------------|---------|-------|-------|
| Intoxicación alimentaria | 0 | 45.4 | 31.2 |
| Obstrucción 2º proventrículo | 60 | 0 | 18.7 |
| Politraumatismo | 40 | 27.3 | 31.2 |
| Neumonía por aspiración | 0 | 9.1 | 6.2 |
| Desconocida | 0 | 18.2 | 12.5 |
| Total | 100 | 100 | 100 |

Tabla 3: Resultados en valores absolutos y porcentajes de las necropsias realizadas en los 32 individuos neonatos del zoocriadero de Belém.

| Causa de muerte | Nº | % |
|-----------------------|----|------|
| Abandono de la madre | 9 | 28.1 |
| Canibalismo | 7 | 21.9 |
| Causa infecciosa | 4 | 12.5 |
| Deformación congénita | 1 | 3.1 |
| Desconocida | 11 | 34.4 |
| Total | 32 | 100 |

Figura 1: Evolución de la mortalidad de neonatos (en %) en el zoocriadero de Belém a lo largo de las dos primeras semanas de vida.



ANEXO IV

Perfil inmunológico del pécari de collar (*Tayassu tajacu*) criado en dos zoocriaderos de la Amazonía: Iquitos (Perú) y Belém (Estado de Pará, Brasil)

Se realizó el análisis inmunológico de 48 individuos de pécari de collar de las explotaciones de Iquitos (Perú) y Belém (Estado de Pará, Brasil). Los individuos analizados de la explotación de Iquitos eran animales que provenían de las regiones de bosque húmedo tropical cercanas a la explotación (n=8), o bien eran individuos nacidos en la propia explotación (n=5). Los individuos analizados en la explotación de Belém o bien procedían de una explotación de Uruará (Estado de Pará, Brasil) (n=8), o de la región de Mossoró (Estado de Bahía, Brasil) (n=11), o bien eran individuos nacidos en la propia explotación (n=16).

Las técnicas utilizadas para el análisis inmunológico de las diferentes enfermedades fueron:

Enfermedad de Aujeszky (ADV): *HERDCHEK ANTI-ADV GPI. IDEXX®.* ELISA de competición que permite diferenciar entre anticuerpos vacunales y anticuerpos de infección. Los resultados pueden ser positivos, dudosos o negativos.

Síndrome respiratorio y reproductivo porcino (PRRS): *HERDCHEK PRRS. IDEXX®.* ELISA indirecto. Cada muestra se incuba por duplicado en pocillos antigenados y sin antigenar, con el fin de eliminar las reacciones inespecíficas del suero. Los resultados se expresan en forma de ratio S/P (DO del suero problema / DO del control positivo). S/P >=0,4 se consideran positivas.

Mal Rojo: *INGEZIM MAL ROJO. INGENASA®.* ELISA indirecto. No permite diferenciar entre anticuerpos vacunales y anticuerpos de infección. Los resultados pueden ser positivos, dudosos o negativos.

Parvovirosis (PPV): *INGEZIM PPV. INGENASA®.* ELISA indirecto. Se utiliza sobre todo para comprobar el status vacunal de la granja (reacción cruzada con los anticuerpos de infección). El resultado, en caso de ser positivo, se expresa en forma de título (1:200 / 1:400 / 1:800 / 1:1600 / 1:3200 / > 1:3200).

Influenza: *CIVTEST SUIS INFLUENZA. HIPRA®.* ELISA indirecto. Reacción positiva frente al subtipo H1N1, y parcialmente positiva frente al subtipo H3N2. Los resultados pueden ser positivos o negativos.

Salmonella: *SALMONELLA COVALENT MIX ELISA. SVANOVIR®.* ELISA indirecto. Permite la detección de anticuerpos frente a *S. typhimurium*, *S.cholerasuis* y *S.infantis*. Los resultados pueden ser positivos o negativos.

Fiebre Aftosa: La técnica utilizada fue la de Inmunodifusión en Gel y Agar (IDEA). Los resultados pueden ser positivos o negativos.

Circovirus porcino tipo 2 (PCV2): La técnica inmunoperoxidasa en monocapa de cultivo (IPMA). El resultado, en caso de ser positivo, se expresa en forma de título (desde 1:20 hasta 1:2080).

