

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**DINÂMICA OVARIANA E MICROBIOTA VAGINAL DURANTE O CICLO
ESTRAL EM CUTIAS *Dasyprocta prymnolopha* WAGLER, 1821 CRIADAS EM
CATIVEIRO**

ARTUR DA NÓBREGA CARREIRO

PATOS, 2018

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**DINÂMICA OVARIANA E MICROBIOTA VAGINAL DURANTE O CICLO
ESTRAL EM CUTIAS *Dasyprocta prymnolopha* WAGLER, 1821 CRIADAS EM
CATIVEIRO**

**Dissertação apresentada ao programa de
pósgraduação em medicina veterinária do
centro de saúde e tecnologia rural da
universidade federal de campina grande,
como parte dos requisitos para obtenção do
título de mestre em medicina veterinária.**

ARTUR DA NÓBREGA CARREIRO

Orientador: Danilo José Ayres de Menezes

Co-orientador: Carlos Enrique Peña Alfaro

PATOS, 2018

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO CSRT DA UFCG

C417d Carreiro, Artur da Nóbrega
Dinâmica ovariana e microbiota vaginal durante o ciclo estral em cutias
Dasyprocta prymnolopha Wagler, 1821 criadas em cativeiro / Artur da
Nóbrega Carreiro. – Patos, 2018.
73f. : il.; color.

Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade
Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, 2018.

“Orientação: Prof. Dr. Danilo José Ayres de Menezes.”

“Co-orientação: Prof. Dr. Carlos Enrique Peña Alfaro.”

Referências.

1. Rodentia. 2. Morfologia. 3. Microbiologia. 4. Reprodução. I. Título.

CDU 636.033

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAUDE E TECNOLOGIA RURAL
UNIDADE ACADÊMICA DE MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

ARTUR DA NÓBREGA CARREIRO
Mestrando

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Medicina Veterinária .

APROVADO EM/...../.....

EXAMINADORES:



Prof. Dr. Danilo José Ayres de Menezes
Departamento de Morfologia/CBIUFRN - Lagoa Nova/RN
Presidente e Orientador



Prof. Dr. Carlos Enrique Peña Alfaro
Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária/CSTR/UFCG
Membro Externo



Prof. Dra. Danielle Barbosa Morais
Departamento de Morfologia/CBIUFRN - Lagoa Nova/RN
Membro Externo

*Dedico este trabalho a Mãe Caatinga, por ser a minha casa
e eterna escola de vida e a meus pais Joaquim e Ceíça por
serem os pilares mestres de tudo que sou até hoje.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom do raciocínio e pela capacidade de aprendizado eterno;

A meus pais pela a oportunidade de uma encarnação de luz e aprendizado;

A minhas duas irmãs Juliana e Gabriela pelos conselhos na minha jornada;

A minha sobrinha que amo Ceci pelos sorrisos e risadas que temperam a nossa vida;

Aos meus dois irmãos Danilo e Franco por serem grandes amigos em todos os momentos;

A minha tia Fátima, pelo apoio nas diversas situações de imprevistos;

Aos meus avós José Carreiro e Celça Carreiro; Manoel Gomes e Mariza Medeiros pelo exemplo de dignidade, respeito e honestidade;

Ao professor Danilo José, pela oportunidade de fazer parte desta jornada de pesquisa e pelos ensinamentos empregados para me tornar um pesquisador melhor, mas acima de tudo, uma pessoa melhor;

Ao professor Carlos Peña Alfaro, por ter me ensinado tanto no universo da Ciência da Reprodução e por ter se disponibilizado a ensinar-me com toda sua paciência e tranquilidade;

Ao professor Otávio Brilhante de Sousa, por sempre estar a disposição para me orientar independente de horário ou situação;

Ao professor Stephenson, pelo apoio empregado em todas as coletas e pesquisas além de ter me proporcionado uma nova gama de conhecimentos no universo da Biologia;

Ao professor Rômulo, amigo/irmão que a Anatomia me trouxe e que sempre me ajudou nas pesquisas e nos problemas da vida;

Ao Laboratório de Reprodução Animal da UFCG pela disponibilidade técnica a qual foi fundamental para a realização de tal pesquisa;

Em especial, ao LIGAMORFA por ter sido a minha casa, onde fiz amigos que vou guardar pra sempre.

RESUMO

Através de ultrassonografias abdominais buscou-se caracterizar a mudanças morfológicas ocorridas nos ovários de cutias da espécie *Dasyprocta prymnolopha* criadas em cativeiro, além de identificar a microbiologia intravaginal existente na mesma espécie para cada fase dos seus respectivos ciclos estrais. Todos os animais foram submetidos a citologias vaginais diariamente para identificar as fases do ciclo estral. Para cada fase, foram realizados exames ultrassonográficos para identificar e descrever a morfologia de ambos os ovários, estabelecendo parâmetros topográficos em uma janela ultrassonográfica para localizá-los, além do cultivo microbiológico de conteúdo vaginal a fim de se identificar as colônias existentes na microbiota vaginal para cada fase do ciclo estral. A duração média do ciclo estral nos animais estudados foi de $29,94 \pm 6,7$ dias. Nas análises da morfologia ovariana, não foram observadas alterações morfométricas significativas nas medidas realizadas, entretanto a presença de folículos foi observada em 75% das fases de proestro. Observou-se uma grande diversidade de bactérias existentes na microbiota vaginal da cutia, predominando bactérias dos gêneros como: *Streptococcus* sp., *Bacillus* sp., *Escherichia coli*, *Citrobacter amalonattus*, *Staphylococcus* sp., *Corynebacterium* sp., *Klasiella* sp., *Proteus* sp., *Ttrueperella* sp., *Enterebacter* spp.

Palavras-chave: Rodentia, Morfologia, Microbiologia, Reprodução.

ABSTRACT

Abdominal ultrasonography was used to characterize the morphological changes occurring in the ovaries of the cutias of the species *Dasyprocta prymnolopha* raised in captivity, besides identifying the intravaginal microbiology existing in the same species for each phase of their respective estrous cycles. All animals were submitted to daily vaginal cytology to identify the phases of the estrous cycle. For each phase, ultrasound examinations were performed to identify and describe the morphology of both ovaries, establishing topographic parameters in an ultrasound window to locate them, as well as the microbiological culture of vaginal contents in order to identify the colonies in the vaginal microbiota for each stage of the estrous cycle. The mean duration of the estrous cycle in the animals studied was 29.94 ± 6.7 days. In the analysis of ovarian morphology, no significant morphometric changes were observed in the measurements performed, however the presence of follicles was observed in 75% of the proestrus phases. It was observed a great diversity of bacteria existing in the vaginal microbiota of the agouti, predominating bacteria of the genera such as: *Streptococcus sp.*, *Bacillus sp.*, *Escherichia coli*, *Citrobacter amalonattus*, *Staphylococcus sp.*, *Corynebacterium sp.*, *Klasiella sp.*, *Proteus sp.*, *Trueperella sp.*, *Enterobacter spp.*

Key words: Rodentia, Morphology, Microbiology, Reproduction.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	
REFERÊNCIAS	14
Capítulo I.....	16
DINÂMICA OVARIANA E EPITÉLIO VAGINAL DURANTE O CICLO ESTRAL EM <i>Dasyprocta prymnolopha</i> WAGLER, 1831 POR EXAMES ULTRASSONOGRÁFICOS E CITOLÓGICOS	17
RESUMO	18
INTRODUÇÃO	19
MATERIAL E MÉTODOS	21
RESULTADOS.....	23
DISCUSSÃO.....	27
CONCLUSÃO	30
REFERÊNCIAS	31
Capítulo II	35
MICROBIOTA VAGINAL NAS DIFERENTES FASES DO CICLO ESTRAL EM CUTIAS <i>Dasyprocta prymnolopha</i> WAGLER, 1831	36
1. INTRODUÇÃO	37
2. MATERIAL E METODOS	38
3. RESULTADOS	39
4. DISCUSSÃO.....	40
5. CONCLUSÃO	41
REFERÊNCIAS	42
CONSIDERAÇÕES FINAIS	44
ANEXO I.....	45
ANEXO II	50

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

- Tabela 1** - Média e desvio padrão da duração do ciclo estral em cutias (*Dasyprocta prymnolopha*) durante as diferentes fases do ciclo estral (n=10).....23
- Tabela 2** - Média e desvio padrão dos ovários em cutias (*Dasyprocta prymnolopha*) durante as diferentes fases do ciclo estral (n = 10) obtidas a partir de imagens ultrassonográficas24
- Tabela 3** - Medidas morfométricas de folículos ovárianos identificados em cutias (*Dasyprocta prymnolopha*) durante as diferentes fases do ciclo estral (n = 10) obtidas a partir de imagens ultrassonográficas.....25

LISTA DE GRÁFICOS E FIGURAS

CAPÍTULO I

Figura 1 - Imagem ultrassonográfica em *doppler* colorido com o triângulo topográfico (A) formado pela borda caudal do rim esquerdo (1), o ligamento suspensório do ovário (2) e a artéria ovariana (3). No centro, o ovário esquerdo da cutia nº437 (OV E 437) (A/B).....23

CAPÍTULO II

Gráfico 1 – Prevalência de bactérias na vagina em cada fase do ciclo estral de cutias da espécie *Dasyprocta prymnolopha* criadas em cativeiro.....23

INTRODUÇÃO GERAL

A grande diversidade faunística brasileira, a diminuição das populações silvestres pela caça predatória, o tráfico de animais e a destruição dos ecossistemas naturais pelo homem (MENEZES et al., 2003), contribuíram para o aumento significativo das pesquisas envolvendo animais silvestres nesses últimos anos (ALMEIDA, 2003), devido à importância da preservação de algumas espécies, a produção de alimentos e de rendimentos, como também, na busca de modelos alternativos que podem ser utilizados para pesquisas experimentais (FORTES, et al., 2005). Com os estudos relativos à biologia de animais silvestres, houve a obtenção de conhecimentos para colaborar com o crescimento da produção animal, onde algumas espécies mostram fácil adaptação em cativeiro e bom desempenho zootécnico. Os roedores são animais que oferecem uma rusticidade ímpar apresentando uma grande diversidade funcional devido a sua variedade em adaptações ecológicas, suportando os mais diversos tipos de climas e altitudes (CONCEIÇÃO et al, 2008). Dentre as espécies mais predadas, a cutia (*Dasyprocta sp.*) se destaca por apresentar uma diminuição significativa de suas populações, tanto pela caça indiscriminada como também pela destruição dos seus *habitats* (HOSKEN e SILVEIRA, 2001; FERREIRA et al, 2004). É um roedor de porte médio encontrado na zona tropical das Américas que apresenta fácil reprodução em cativeiro, porém sua biologia reprodutiva é pouco conhecida (GUIMARÃES, MOREIRA, VALE, 1997).

A domesticação de animais silvestres é pouco relatada, mas revela o potencial existente para a produção de proteína animal de qualidade e seu impacto sobre a distribuição de renda e desenvolvimento socioeconômico, especialmente para as comunidades rurais (HOSKEN; SILVEIRA, 2001; RODRIGUES et al., 2003) que se encontram distantes de grandes centros urbanos. Essa crescente demanda por fontes proteicas exóticas, a comercialização da pele, couro e pelos, que apresentam grande potencial de mercado, são os principais responsáveis pelo fortalecimento dessa atividade (MENDONÇA et al., 2006; LOPES et al., 2004; CAVALCANTE et al., 2005).

Como alternativa, a criação de animais silvestres nativos pode vir a tomar o lugar da pecuária tradicional para produtores rurais de baixa renda, em regiões menos propícias para criações mais exigentes, como bovinocultura e a avicultura, o que já é uma realidade (NOGUEIRA, 2000) principalmente em países como o Brasil, onde a caça não é permitida, o acesso à carne de animais silvestres é conseguida de forma clandestina.

Porém, como todo tipo de criação, existe a necessidade de melhorar o manejo e o sistema de produção de animais silvestres, tendo em vista a carência de conhecimentos em

relação ao manejo adequado, reprodutivo e produtivo desses animais, o que iria possibilitar a produção racional em larga escala e a oferta de proteína animal de baixo custo (LOPES et al., 2004; CAVALCANTE et al., 2005; MEDONÇA et al., 2006)

Dentre as espécies silvestres com potencial a exploração zootécnica, a cutia do Gênero *Dasyprocta* é um roedor que vem demonstrando bons índices reprodutivos em cativeiro (GUIMARÃES, MOREIRA e VALE, 1997), o que despertou o interesse de pesquisas relacionadas a área. Dessa forma, alguns dados sobre a reprodução dessa espécie já se encontram disponibilizados na literatura.

Estudos apontam que a duração do ciclo estral da cutia varia de acordo com a espécie, apresentando a média de 30 dias na *Dasyprocta prymnolopha* (GUIMARÃES, MOREIRA e VALE, 1997), 28 dias na *Dasyprocta leporina* (CAMPOS et al., 2015) e 34 dias na *Dasyprocta aguti* (WEIR, 1971). Esses estudos foram dirigidos por meio de citologia vaginal, porém, a utilização de uma técnica de fácil acesso, rápida e não invasiva como a ultrassonografia, pode ser uma ferramenta que pode auxiliar no monitoramento e em maior entendimento acerca da fisiologia reprodutiva de diversos animais. Durante o ciclo estral, várias populações de microorganismos apresentam enzimas que lhes permitem ou preparam para sobreviver e multiplicar-se no ambiente vaginal. O aumento do glicogênio, que ocorre em algumas fases do ciclo reprodutivo favorece o predomínio de organismos acidófilos entre o grupo heterogêneo que constitui a flora vaginal normal (WEIR, 1971). O conhecimento sobre as doenças que acometem o sistema reprodutor dos animais silvestres pode contribuir para o controle das desordens reprodutivas, bem como, auxiliar na implementação de programas de manejo reprodutivo, através da seleção de animais férteis para o acasalamento, criopreservação de gametas e inseminação artificial (MEDONÇA et al., 2006).