Los análisis inmunológicos de Aujeszky, PRRS, Mal Rojo, Parvovirus, Influenza, PCV2 y Salmonella fueron realizados en el Laboratori Veterinari de Diagnosi de Malalties Infeccioses del Departament de Sanitat i Anatomia Animals de la Universitat Autònoma de Barcelona.

El análisis inmunológico de Fiebre Aftosa fue realizado en los laboratorios del Ministerio de Agricultura del Estado de Pará- Brasil.

Tabla 1: Resumen de la prevalencia de anticuerpos de diferentes enfermedades infectocontagiosas (en %) del pécari de collar en las localizaciones de Iquitos (Perú) y Belém (Brasil) de individuos provenientes tanto del bosque amazónico como de otros sistemas de producción.

| Localización | Origen | n | Aujeszky | PRRS | Mal rojo | Parvovirus | Influenza | Salmonella | Fiebre aftosa | PCV 2 |
|--------------|------------|----|----------|------|----------|------------|-----------|------------|---------------|-------|
| Iquitos | bosque | 8 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | cautividad | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Uruarú | 8 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Belém | Mossoró | 11 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | cautividad | 16 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alvard, M. (1998). Indigenous hunting in the Neotropics: Conservation or Optimal foraging? In Behavioral ecology and conservation biology. Caro, T. Oxford University Press.
- Baldwin, D.M. and Stabenfeldt, G.H. (1975). Endocrine changes in the pig during late pregnancy, parturition, and lactation. *Biol. Reprod.*, 12:508-515.
- Barb, C.R., Kraeling, R.R., Rampacek, G.B. and Whisnant, C.S. (1986). Opioid inhibition of luteinizing hormone secretion in the postpartum lactating sow. *Biol. Reprod.*, 35:385-371.
- Bazer, F.W. and Thatcher, W.W. (1977). Theory of maternal recognition of pregnancy in swine based upon oestrogen controlled endocrine versus exocrine secretions of prostaglandin F_{2α} by uterine endometrium. *Prostaglandins*, 14: 397-401.
- Benchimol, S. (1994). Esboço de uma política e estratégia para a Amazônia. Manaus, 27 pp.
- Berlin, B. and Berlin, E.A. (1978). Etnobiología, subsistencia y nutrición en una sociedad de la selva tropical: los Aguaruna (Jíbaro). En: Salud y nutrición en sociedades nativas, compil. por A. Chirif. CIPA. Lima, Perú, p. 13-47.
- Bissonette, E. (1978). Influence of extreme of temperatures on activity patterns of peccaries. *The South. Natur.*, 23:339-346.
- Bodmer, R.E. and E. Pezo. (1999). Análisis económico de la venta de carne de monte y exportación de pieles en Loreto, Perú. En Manejo y Conservación de Fauna Silvestre en América Latina. Fang, T.G., Montenegro, O.L. and Bodmer, R.E. (eds.) Instituto de Ecología, La Paz, Bolivia, p. 171-180.
- Bodmer, R.E., Aquino, R., Puertas, P., Reyes, C., Fang, T., and Gottdenker, N. (1997). Manejo y Uso Sustentable de Pecaríes en la Amazonía Peruana. IUCN, Quito, Ecuador.
- Bodmer, R.E., Fang, T.G. and Ibáñez, L.M. (1988). Ungulate management and conservation in the Peruvian Amazon. *Biological Conservation*, 45:303-310.
- Bonaudo, T., Pendu, Y., Le; Chardonnet, P. Jori, F. and Le Pendu, Y. (2001). Chasse de subsistance sur un front pionnier amazonien: le cas d'Uruara. *Revue d'Elevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux*, Vol. 54(3-4): 281-286.
- Booman, P., Van de Wiel, D.F.M., Jansen, A.A.M. (1982). Effect of exogenous prolactin on peripheral luteinizing hormone levels in the sow after weaning the piglets. Report B-200, Institut voor Veeteeltkundig Schoonoord, Driebergseweg 10, Zeist, The Netherlands, p. 1-58.
- Broom, D.M. and Johnson, K. G. (eds). (1993). Stress and Animal Welfare. Capman & Hall, London.
- Cahill, L.P., Mariana, J.C. and Mauleon, P., (1979). Studies in vivo and in vitro on the initiation of follicle growth in the bovine ovary. *J. Reprod. Fertil.*, 109:165-171.
- Cannon, W.B. (1935). Stresses and strains of homeostasis. *American Journal of the Medical Sciences*, 189:1-14.
- Castellanos, H.G. (1982). Patrones de movimiento y uso de hábitat del báquiro de collar *Tayassu tajacu* L. en los llanos centrales de Venezuela. Univ. Central de Venezuela, Caracas, 138 pp. (Thesis).
- Chardonnet, P. (2002). Des Clerc, B. Fischer, Jori, F. and Lamarque, F. The value of Wildlife. *Revue Scientifique et Technique Office Internationale des Epizooties*, Vol. 21 :4-47.
- Chardonnet, P., Fritz, H., Zorzi, N. and Ferón, E. (1995). Current importance of traditional hunting and major constraint in wild meat consumption in sub-saharan Africa. En Integrating people and wildlife for a sustainable future. Bissonette, J.A. and Kraussman, P.R. (eds). The Wildlife Society, USA, p. 304-307.
- Clement, C.R. (1993). Native Amazonian fruits and nuts: composition, production and potential use for sustainable development. En Tropical forests, people and food: Biocultural interactions and applications to development. Hladik, C.M.,