Com o objetivo de colaborar com dados reprodutivos em cutias, foram realizados estudos sobre a dinâmica ovariana e microbiota vaginal, os quais foram organizados em dois artigos que compõem os capítulos dessa dissertação.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, M.M.; CARVALHO, M.A.M.; CAVALCANTE FILHO, M.F.; MIGLINO, M.A.; MENEZES, D.J.A. **Estudo morfológico e morfométrico do ovário de cutias (*Dasyprocta aguti*, Linnaeus, 1766)**. Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science. v.40, n.2, pp. 55-62, 2003.
- CAMPOS LB, PEIXOTO GCX, LIMA GL, CASTELO TS, SOUZA AL P, OLIVEIRA MF, SILVA RA. **Monitoramento do ciclo estral de cutias (*Dasyprocta leporina* Lichtestein, 1823) através de citologia esfoliativa vaginal e ultrassonografia**. Pesquisa Veterinária Brasileira 2015, 35, 188-192.
- CAVALCANTE RR, ALMEIDA MM, MOURA SG, MARTINS JÚNIOR LM, CONDE JÚNIOR AM, CARVALHO MAM, LOPES JB. **Peso pós-parto, frequência e prevalência do tipo de parto de cutias (*Dasyprocta* sp.) criadas em cativeiro**. Ciência Animal Brasileira 2005, 6, 67-70.
- CONCEIÇÃO, R. A.; AMBRÓSIO. C. E.; MARTINS, D. S.; FRANCIOLLI, A. L. R.; MACHADO, M. R. F.; OLIVEIRA, M. F.; MIGLINO, M. A. **Aspectos morfológicos do saco vitelino em roedores da subordem Hystricomorpha: paca (*Agouti paca*) e cutia (*Dasyprocta aguti*)**. *Pesq. Vet. Bras.*, Maio 2008, vol.28, no.5, p.253-259. ISSN 0100-736X.
- FERREIRA, A.C.S.; GUIMARÃES, D.A.A.; LUZ-RAMOS, R.S.; SOUZA, P.C.; BATISTA, C.R.; OHASHI, O.M. **Reproductive developmental phases of male agouti (*Dasyprocta* sp.) raised in captivity determined by quantitative analysis of spermatogenic cells**. Revista Brasileira de Reprodução Animal, 28, 4, 196-201. 2004
- FORTES, E. A. M., CARVALHO, M. A. M.; ALMEIDA, M. M.; CONDE JÚNIOR, A. M.; CRUZ, N. E. A.; ASSIS-NETO, A. C. **Aspectos morfológicos da tuba uterina de cutias (*Dasyprocta aguti*, Mammalia: Rodentia)**. Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science.307 São Paulo, v. 42, n. 2, p. 130 – 134, 2005.
- GUIMARÃES DA, MOREIRA D, VALE WG. **Determinação do ciclo reprodutivo da cutia (*Dasyprocta prymnolopha*) através do diagnóstico colpocitológico**. Acta Amazonica 1997, 27, 55-64.
- LOPES JB, CAVALCANTE RR, ALMEIDA MM, CARVALHO MAM, Moura SG, DANTAS FILHO LA, CONCEIÇÃO WLF. **Desempenho de cutias (*Dasyprocta prymnolopha*) criadas em cativeiro do nascimento até o desmame em Teresina, Piauí**. Revista Brasileira de Zootecnia 2004, 33,2318-2322.
- MENDONÇA IL, ALMEIDA MM, CONDE JÚNIOR AM, CAVALCANTE AR, MOURA SG, CARVALHO MAM. **Análise coproparasitológica de cutias (*Dasyprocta* sp.) criadas em cativeiro**. Ciência Animal Brasileira 2006, 7, 285-288.
- MENEZES, D. J. A. **Caracterização do ciclo reprodutivo anual de cutia macho (*Rodentia: Dasyproctidae*) criado em cativeiro: dinâmica testicular e avaliação hormonal**. 2010. 78 f. Tese (doutorado em Sanidade e Reprodução Animal) – Universidade Federal do Piauí, Teresina, Piauí, 2010.

NOGUEIRA FILHO SLG. NOGUEIRA SSC. **Criação comercial de animais silvestres: produção e comercialização da carne e de subprodutos na região sudeste do Brasil.** Revista Econômica do Nordeste 2000, 31,188-195.

OHASHI O; MIRANDA MS; SANTOS, SD; CORDEIRO MS; COSTA, NN; SILVA, TV; 2012. **Distúrbios reprodutivos do rebanho bubalino nacional.** Ciênc. Anim. 22(1):171-187.

WEIR BJ. **Some observations on reproduction in the female agouti, *Dasyprocta agouti*.** Journal of Reproduction and Fertility 1971, 24, 203-211.

Capítulo I

**Dinâmica ovariana e epitélio vaginal durante o ciclo estral em *Dasyprocta prymnolopha*
WAGLER 1821 por exames ultrassonográficos e citológicos.**

Artigo aceito pela Journal of Veterinary Science (JVS) - aceito em 26/12/2017
(Fator de impacto : 1.164 / Qualis : B1)

**DINÂMICA OVARIANA E EPITÉLIO VAGINAL DURANTE O CICLO ESTRAL
EM *Dasyprocta prymnolopha* WAGLER, 1821 POR EXAMES
ULTRASSONOGRÁFICOS E CITOLÓGICOS**

Artur N. Carreiro¹; João A. R. Alves Diniz²; Joyce G. de Souza²; Débora V. Fernandes de Araújo²; Rômulo F. Francelino Dias²; Liliane M. dos Santos Azerêdo¹; Ediane F. Rocha¹; Ana Yasha F. de La Salles¹; Carlos E. Peña Alfaro²; Maria A. Martins de Carvalho³; Maria J. Illera⁴; Danilo J. Ayres de Menezes^{*1;5}

¹ Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, 58708-110, Patos, Paraíba, Brasil.

² Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, 58708-110, Patos, Paraíba, Brasil.

³ Departamento de Morfologia Veterinária, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Piauí, Ministro Petrônio Portela Campus, 64049-550, Teresina, Piauí, Brasil.

⁴ Departamento de Fisiologia Animal, Universidade Complutense de Madrid, 28040, Madrid, Espanha.

⁵ Departamento de Morfologia da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 59078-970, Natal, Rio Grande do Norte, Brasil.

*Autor de correspondência: Danilo J. Ayres de Menezes, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Centro de Biociência, Department of Morphology, Universidade Campus de Lagoa Nova, Cx.P. 1524, 59078-970, Natal, Rio Grande do Norte, Brasil. Tel: ++55 84 98101 9198, Fax:++ 84 3215 3431, e-mail address: mdanayres@gmail.com

Título corrente: exame ultrassonográfico de ovário durante o ciclo estral de cutias.

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi acompanhar e caracterizar as alterações morfológicas ocorridas nos ovários de cutias da espécie *Dasyprocta prymnolopha*, criadas em cativeiro, por meio de ultrassonografia abdominal. Todos os animais foram submetidos a citologias vaginais diariamente para identificar as fases do ciclo em que se encontravam. Para cada fase, foram realizados exames ultrassonográficos para identificar e descrever a morfologia de ambos os ovários referentes a cada fase do ciclo estral, estabelecendo parâmetros topográficos em uma janela ultrassonográfica para localizá-los. A duração dos ciclos estrais em média foi de $29,94 \pm 6,7$ dias. Durante os exames citológicos, todos os tipos celulares foram identificados e, através da contagem de células, foi possível estabelecer cada fase dos ciclos estrais. Em relação à morfologia ovariana, não foram observadas alterações morfométricas significativas nas medidas realizadas, mas a presença de folículos foi observada em 75% das fases de proestro.

Palavras-chave: Cutia, Morfologia, Reprodução.

INTRODUÇÃO

No passado as atividades agropecuárias restringiam-se à subsistência humana, mas com o desenvolvimento das sociedades, a busca por aperfeiçoamento e profissionalização tornou-se necessária para o sucesso da criação animal. Com isso, para o maior sucesso das criações de animais tradicionais, como bovinos, suínos, caprinos e ovinos, fazem-se necessárias condições de criação adequadas, que depende de diversos fatores como clima, condições biológicas, estacionalidade ou sazonalidade de produção [20].

Como alternativa, a criação de animais silvestres nativos pode vir a tomar o lugar da pecuária tradicional para produtores rurais de baixa renda, em regiões menos propícias para criações mais exigentes, como bovinocultura e a avicultura, o que já é uma realidade [16] principalmente em países como o Brasil, onde a caça não é permitida, o acesso à carne de animais silvestres é conseguida de forma clandestina.

Estas práticas de criação auxiliam indiretamente a conservação destas mesmas espécies na natureza, por assim abastecer um mercado lícito já estabelecido, com animais nascidos no cativeiro e criados para determinados fins, acabando com a prática da caça ilícita em países que não a permitem [10].

Porém, como todo tipo de criação, existe a necessidade de melhorar o manejo e o sistema de produção de animais silvestres, tendo em vista a carência de conhecimentos em relação ao manejo adequado, reprodutivo e produtivo desses animais, o que iria possibilitar a produção racional em larga escala e a oferta de proteína animal de baixo custo [14]; [12]; [4].