- Hladik, A., Linares, O.F., Pagezy, H., Semple, A. and Hadley, M., p. 139-152.
- Cunningham, N.F. (1982). Pregnancy diagnosis in sows based on serum oestrone sulphate concentration. Br. Vet. J., 138:543-544.
- Davis, S.J.M. (1989). De cazador a pastor: El origen de los animales domésticos. In: La arqueología de los animales. Ediciones Bellaterra, Barcelona, p. 127-156.
- Del Valle, M.R. (2002). Manejo sustentable del carpincho (*Hydrochoerus hydrochaeris*, Linnaeus 1766) en Argentina: Un aporte al conocimiento de la biología de la especie desde la cría en cautividad. Tesis para optar al grado de Doctor. Universidad de Buenos Aires, 188 pp.
- Dellmann, H-D. and Brown, E.M. (eds). (1987). Textbook of veterinary histology. 3rd ed. Lea & Febiger, Philadelphia. P. 313-339.
- Denenberg, V.H., Hudgens, G.A. and Zarrow, M.X. (1964). Mice reared with rats: modification of behavior by early experience with another species. Science, 143:380-381.
- Denevan, W.M. (1971). Campa Subsistence in the Gran Pajonal of Eastern Peru. Geographical Review 61(4):496-518.
- Dubost, G., Dutertre, C. and Henry, O. (2003). Body weight increase in the two peccary species of the genus *Tayassu* (*Tayassuidae*, Artiodactyla). Mammalia, 67 (1):55-63.
- Dyce, K.M., W.O. Sack and C.J.G. Wensing, 2002: The pelvis and reproductive organs of the pig. En Textbook of Veterinary Anatomy. Third Edition. W.B. Saunders Company, Philadelphia, p. 759-767.
- Elder, J.B. (1953). Utilization of man-made waterholes by wildlife in southern Arizona. M.S. Thesis. Univ. Arizona. Tucson, 114 pp.
- Ellendorff, F., Meyer, J.N. and Elsaesser, F. (1976). Prospects and problems and fertility diagnosis in the pig by aid of progesterone determination. Br. Vet. J., 132:543-550.
- Emmons, L.H. (1990). Neotropical rainforest mammals: a field guide. Univ. of Chicago Press. Chicago, 281 pp.
- Feer, F. (1993). The potential for sustainable hunting and rearing of game in tropical forests. In Tropical forests, people and food: Biocultural interactions and applications to development. Hladik, C.M., Hladik, A., Linares, O.F., Pagezy, H., Semple, A. and Hadley, M., p. 691-708.
- FitzGibbon, C. (1998). The management of subsistence harvesting: Behavioral ecology of hunters and their mammalian prey. En Behavioral ecology and conservation biology. Caro, T. Oxford University Press.
- Fragoso, J.M. (1994). Large mammals and the community dynamics of an Amazonian rainforest. PhD dissertation, University of Florida, Gainesville.
- Getty, R. (1982). The Anatomy of the Domestic Animals. W.B. Saunders Company. Philadelphia, p. 1435-1436.
- Glanz, W.E. (1990). Neotropical mammal densities: how unusual is the community on Barro Colorado Island, Panama? En Gentry, A.H. (ed) Four Neotropical Forests. New Haven, CT: Yale University Press, p. 287-313.
- Gottdenker, N. and R.E. Bodmer, 1998: Reproduction and productivity of white-lipped and collared peccaries in the Peruvian Amazon. J. Zool. Lond., 245: 423-430.
- Griffin, P.G. and Ginther, O.J. (1991). Dynamics of uterine diameter and endometrial morphology during the estrous cycle and early pregnancy in mares. Anim. Reprod. Sc., 25:133-142.
- Grimwood, I.R. (1968). Notes on the distribution and status of some Peruvian mammals. Spec. Publ. 21. New York Zool. Soc., New York.
- Guilbault, L.A., Dufor, J.J., Thatcher, W.W., Drost, M. And Haibel, G.K. (1986). Ovarian follicular development during early pregnancy in cattle. J. Reprod. Fertil., 78:127-135.
- Guthrie, H.D. and Deaver, D.R. (1979). Estrone concentration in the peripheral plasma of pregnant and nonpregnant gilts. Theriogenology, 11:321-329.
- Hardouin, J. and Thys, E. (1997). Le mini-élevage, son développement villageois et l'action de BEDIM. Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement, 1(2):92-99.

- Hellgren, E.C., Syntzke, D.R., Oldenberg, P.W. and Guthery, F. S. (1995). Demography of a collared peccary population in South Texas. *J. Wildl. Manage.*, 59:153-163.
- Henry, O. and Dubost, G. (1990). Premiers resultants sur la saisonnalité de la reproduction des mammifères Guyanais. En : Gestation de l'Ecosystème Forestier et Aménagement de l'Espace Régional. Congrès SEPANGUY, Guyana, Cayenne, p.161-166.
- Holness, D.H. and Hunter, R.H. (1975). Post-partum oestrus in the sow in relation to the concentration of plasma oestrogens. *J. Reprod. Fertil.*, Oct; 45(1):15-20.
- Humboldt, A. von (1820) "Voyages aux régions équinoxiales du Nouveau continent". Ed. N. Mazé, Paris, 318 pp.
- Jason, C.H. and Emmons, L.H. (1990). Ecological structure of the non-flying mammal community at Cocha Cashu Biological Station, Manu National Park, Perú. En Gentry, A.H. (ed) Four Neotropical Forests. New Haven: Yale University Press, p. 314-338.
- Jennings, W.S. and Harris, J.T. (1953). The collared peccary in Texas. P.A. Report Series n°12. Texas Game and Fish Comission, 31 pp.
- Jori, F. (1997). Etude de faisabilité de l'élevage commercial d'espèces sauvages au Gabon. WWF/GEF/PNUD, 76 pp.
- Jori, F. (2001). La cría de roedores tropicales (*Thryonomys swinderianus* y *Atherurus africanus*) como fuente de alimento en Gabón, África Central. Tesis para optar al grado de Doctor. Universitat Autònoma de Barcelona, 150 pp.
- Jori, F., López-Béjar, M. and Houben, P. (1998). The biology and use of the African brush-tailed porcupine (*Atherurus africanus*, Gray, 1842) as a food animal. A review. *Biodiversity and Conservation*, 7:1417-1426.
- Kaeoket, K., E. Persson, and A.M. Dalin (2001). The sow endometrium at different stages of the oestrous cycle: studies on morphological changes and infiltration by cells of the immune system. *Anim. Reprod. Sci.*, 65:95-114.
- Kastelic, J. P., Bergfelt, D. R. and Ginther, O.J. (1991). Ultrasonic detection of the conceptus and characterization of intrauterine fluid on Days 10 to 22 in heifers. 17 *Theriogenology*, 35:569-581. 18.
- Kirkpatrick, R.L., (1980). Physiological indices in wildlife management. En Schemmitz, S.D. Wildlife management techniques manual. 4º ed. Washington D.C., Wildlife Society, p. 99-112.
- Koppert, G.J.A., Dounias, E., Froment, A. and Pasquet, P. (1993). Food consumption in the forest populations of southern coastal Cameroon. En Tropical forests, people and food: Biocultural interactions and applications to development. Hladik, C.M., Hladik, A., Linares, O.F., Pagezy, H., Semple, A. and Hadley, M., p. 295-310.
- Lahm, S.A. (1993). Utilization of forest resources and local variation of wildlife populations in northeastern Gabon. En Tropical forests, people and food: Biocultural interactions and applications to development. Hladik, C.M., Hladik, A., Linares, O.F., Pagezy, H., Semple, A. and Hadley, M.n, p. 213-226.
- Lander, E. /1974). Observaciones preliminares sobre lapas (*Agouti pacá*) Linné, 1766 (Rodentia, Agoutidae). Univ. Central de Venezuela, Maracay; 104 pp.
- Lavigne, D.M., Callaghan, C.J. and Smith, R.J. (1996). Sustainable utilization: the lessons of history. En The exploitation of mammal populations. Taylor, V.J. and Dunstone, N, eds. Chapman and Hall, London, p. 250-265.
- Levine, S. (1985). A definition of stress?. En: Animal Stress. Moberg, .P. (ed).Waverly Press, Inc.: Baltimore, p. 51-69.
- Lochmiller, R.L., Hellgren, E.C. and Grant, W.E. (1984). Selected aspects of collared peccary (*Dicotyles tajacu*) reproductive biology. *Zoo Biol.*, 3:145-149.
- Lochmiller, R.L., Hellgren, E.C. and Grant, W.E. (1987). Physical characteristics of neonate, juvenile, and adult collared peccaries (*Tayassu tajacu angulatus*) from South Texas. *J. Mamm.*, 68 (1):188-194.