Dentre as espécies silvestres com potencial a exploração zootécnica, a cutia do Gênero *Dasyprocta* é um roedor que vem demonstrando bons índices reprodutivos em cativeiro [8], o que despertou o interesse de pesquisas relacionadas a área. Dessa forma, alguns dados sobre a reprodução dessa espécie já se encontram disponibilizados na literatura.

Estudos apontam que a duração do ciclo estral da cutia varia de acordo com a espécie, apresentando a média de 30 dias na *Dasyprocta prymnolopha* [8], 28 dias na *Dasyprocta leporina* [2] e 34 dias na *Dasyprocta aguti* [22]. Esses estudos foram dirigidos por meio de citologia vaginal, porém, a utilização de uma técnica de fácil acesso, rápida e não invasiva como a ultrassonografia, pode ser uma ferramenta que pode auxiliar no monitoramento e em maior entendimento acerca da fisiologia reprodutiva de diversos animais.

A associação entre a ultrassonografia e a citologia vaginal constituem uma alternativa viável para a identificação da presença de folículos pré-ovulatórios em cutias, proporcionando indícios suficientes para a comprovação da ocorrência de estro [2].

As investigações sobre os aspectos reprodutivos da cutia merecem destaque e, embora enriqueçam o acervo do conhecimento humano, ainda são insuficientes para garantir a adequada reprodução dessa espécie, seja em cativeiro ou mesmo em vida livre [19].

Com a perspectiva de contribuir com o conhecimento da fisiologia reprodutiva de cutias da espécie *D. prymnolopha* o presente trabalho objetivou, por meio de ultrassonografia, caracterizar as modificações da morfologia ovariana nesta espécie, em condições de cativeiro, nas diferentes fases do ciclo estral, além de fornecer dados acerca da morfologia e topografia do ovário *in loco*, por meio da imagem ultrassonográfica.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 11 animais hígdos da espécie *Dasyprocta prymnolopha*, sendo 10 fêmeas e um macho vasectomizado, provenientes do Núcleo de Preservação de Animais Silvestres (NEPAS) localizado na Universidade Federal do Piauí. O experimento foi conduzido no Laboratório de Pesquisas Morfológicas da Universidade Federal de Campina Grande, Patos, Paraíba, Brasil. Os protocolos metodológicos deste projeto foram aprovados pelo Ministério do Meio Ambiente, por meio do Sistema de Autorização e Informação da Biodiversidade – SISBIO, do Instituto Chico Mendes – ICMBio, sob protocolos N° 45046-1 e 47944-1, e pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da UFCG, CEP N° 237 - 2014.

Os animais foram mantidos em ambiente adaptado com 24m² de área coberta, luminosidade e ventilação natural, piso misto com parte em cimento (16m²) e parte em areia (8m²) e com enriquecimento ambiental de tocas de alvenaria, plantas e alimentação a base de ração extrusada (13% de umidade, 14% de proteína bruta, 15% fibra em detergente ácido, 0,6% de fósforo, 15% de matéria fibrosa, 17% de matéria mineral, 4% de extrato etéreo, 2% de cálcio).

Os animais eram mantidos juntos, simulando ambiente familiar, com o macho vasectomizado para a promoção de estímulo sexual sem risco de prenhez. Um período de adaptação de um mês foi respeitado antes do início do estudo, no qual foi utilizado sistema de vigilância eletrônica com câmeras de alta resolução modelo Infra (Jortan®, Brasil) acopladas a um disco rígido de modelo H.264 (Jortan®, Brasil) para avaliação do comportamento dos animais. Após constatado comportamento de forrageamento com as patas dianteiras; repouso deitado sobre os membros e cuidados autodirigidos como lambar o dorso e os membros, característicos de conforto e adaptação ao ambiente[11], iniciou-se o experimento, no qual as fases de dois ciclos estrais completos de cada fêmea foram acompanhadas por meio de citologias vaginais diárias, utilizando haste flexível com algodão na ponta (*swab*) estéril,

embebida em solução fisiológica a 0,9%, introduzindo na vagina e confeccionando lâminas de esfregaço vaginal para leitura em microscópio de luz, identificando as fases conforme a quantificação celular, contando-se 100 células por lâmina, identificando as células Parabasais, Intermediárias grandes e pequenas, Superficiais nucleadas e anucleadas e suas proporções, conforme metodologia descrita[8]. Ainda seguindo estes autores, as características anatômicas da genitália externa dos animais foram observadas e anotadas antes do início das citologias.

Sempre que identificada a mudança de fase do ciclo estral por meio da citologia vaginal, os animais eram encaminhados ao Laboratório de Pesquisa Morfológicas da Universidade Federal de Campina Grande sendo previamente submetidos a um jejum alimentar de 6 horas devido a alta mobilidade das alças intestinais e contidos manualmente em decúbito lateral e, após tricotomia prévia das regiões abdominais laterais, os mesmos eram submetidos a exames ultrassonográficos, utilizando-se aparelho de ultrassonografia modelo Z5 Vet (Mindray®, China), acoplado a um transdutor linear na frequência de 7,5 hz. Para a localização dos ovários, tomando-se como referências topográficas os rins, respectivamente em suas porções caudais, identificou-se o ligamento suspensor do ovário dorsalmente e a artéria ovariana ventralmente, estabelecendo-se uma espécie de “triângulo” topográfico para facilitar a identificação dos ovários. Os ovários foram mensurados quanto aos diâmetros maiores e menores e suas respectivas áreas, além de observada suas características morfológicas de ecotextura e ecogenicidade. Quando a identificação era possível realizou-se a contagem e mensuração dos folículos. A avaliação estatística referente às médias de mensuração dos ovários foi realizada pelo *Software* InStat 3® através da análise de variância e comparação de medias pelo teste de Tukey, com significância ao nível de 5%.

RESULTADOS

Após o período de adaptação, os animais mostraram comportamento estável, característico de cutias em cativeiro. Com relação ao ciclo estral das cutias foi obtida uma média de $29,94 \pm 6,7$ dias com uma variação de 18 a 41 dias (Tabela 1)

Tabela 1: Média e desvio padrão da duração do ciclo estral em cutias (*Dasyprocta prymnolopha*) durante as diferentes fases do ciclo estral (n=10)

	Estro	Metaestro	Diestro	Proestro	Total
Média de dias	2,885	4,185	19,505	3,37	29,945
Desv. Padrão	$\pm 0,673$	$\pm 4,185$	$\pm 6,979$	$\pm 1,485$	$\pm 6,774$

Nos exames citológicos realizados nas cutias foi possível observar todos os tipos celulares em todas as fases do ciclo estral, porém as fases foram identificadas pelo quantitativo proporcional de cada tipo celular nas diferentes fases, seguindo a metodologia utilizada para o gênero *Dasyprocta* [8].

As características anatômicas da genitália externa das cutias mostraram alterações referentes a aumento de volume e hiperemia ao redor da região urogenital, estreitamento do canal cervical e a presença de muco com odor característico.

Durante os exames ultrassonográficos, observou-se a necessidade do jejum alimentar prévio e a ingestão de líquidos para reduzir a quantidade de gases dentro das alças intestinais para uma melhor avaliação. Foi possível padronizar o acesso do ovário na cutia pela região abdominal lateral, na fossa paralombar direita e esquerda, com janela formada pela imagem

do respectivo rim, tomando como referências topográficas a borda caudal do rim cranialmente, o ligamento suspensor do ovário dorsalmente, e a imagem dos fluxos sanguíneos da veia e artéria ovarianas ventralmente, captadas através de *doppler* colorido. A partir desses pontos foi possível traçar um triângulo, onde era possível, nessa área, identificar os ovários direito e esquerdo, localizados ao centro e ao vértice superior direito deste mesmo triângulo respectivamente (Figura 1).