- Lochmiller, R.L., Varner, L.W. and Grant, W.E. (1985). Hematology of the collared peccary. *J. Wildl. Mgmt* 49: 65-71.
- López, E. and Paucar, M., A. (1973). Informe de la delegación del Ecuador. Simposio Intern. Fauna Silv. Pesca Fluv. e Lac. Amazónica. IBDF, Manaus, III D1-18.
- Love, R.J., Evans, G. and Klupiec, C. (1993). Seasonal effects on fertility in gilts and sows. *J. Reprod. Fert.*, 48:191-96.
- Low, W.A. (1970). The influence of aridity on reproduction of the collared peccary (*Dicotyles tajacu* (Linn)) in Texas. Ph.D.Thesis. University of British Columbia.
- Magalhaes, J.P. (1982). Recursos naturais mmeio ambiente e a sua defensa no direito brasileiro. Rio de Janeiro, F.G.V., 76 pp.
- Maltier, J-P., Legrand, Chantal, Breuller, M. (1993). Parturition. En *Reproduction in mammals and man*. Thibault, Ch., Levasseur and Hunter, R.H.F. (eds.), París, p. 481-503.
- Mares, M.A. and Ojeda, R.A. (1984). Faunal commercialization and conservation in South America. *Bioscience*, 34:580–584.
- Mattioli, M., Conte, F., Galeati, G. And Seren, E. (1986). Effect of naxolone on plasma concentrations of prolactin and LH in lactating sows. *J. Reprod. Fert.*, 76:167-173.
- Mauguet, R., Feer, F. Henry, O. And Dubost, G. (1997). Hormonal and behavioural monitoring of ovarian cycles in peccaries. 1st International Symp on Phys and Ethol of Wild and Zoo animals. Proceeding. Suppl. II, 145-149.
- Mayer, J.J. and Brandt, P.N. (1982). Identity, distribution, and natural history of the peccaries, Tayassuidae. Mares, M.A. and Genoways, H.H. (eds.) *Mammalian Biology in South America*. Univ., Pittsburgh, p. 433-455.
- Mayor, P., López-Béjar, M., Jori, F., Fenech, M., López-Gatius, F. (2003). Reproductive functional anatomy and oestrous cycle pattern of the female brush-tailed porcupine (*Atherurus africanus*, Gray 1842) from Gabon. *Anim. Reprod. Sc.*, 2394:1-13.
- McDonald, L.E. (1980). Female reproductive system. En *Veterinary endocrinology and reproduction*. Lea & Febiger, Philadelphia, p. 274-329.
- Méndez Arocha, J.L. and Medina Padilla, G. (1982). Fauna Silvestre de Venezuela. Sistemas Ambientales Venezolanos. Project Ven/70/001, MARNR, Caracas, 102 pp.
- Ministerio do Meio Ambiente do Brazil (2002). Biodiversidade Brasileira: Avaliação de áreas e ações prioritárias para conservação, utilização sustentável e repartição de benefícios da biodiversidade brasileira. Brasilia.
- Moeljono, M.P.E., Thatcher, W.W. and Bazer, F.W. (1977). A study of prostaglandin F_{2α} as the luteolysin in swine. II. Characterization and comparison of prostaglandin F, estrogens and progestin concentrations in utero-ovarian vein plasma of nonpregnant and pregnant gilts. *Prostaglandins*, 14: 543-555.
- Mondolfi, E. (1972). Mamíferos de caza de Venezuela. La lapa o paca. Defensa de la Naturaleza, 2(5):4-16.
- Moreira, J.R. and MacDonald, D.W. (1997). Técnicas de manejo de capivaras e outros grandes roedores na Amazônia. En *Manejo e Conservação de Vida Silvestre no Brasil*. Organizadores – Claudio Valladares-Padua, Richard E. Bodmer; organizador associado – Laury Cullen Jr. – Brasilia, D.F.: CNPq/Belém, PA: Sociedade Civil Mamirauá, p. 186-213.
- Moreira, N., Monteiro-Filho, E.L.A., Moraes, W., Swanson, W.F., Graham, L.H., Pasquali, O.L., Gomes, M.L.F., Morais, R.N., Wildt, D.E. and Brown, J.L. (2001). Reproductive steroid hormones and ovarian activity in felids of the *Leopardus* Genus. *Zoo Biology*, 20:103-116.
- Morgan, G., Geisert, R.D., Zavy, M.T., Shawley, R.V. and Fazleabas, A.T. (1987). Development of pig blastocysts in a uterine environment advanced by exogenous oestrogen. *J. Reprod. Fert.*, 80:125-131.
- Morton, D.B. and J.E. Rankin (1969). The histology of the vaginal epithelium of the sow in oestrus and its use in pregnancy diagnosis. *Vet. Rec.* 84:658-62.8

- Mullins, K.J. and R.G. Saacke (1989). Study of the functional anatomy of bovine cervical mucosa with special reference to mucus secretion and sperm transport. *Anat. Rec.*, 225:106-117.
- Murphy, B.D. (2000). Models of luteinization. *Biol. of Reprod.*. p. 63:2-11.
- Nair, P.K.R. (1993). An introduction to agroforestry. Kluwer Academic in cooperation with International Centre of Research in Agroforestry, Dordrecht, cop, 499 pp.
- National Animal Health Monitoring System-NAHMS. (2000). Reference of Swine Health and Management in the United States, Fort Collins.
- Nogueira-Filho, S.L. and Lavorenti, A. (1997). O Manejo do Caititu (*Tayassu Tajacu*) e do Queixada (*Tayassu Pecari*) Em Cativeiro. En: Manejo e Conservação de Vida Silvestre no Brasil. 1 ed. Belém/PA-Brasília/DF: Mamirauá-CNPq, p.285.
- Ojasti, J. (1993). Utilización de la fauna Silvestre en América Latina. Situación y perspectivas para un manejo sostenible. Guías FAO: Conservación, Roma 25, 248 pp.
- Ojasti, J. (1996). Wildlife Utilization in Latin America: Current Situation and Prospects for Sustainable Management. (FAO Conservation Guide - 25). Food and Agriculture Organization of the United Nations – FAO, Rome, 224 pp.
- Ojasti, J. (2000). Manejo de Fauna Silvestre Neotropical. Serie nº5. Ed Dallmeier F. Smithsonian Institution/MAB Program. Washington, D.C.
- Ojasti, J., Fajardo, G.F. and Cova O., M. (1987). Consumo de fauna por una comunidad indígena en el estado Bolívar, Venezuela. En Actas del 9 Congreso Latinoamericano de Zoología, Arequipa: Perú, p. 45-50.
- Peres, C.A. (1990). Effects of hunting on western Amazonian primate communities. *Biological Conservation*, 54:47-59.
- Perry, J.S., Heap, R.D.B. and Burton, R.D. (1976). Endocrinology of the blastocyst and its role in the establishment of pregnancy. *J. Reprod. Fertil. (Suppl)*, 25:85-104.
- Peters, A.R. and Lammings, G.E. (1990). Lactational anoestrus in farm animals. *Oxford Rev Reprod Biol*, 65:545-557.
- Peters, K.J. (1988). Potential of unconventional livestock production. *World Review of Animal Production*, 24:71-84.
- Pierret, P.V. and Dourojeanni, M.J. (1967). Importancia de la caza y la alimentación humana en el curso inferior del río Ucayali, Perú, *Rev. For.*, Perú, 1:10-21.
- Pierson, R.A. and Ginther, O.J. (1986). Ovarian follicular populations during early pregnancy in heifers. *Theriogenology*, 26:649.
- Priedkalns, J. (1987). Female Reproductive System. En *Textbook of veterinary histology*. Third edition. H.-D. Dellmann, and E.M. Brown, eds. Lea & Febiger, Philadelphia, p. 313-339.
- Prunier, A., Dorumad, J.Y. and Etienne, M. (1993). Feeding level, metabolic parameters and reproductive performance of primiparous sows. *Livest. Prod. Sci.*, 37:185-196.
- Quesnel, H. and Prunier, A. (1995). Endocrine bases of lactational anoestrus in the sow. *Reprod. Nutr. Dev.*, 35(4):395-414.
- Radcliffe, R.W., Eyres, A.I., Patton, M.L., Czekala, N.M. and Emslie, R.H. (2000). Ultrasonographic characterization of ovarian events and fetal gestational parameters in two southern black rhinoceros (*Diceros bicornis minor*) and correlation to fecal progesterone. *Theriogenology*, 55: 1033-1049.
- Redford, K.H. (1993). Hunting in neotropical forests: A subsidy from Nature. En *Tropical forests, people and food: Biocultural interactions and applications to development*. Hladik, C.M., Hladik, A., Linares, O.F., Pagezy, H., Semple, A. and Hadley, M., p. 227-246.
- Redford, K.H. and Robinson, J.G. (1987). The game choice: patterns of Indian and colonist hunting in the Neotropics. *Florida Journal of Anthropology*, 6:117-120.
- Redford, K.H. and Robinson, J.G. (1991). Subsistence and commercial uses of wildlife in Latin America. pp. 6-23. En: *Neotropical wildlife use and conservation*. Robinson, J.G., y K.H.