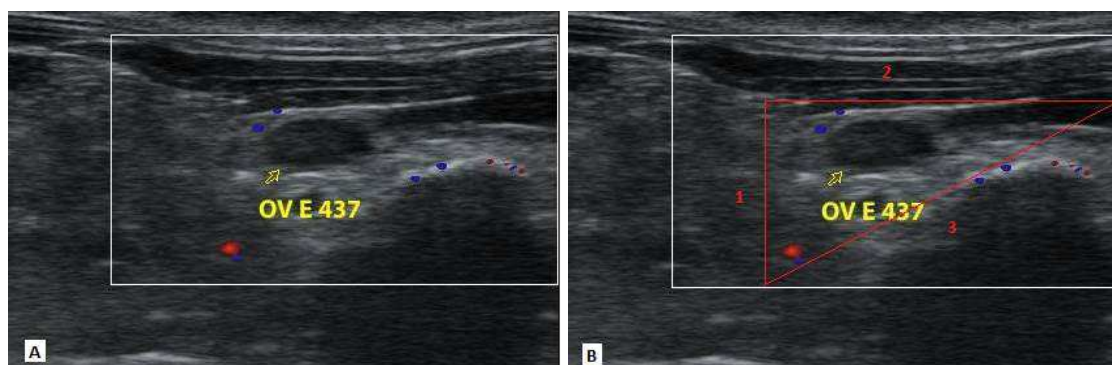


Figura 1 - Imagem ultrassonográfica com *doppler* colorido do triângulo topográfico (A) formado pela borda caudal do rim esquerdo (1), o ligamento suspensor do ovário (2) e a artéria ovariana (3). Ao centro o Ovário esquerdo da cutia de nº437 (OV E 437) (B).

Ambos os ovários apresentaram-se como estruturas acatadas e hipoeóicas extremamente semelhantes entre si morfometricamente. O ovário direito apresentava uma localização mais instável em virtude da forte influencia do peristaltismo intestinal que o esquerdo, dificultando sua localização nos exames ultrassonográficos. Com relação às medidas dos ovários para cada fase do ciclo estral, não observou-se diferença de tamanho significativa nos diâmetros e áreas para ambos os ovários ($p < 0,05$) (Tabela 2) em contrapartida, estruturas reprodutivas como os folículos ovarianos foram possíveis de se identificar nos parênquimas ovarianos numa taxa percentual de 75% das fêmeas avaliadas,

em virtude da sua difícil delimitação e semelhança ultrassonográfica com o parênquima ovariano.

Tabela 2- Médias e desvios-padrão das mensurações dos ovários de *Cutias (Dasyprocta prymnolopha)* durante as diferentes fases do ciclo estral (n=10) obtidas por meio de imagens ultrassonográficas

	Fase do Ciclo	Diâmetro maior	Diâmetro menor	Área (cm²)
	Estral	(cm)	(cm)	
Ovário Esquerdo	Estro	0,805 ± 0,06456	0,3033 ± 0,04891	0,2092 ± 0,02999
	Metaestro	0,81 ± 0,05563	0,3113 ± 0,07602	0,2107 ± 0,04735
	Diestro	0,8117 ± 0,03394	0,2910 ± 0,04824	0,2111 ± 0,03098
	Proestro	0,7865 ± 0,05351	0,3032 ± 0,03576	0,2038 ± 0,02203
	Fase do Ciclo	Diâmetro maior	Diâmetro menor	Área (cm²)
	Estral	(cm)	(cm)	
Ovário Direito	Estro	0,8085 ± 0,06355	0,2741 ± 0,03477	0,2107 ± 0,04735
	Metaestro	0,817 ± 0,03155	0,2700 ± 0,02625	0,2015 ± 0,02161
	Diestro	0,7977 ± 0,05936	0,2730 ± 0,03569	0,1994 ± 0,01456
	Proestro	0,8067 ± 0,06517	0,2935 ± 0,04438	0,2100 ± 0,03458

Todos os folículos identificados, foram observados nas fases referentes ao Proestro com médias morfométricas indicativas de folículos pré-ovulatórios (Tabela 3). No tocante a identificação das modificações morfológicas ovarianas observou-se a presença de folículos ovarianos em 75% das fêmeas avaliadas.

Tabela 3 – Médias morfométricas de folículos ovarianos identificados em cutias (*Dasyprocta prymnolopha*) durante as diferentes fases do ciclo estral (n=10) obtidas por meio de imagens ultrassonográficas

		Fase do ciclo estral			
		Estro	Metaestro	Proestro	Diestro
Ov. Direito	Diâmetro Maior	N	N	1,1mm	N
	Diâmetro Menor	N	N	0,701mm	N
	Área	N	N	0,0605mm ²	N
Ov. Esquerdo	Diâmetro Maior	N	N	1,09mm	N
	Diâmetro Menor	N	N	0,693mm	N
	Área	N	N	0,0592mm ²	N

Vale salientar que não foi possível a visualização de fluxo sanguíneo folicular através do *doppler* colorido talvez pela discreta circulação existente no mesmo, não perceptível ao aparelho utilizado. Não foi possível a identificação de corpos lúteos através da ultrassonografia no presente estudo. e que não houve a necessidade de contenção química dos animais para a realização dos exames, isto confere praticidade, segurança e rentabilidade para o manejo produtivo em larga escala visto que a contenção mecânica se fez efetiva na realização das técnicas ultrassonográficas.

DISCUSSÃO

Os atos foram desempenhados em repouso, com movimentação da cabeça e focinho para verificação do ambiente, e também em movimentação corporal, pela utilização dos membros torácicos para alterar aspectos ao seu redor, principalmente os relacionados à procura e guarda do alimento registrados para o mesmo gênero [11] serviram de referência para a avaliação da adaptabilidade dos mesmos ao ambiente afim de que nenhum fator comportamental interferisse em sua fisiologia reprodutiva o que foi comprovado com o acompanhamento do ciclo estral dos animais, mostrando-se dentro da média estabelecida para o gênero [8]; [2] e corroborando com os dados obtidos por outros pesquisadores [10],[9] onde a duração do cio é espécie-dependente e varia de uma fêmea para outra dentro de uma mesma espécie. Apesar de confinadas em um mesmo ambiente, não foi observado sincronismo dos ciclos estrais pelo efeito macho entre as fêmeas, como relatado em outros trabalhos que envolviam manejo reprodutivo em animais domésticos [13]; [18]; [15].

Várias camadas celulares, morfologicamente distintas formam a mucosa vaginal. Essas camadas variam em espessura ao longo do ciclo estral, durante a gestação, anestro e lactação [6]. Sob a ação estrogênica, as camadas do epitélio estratificado da vagina, principalmente as mais superficiais, sofrem proliferação, resultando na esfoliação de células queratinizadas. No entanto, quando há predomínio da ação progesterônica e, conseqüente atividade estrogênica baixa, ocorre a proliferação e maturação das células epiteliais presentes nas camadas mais profundas [21]. Nos exames citológicos realizados nas cutias foi possível observar todos os tipos celulares em todas as fases do ciclo estral e as suas fases foram identificadas pelo quantitativo proporcional de cada tipo celular nas diferentes fases, seguindo a metodologia descrita para o gênero *Dasyprocta* [8], em contrapartida alguns autores [2] afirmaram que não foi possível distinguir a fase de proestro da fase de estro por meio da citologia vaginal na *Dasyprocta leporina*. Em um estudo realizado com catetos *Pecari tajacu*

espécie nativa em nosso país [7], observaram uma padronização celular muito semelhante ao do presente trabalho em morfologia e disposição celular para cada fase dos ciclos estrais destacando a alta presença de células superficiais e intermediárias em todas as fases, onde o referencial tomado para diferenciação de cada fase seria a presença ou ausência de leucócitos associados as características da genitália externa também observadas nos indivíduos do presente estudo salientando-se que em casos esporádicos, alguns animais não apresentaram estas características externas bem definidas, apesar de estarem na fase de Estro determinadas pela citologia vaginal.