- Redford, eds. The University of Chicago Press, Chicago, 520 pp.
- Redford, K.H. and Stearman, A. (1989). The Chimane Indians and the Beni Biosphere Reserve, Bolivia. *Vida Silvestre Neotropical*, 2: 49-56.
- Rengifo, M. E.; Navarro, D. T.; Urrunaga, A. B.; Vásquez, W. F.; Aspajo, F. V. (1996). Tratado de Cooperacion Amazonica-Secretaria pró tempore # 48 - Crianza Familiar del Majaz o Paca (*Agouti paca*) en la Amazonia. Mirigraf S.R.L., Lima, Peru, 45 pp.
- Ríos, G.Z. (2001). Sustentabilidad de la cacería de subsistencia: el caso de cuatro comunidades quichuas en la amazonía nororiental ecuatoriana. *Mastozoología Neotropical/J. Neotrop. Mammal.*, 8(1):59-66.
- Ríos, M., Dourojeanni, M.J. and Tovar, A. (1973). La fauna y su aprovechamiento en Jenaro Herrera (Requena, Perú). *Revista Forestal del Perú*, 5(1-2):73-92.
- Robel, P. (1993). Steroidogenesis: The enzymes and regulation of their genomic expression. En *Reproduction in mammals and man*. Thibault, Ch., Levasseur and Hunter, R.H.F. (eds.), París, p. 135-143.
- Robinson, J.G. and Bennett, L.E. (2000). Hunting for sustainability in tropical forests. Columbia University Press, 582 pp.
- Robinson, J.G. and Redford, K.H. (1986). Body size, diet and population density of neotropical forest mammals. *Am Nat*, 128:665-680.
- Robison, J.G and Redford, K.H (eds). (1991) *Neotropical wildlife: Use and Conservation*. The University Chicago Press, 520 pp.
- Roots, C.G. (1966). Notes on the breeding of the white-lipped peccaries at Dubley Zoo. *Int. Zoo. Yb.*, 6:198-199.
- Saba, N. and Hattersley, J.P. (1981). Direct estimation of oestrone sulphate in sow serum for a rapid pregnancy diagnosis test. *J. Reprod. Fertil.*, 62:87-92.
- Schwarze, C. (1970). *Kompendium der Veterinär-Anatomie*. Gustav Fischer, V.E.B. (ed.) Verlag, Jena, Germany, p. 277-289.
- Schwarze, C. (1984). Compendio de anatomía veterinaria. Ed. Acribia. Zaragoza. Pp: 277-289.
- Puhazhenti, B.S. and Wildt, D.E. (2004). Which reproductive technologies are most relevant to studying, managing and conserving wildlife? *Reproduction, Fertility and Development*, 16:1-14.
- Hodges, J.K., Czekala, N.M. and Lasley, B.L. (1979). Estrogen and luteinizing hormone secretion in diverse primate species from simplified urinary analysis. *J. Med. Primatol.*, 8:349-364.
- Lasley, B.L. and Kirkpatrick, J.K. (1991). Monitoring ovarian function in captive and free-ranging wildlife by means of urinary and fecal steroids. *J. Zoo. Wildl. Med.*, 22:23-31.
- Hodges, J.K. (2001). Reproductive technologies necessary for successful parameters. En *Wild mammals in captivity*. Kleiman, D.G., Allen, M.E., Thompson, K.V. and Lumpkin, S. (eds). The University of Chicago Press, Chigaco, p. 418-428.
- Schwarzenberger, F., Walzer, C., Tomasova, K., Vahala, J., Meister, J., Goodrowe, K.L., Zima, J., Strauss, G. and Lynch, M. (1998). Fecal progesterone metabolite analysis for non-invasive monitoring of the reproductive function in the white rhinoceros (*Ceratotherium simum*). *Anim. Reprod. Sci.*, 53:173-190.
- Schweinsburg, R.E. (1971). Home range, movements, and integrity of the collared peccary. *J. Wildl. Manage.*, 35:455-460.
- Schweinsburg, R.E. and Sowls, L.K. (1972). Aggressive behavior and related phenomena in the collared peccary. *Tierpsychol.*, 30: 132-145.
- Silva, J.V., Cardoso, D., Guimaraes, D.A., Albuquerque, N., Le Pendú, Y. And Ohashi, O. (2002). Biologia reproductiva de fêmeas de caititu (*Tayassu tajacu*) criadas em cativerio na Amazônia. *Revista Brasileira de Reprodução Animal Suppl.*, 5:180-182.
- Smith, N.J.H. (1976). Utilization of game along Brazil's trans-Amazon highway. *Acta Amaz.*, 6:455-466.
- Sowls, L.K. (1984). *The Peccaries*. The University of Arizona Press, Tucson.