Com relação aos exames ultrassonográficos realizados em Indivíduos do gênero *Dasyprocta*, observa-se uma escassez de trabalhos de tal natureza que padronizem uma localização exata através de pontos topográficos para a avaliação da morfologia ovariana e suas estruturas anexas o que dificulta a realização da técnica em indivíduos de mesmo gênero por outros pesquisadores

O jejum alimentar prévio e a ingestão de líquidos para reduzir a quantidade de gases dentro das alças intestinais para uma melhor avaliação semelhante aos procedimentos como indicado para pequenos animais demonstram que apesar de suas características anatômicas específicas a visualização está sujeita aos mesmos fatores apresentados pelo peristaltismo em animais domésticos [3]. Em pequenos animais, durante a fase de proestro por influência estrogênica, todo trato reprodutivo sofre alterações com relação a um aumento de volume [3], com relação as cutias, essas variações não foram visíveis nos exames ultrassonográficos, o que nos leva ao questionamento sobre as peculiaridades hemodinâmicas presentes em sua espécie observadas também em indivíduos da espécie *Dasyprocta leporina* [2] e *Cuniculus paca* [5], mostrando-se como estruturas achatadas, com densidade hipocóica. Com relação a eficácia de visualização dos folículos e delimitação dos mesmos pode ser justificada por estes animais apresentarem os ovários cobertos pelo mesossalpinge, especificamente na região

mesovárica e na face lateral do mesmo observados por outros autores com indivíduos da espécie *Cuniculus paca* [17] e *Dasyprocta leporina* [11] [2].

CONCLUSÃO

As dimensões ovarianas não servem de padrão para diferenciação das fases estrais, pois não houve diferenças no comprimento, largura e área dos ovários nas diferentes fases. Apesar da eficiência da técnica de ultrassonografia em identificar e distinguir a fase folicular, para a determinação das demais fases do ciclo estral, faz-se necessário o uso de testes complementares, tais como o da citologia vaginal e, até mesmo, estudos com técnicas de dosagem de hormônios sexuais para que se obtenha dados mais precisos sobre o ciclo reprodutivo de tal espécie

REFERÊNCIAS

1. **ALMEIDA MM, CARVALHO MAM, CAVALCANTE MF, MIGLINO MA, MENEZES DJA.** Estudo morfológico e morfométrico do ovário de cutias (*Dasyprocta aguti*, Linnaeus, 1766). Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science 2003, 40,55-62
2. **CAMPOS LB, PEIXOTO GCX, LIMA GL, CASTELO TS, SOUZA AL P, OLIVEIRA MF, SILVA RA.** Monitoramento do ciclo estral de cutias (*Dasyprocta leporina* Lichtestein, 1823) através de citologia esfoliativa vaginal e ultrassonografia. Pesquisa Veterinária Brasileira 2015, 35, 188-192.
3. **CARVALHO CF.** Ultra-sonografia em pequenos animais. 5ª ed. Pp. 227- 280, Roca, São Paulo, 2004.
4. **CAVALCANTE RR, ALMEIDA MM, MOURA SG, MARTINS JÚNIOR LM, CONDE JÚNIOR AM, CARVALHO MAM, LOPES JB.** Peso pós-parto, frequência e prevalência do tipo de parto de cutias (*Dasyprocta* sp.) criadas em cativeiro. Ciência Animal Brasileira 2005, 6, 67-70.
5. **FELICIANO MAR, BARROS FFPC, COUTINHO LN, BRITO MBS, USCATEGUI RR, SANTOS VJC, ALMEIDA VT, KAWANAMI AE, NOCITI RP, MACHADO MRF, VICENTE WRR.** Conventional and Doppler Abdominal Ultrasonography in pacas (*Cuniculus paca*). Acta Scientiae Veterinariae 2014, 42, 1-6.
6. **GHANNAM SAM, BOSC MJ, BUISSON FM.** Examination of vaginal epithelium of the sheep and its use in pregnancy diagnosis. Am. J. Vet. Res 1972, 33, 1175 – 1185.

7. **GUIMARÃES DAA, GARCIASCG, PENDU Y, ALBUQUERQUE NI.** Determinação do ciclo estral em catetos *Pecari tajacu*: aspectos colpocitológicos e clínicos. Acta Amazônica, 2011, 41, 583-588.
8. **GUIMARÃES DA, MOREIRA D, VALE WG.** Determinação do ciclo reprodutivo da cutia (*Dasyprocta prymnolopha*) através do diagnóstico colpocitológico. Acta Amazonica 1997, 27, 55-64.
9. **HAFEZ ESE, HAFEZ B.** Reprodução Animal. 7ªed. Manole, São Paulo 2004.
10. **HOSKEN FM, SILVEIRA AC.** Criação de cutias. 4ª ed. Pp 231, Aprenda Fácil, Viçosa 2001.
11. **KAISER SK, MARGARIDO TCC, FISCHER ML.** Avaliação do comportamento de cutias *Dasyprocta azarae* e *Dasyprocta leporina* (Rodentia: *Dasyproctidae*) em cativeiro e semicativeiro em parques urbanos de Curitiba, Paraná, Brasil. Revista de Etologia 2011, 10, 68-82.
12. **LOPES JB, CAVALCANTE RR, ALMEIDA MM, CARVALHO MAM, Moura SG, DANTAS FILHO LA, CONCEIÇÃO WLF.** Desempenho de cutias (*Dasyprocta prymnolopha*) criadas em cativeiro do nascimento até o desmame em Teresina, Piauí. Revista Brasileira de Zootecnia 2004, 33,2318-2322.
13. **MARTIN GB, SCARAMUZZI RJ, LINDSAY DR.** Effect of the introduction of rams during the anoestrous season on the pulsatile secretion of LH in ovariectomized ewes. Journal of Reproduction and Fertility 1983, 67,47-55.

14. **MENDONÇA IL, ALMEIDA MM, CONDE JÚNIOR AM, CAVALCANTE AR, MOURA SG, CARVALHO MAM.** Análise coproparasitológica de cutias (*Dasyprocta sp.*) criadas em cativeiro. *Ciência Animal Brasileira* 2006, 7, 285-288.

15. **MURATA K, TAMOGAMI S, ITOU M, OHKUBO Y, WAKABAYASHI Y, WATANABE H, OKAMURA H, TAKEUSHI Y, MORI Y.** Identification of an olfactory signal molecule that activates the central regulator of reproduction in goats. *Current Biology* 2014,24,681-686.

16. **NOGUEIRA FILHO SLG. NOGUEIRA SSC.** Criação comercial de animais silvestres: produção e comercialização da carne e de subprodutos na região sudeste do Brasil. *Revista Econômica do Nordeste* 2000, 31,188-195.

17. **REIS ACG,** Morfologia do sistema genital feminino da paca (*Cuniculus paca*, Linnaeus, 1766). *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science* 2011,48, 183-191.

18. **REKWOT PI, OGWU D, OYEDIPE EO, SEKONI VO.** The role of pheromones and biostimulation in animal production. *Animal Reproduction Science* 2001, 65,.157– 170.

19. **RODRIGUES RF, MIGLINO MA, FERRAZ RHS, MORAIS-PINTO L.** Placentação em cutias (*Dasyprocta aguti*.): aspectos morfológicos. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science* 2003, 40, 133-137.

20. **SEBRAE.** Ponto de partida para o início de negócio: criação de cutia. *Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas* 2006.