- Sowls, L.K. (1997). Javelines and other Peccaries: The biology, management and use. College Station. Texas A. and M. University Press, Texas, p. 86-104.
- Sowls, L.K., Smith, N.S., Holton, D.W., Moss, G.E. and Estergreen, L.V. (1976). Hormone levels and corpora lutea cell characteristics during gestation in the collared peccary. Biol. Reprod., 14:572-578.
- Taylor, C. and Rajamahendran, R., (1991). Follicular dynamics and hábeas luteum growth and function in pregnant versus non pregnant dairy cows. J. Dairy Sci., 74: 115-123.
- Van Aarde, R.J. and Skinner, J.D. (1986). Functional anatomy of the ovaries and lactating Cape porcupines *Hystrix africaeaustralis*. J. Reprod. Fertil., 76: 553-59.
- Venezuela (1973). Programa Nacional de Investigadores Agrícolas. 4º parte. Recursos naturales renovables. Consejo Nacional de Investigadores Agrícolas, Caracas, 60 pp.
- Verdade, L.M. (1997). Criação de jacaré. Serie Animais Silvestres nº 106. Centro de Produções Técnicas, 62 pp.
- Vickers, W.T. (1993). Changing tropical forest resource management strategies among the Siona and Secoya Indians. En Tropical forests, people and food: Biocultural interactions and applications to development. Hladik, C.M., Hladik, A., Vickers, W.T. (1984). The faunal component of lowland South American hunting kills. Interciência, 9(6):366-376.
- Voipio, H-M. and Nevalainen, T. (1998). Improved method for vaginal plug detection in rats. Scand. J. Lab. Anim. Sci., 25: 5-9.
- Vos E.A., Van Oord R., Taverne M.A.M., Kruip T.A.M. (1999). Pregnancy diagnosis in sows: direct ELISA for estrone in feces and its prospects for an on-farm test, in comparison to ultrasonography. Theriogenology, 51: 829-840.
- Wan, S.S., Hennessy, D.P. and Cranwell, P.D. (1994) Seasonally infertility, stress and adrenocortical responsiveness in pigs. Anim. Reprod. Sci., 34: 265-79.
- Wasser, S.K., Papageorge, S., Foley, C. and Brown, J.L. (1996). Excretory fate of estradiol and progesterone in the African Elephant (*Loxodonta africana*) and patterns of fecal steroid concentrations throughout the estrous cycle. General and Comparative Endocrinology, 102:255-262.