21. **SHUTTE AP.** Canine vaginal cytology II - Cyclic changes. J. small Anim. Pract 1967, 8, 307 - 311.

22. **WEIR BJ.** Some observations on reproduction in the female agouti, *Dasyprocta agouti*. Journal of Reproduction and Fertility 1971, 24, 203-211.

Capítulo II

Microbiota vaginal nas diferentes fases do ciclo estral em cutias *Dasyprocta prymnolopha* Wagler, 1831

Artigo submetido nas normas da Theriogenology
(Fator de impacto : 1.986 / Qualis : A2)

Microbiota vaginal nas diferentes fases do ciclo estral em cutias *Dasyprocta prymnolopha* Wagler, 1831

Artur da Nóbrega Carreiro¹; Joyce de Souza Galvão¹; Débora Vitória Fernandes de Araújo²; João Augusto Rodrigues Alves Diniz¹; Rômulo Freitas Francelino Dias³, Brunna Muniz Rodrigues Falcão¹; Ana Yasha Ferreira de La Salles¹; Lilianne Marinho dos Santos Azerêdo¹; Felício Garino Júnior¹; Danilo José Ayres de Menezes^{4*}

¹Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, 58708-110, Patos, Paraíba, Brasil.

²Academic Unit of Veterinary Medicine of the Federal University of Campina Grande, Health Center and Rural Tecnology, 58708-110, Patos, Paraíba, Brazil.

³ Department of Veterinary Medicine, Federal Rural University of Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil.

⁴Department of Morphology of the Federal University of Rio Grande do Norte, 59078-970, Natal, Rio Grande do Norte, Brazil.

*Corresponding author: Danilo J. Ayres de Menezes, Federal University of Rio Grande do Norte, Center of Bioscience, Department of Morphology, University Campus of Lagoa Nova, Cx.P. 1524, 59078-970, Natal, Rio Grande do Norte, Brazil. telephone number ++55 84 98101 9198, Fax number ++ 84 3215 3431, e-mail address: mdanayres@gmail.com

Resumo

O objetivo do presente estudo foi identificar e caracterizar a prevalência das bactérias existentes na vagina de cutias (*Dasyprocta prymnolopha*), nas diferentes fases do ciclo estral. Foram acompanhados dois ciclos estrais completos de um total de 12 fêmeas hípidas da espécie, onde, através de coletas citológicas com swabs estéreis, foram replicadas amostras em meios de cultura e em seguida a identificação das colônias através de bateria de carboidratos. Obteve-se alta variedade de colônias, com bactérias com potencial patogênico considerável dentre algumas bactérias comuns a diversas espécies de mamíferos como: *Staphylococcus* sp., *Escherichia coli*, *Bacillus* sp., *Streptococcus* sp., *Enterobacter* sp., *Klebsiella* sp., *Citrobacter amalonattus*, *Proteus* sp. entre outras colônias.

Palavras-chave: Microbiologia, Roedor, Reprodução.

Abstract

The objective of the present study was to identify and characterize the prevalence of bacteria in the vagina of cutias (*Dasyprocta prymnolopha*) in the different phases of the estrous cycle. Two complete strains of a total of 12 healthy females of the species were followed, where, through cytological collections with sterile swabs, samples were replicated in culture media and then the colonies were identified through a battery of carbohydrates. It was obtained a high variety of colonies, with bacteria with considerable pathogen potential among some bacteria common to several species of mammals such as: *Staphylococcus* sp., *Escherichia coli*, *Bacillus* sp., *Streptococcus* sp., *Enterobacter* sp., *Klebsiella* sp., *Citrobacter amalonattus*, *Proteus* sp. Among other colonies.

Key words: Microbiology, Rodent, Reproduction.

1. Introdução

O estudo da reprodução de animais silvestres compreende uma área ampla. Sempre que esse tema é abordado, desperta inúmeras especulações e pontos de vista, principalmente com relação à real importância que possa ter no contexto científico, econômico e político [4]. Nas fêmeas, o ciclo estral é classificado em monoéstrico ou poliéstrico, conforme sua apresentação nas diferentes espécies, e apresenta o ciclo dividido em quatro estágios: proestro, estro, metaestro e diestro [16,17], tendo sua duração variável nas diferentes espécies e dentro de uma mesma espécie [6]. A cutia é um roedor encontrado na zona tropical das Américas e apresenta fácil reprodução em cativeiro, apresentando um ciclo sexual poliéstrico contínuo [5]. Durante o ciclo estral, várias populações de microorganismos apresentam enzimas que lhes permitem ou preparam para sobreviver e multiplicar-se no ambiente vaginal. O aumento do glicogênio, que ocorre em algumas fases do ciclo reprodutivo favorece o predomínio de organismos acidófilos entre o grupo heterogêneo que constitui a flora vaginal normal [6]. O conhecimento sobre as doenças que acometem o sistema reprodutor dos animais silvestres pode contribuir para o controle das desordens reprodutivas, bem como, auxiliar na implementação de programas de manejo reprodutivo, através da seleção de animais férteis para o acasalamento, criopreservação de gametas e inseminação artificial [14]. Existe uma grande deficiência de informações relacionadas ao manejo sanitário, no que diz respeito às doenças de maior ocorrência, o que pode comprometer a sanidade em cativeiro [8].

Portanto, conhecendo-se a dinâmica microbiológica em situações de hígidez podemos auxiliar na identificação, tratamento e controle de tais patologias reprodutivas, potencializado a produtividade destes animais cativos, com isso, o presente estudo teve como objetivo, a identificação da microbiota vaginal de cutias hígdas criadas em cativeiro para cada fase de seus respectivos ciclos estrais.

2. Material e métodos

Foram utilizadas 12 cutias fêmeas adultas provenientes do Núcleo de Preservação de Animais Silvestres (NEPAS), localizado na Universidade Federal do Piauí. Estes animais foram confinados na Universidade Federal de Campina Grande (UFCG) no Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR) em um espaço de 24 m² simulando as condições naturais de criação intensiva. Os protocolos metodológicos deste projeto foram aprovados pelo Ministério do Meio Ambiente, por meio do Sistema de Autorização e Informação da Biodiversidade – SISBIO, do Instituto Chico Mendes – ICMBio, sob protocolos N° 45046-1 e 47944-1, e pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da UFCG, CEP N° 237 - 2014.

Após o período de adaptação ao recinto, iniciou-se o experimento, acompanhando as fases dos ciclos estrais das fêmeas através de colpocitologias vaginais diárias, para a identificação das fases estrais através da avaliação do perfil citológico em lâminas de microscopia de luz, seguindo a padronização indicada [5]. Os animais eram capturados com o auxílio de puçá e encaminhados ao Laboratório de Pesquisa Morfológicas da Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária (UAMV). Após contenção mecânica dos animais, era realizada antissepsia prévia da região urogenital. Para coleta de material vaginal inseria-se um swab estéril na vagina dos animais, seguindo com movimentos circulares, acondicionado os swabs com o material em um tubo estéril com meio de cultura para transporte (STUART) e, sob refrigeração, eram encaminhados para o Laboratório de Microbiologia do Hospital Veterinário da UFCG. As amostras foram então semeadas em Ágar Sangue de carneiro desfibrinado a 5%, Sabouraud com Clorafenicol e Ágar MacConkey, e incubadas à temperatura de 37°C em estufa bacteriológica por 24-48h sob condições de aerobiose. As colônias produzidas foram colhidas com alça de platina e inoculadas em tubos contendo caldo BHI (Brain and Heart Infusion Broth), para a identificação microbiana baseada nas características morfológicas, morfotintoriais pela coloração do método de Gram e pela definição do perfil bioquímico como Prova do Vermelho de metila, Prova de Voges-

Proskauer, Redução de nitratos, entre outras provas já sancionadas para identificação bacteriana [15]

3. Resultados

Como mostra o gráfico 1, a microbiota vaginal das cutias estudadas apresentou uma certa padronização com relação aos gêneros presentes na cavidade vaginal, diferindo em proporção para cada fase do ciclo estral. As bactérias do gênero *Staphylococcus* sp., *Escherichia coli*, *Bacillus* sp. e *Streptococcus* sp. estavam presentes em todas as fases do ciclo estral, destacando-se o gênero *Staphylococcus* sp. apresentando maior presença em todas as fases do ciclo estral nas cutias. Dentre as fases do ciclo estral analisadas, o material coletado na fase de metaestro foi o único onde não se constatou ausência de crescimento de colônias de bactérias das fêmeas analisadas. Estro e proestro apresentaram a maior quantidade de amostras sem crescimento de colônias, das coletas realizadas. Os gêneros *Enterobacter* sp. e *Klebsiella* sp. foram identificados apenas nas fases de estro e proestro respectivamente e em contrapartida, cepas de *Citrobacter amalonatus* foram encontradas em ambas as fases e o gênero *Proteus* sp. foi encontrado apenas na fase de proestro.

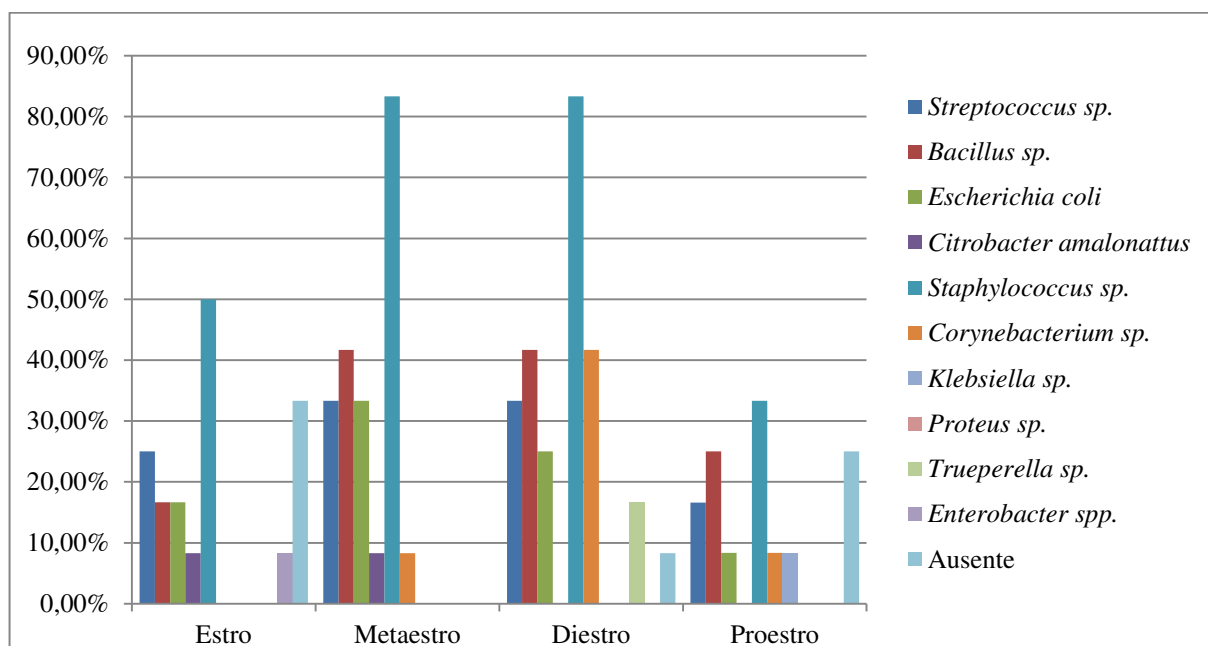


Gráfico 1 – Prevalência de bactérias na vagina em cada fase do ciclo estral de cutias da espécie *Dasyprocta prymnolopha* criadas em cativeiro

4. Discussão

A flora vaginal dos animais domésticos é composta de uma mistura dinâmica de microorganismos aeróbicos, anaeróbicos facultativos e estritamente anaeróbicos, sendo constantemente introduzidas novas linhagens. A flora de microorganismos é variável durante o ciclo vital e várias de suas populações apresentam enzimas que lhes permitem sobreviver e multiplicar-se no ambiente vaginal. Muitas são preparadas para sobreviver e se reproduzir nesse ambiente. Durante os períodos de alto conteúdo glicogênico, os organismos acidófilos predominam, mas outros organismos estão presentes entre o grupo heterogêneo, constituindo a flora normal [6]. A susceptibilidade do útero às infecções está muito relacionada com a fase do ciclo estral. Sua resistência depende da atividade dos neutrófilos, da motilidade e do tônus do útero, da eliminação de microorganismos e da presença de imunoglobulinas. Tais fatores estão presentes com maior intensidade na fase estrogênica, pois esta fase promove vasodilatação, maior afluxo sanguíneo e assim maior presença de imunoglobulinas e maior contratilidade uterina. Em fase progesterônica, como ocorre no diestro e na gestação, a resistência às infecções é muito reduzida pela diminuição da contratilidade uterina e da atividade leucocitária, pelo menor afluxo sanguíneo e pela imunossupressão durante a gestação [13], o que explica o observado no presente estudo, no qual um alto número de colônias bacterianas em relação as demais fases, destacando-se a presença do gênero *Trueperella* sp., ocorreu na fase de diestro. Este é um patógeno oportunista que causa infecções supurativas em diversos órgãos, incluindo pele, articulação, testículo e órgãos viscerais e, freqüentemente, associado às outras bactérias, principalmente anaeróbios não esporulados recrutados de populações comensais residentes, como os gêneros *Corynebacterium*, *Fusobacterium*, *Peptostreptococcus*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Staphylococcus* e *Streptococcus* [3], o que pôde ser observado presente estudo, onde constatou-se a presença de cepas de *Corynebacterium* nas fases de diestro e proestro.

Em um estudo realizado com cutias da espécie *Dasyprocta agouti* [1], identificou-se a presença de bactérias da espécie *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* em cutias com quadros de piometra, já em outro estudo com cutias da espécie *Dasyprocta azarae*, observou-se uma baixa taxa de incidência de bactérias do gênero *Staphylococcus* sp. de 25% das cutias analisadas [12]. Estes resultados diferem dos encontrados no presente estudo para estes dois gêneros, pois ambos apresentaram-se com incidência elevada em praticamente todas as fases do ciclo estral, sem a constatação de qualquer quadro patológico focal ou sistêmico nos animais analisados.

Enterobacter sp. e *Klebsiella* sp., bactérias pertencentes a família *Enterobacteriaceae*, podem causar doenças em animais de produção como diarreias, abscessos e infecções do trato urinário inferior [7]. Apesar de não ter sido observado quaisquer destes quadros nos animais do presente estudo, tais cepas foram encontradas nas fases de proestro e estro, podendo-se supor que tais quadros clínicos podem se manifestar na cutias nestas fases. Vale salientar que a criação de um ambiente favorável para tal fenômeno se dá graças às alterações dos mecanismos de defesa do hospedeiro e à presença de fatores de virulência bacterianos que as tornam mais aptas ao parasitismo [9,10]. Observou-se uma certa padronização nas colônias bacterianas do presente estudo com bactérias do trato urogenital de outras espécies estudadas como cães, gatos, roedores domésticos até leões marinhos [2,11] o que sugere que, apesar das diferentes classes taxonômicas, talvez existam semelhanças na interação hormonal, na presença e atuação de mecanismos intrínsecos e extrínsecos na cavidade vaginal dos animais, o que exige estudos mais aprofundados para essa constatação.

5. Conclusão

Nós concluímos que a caracterização da microbiota existente no sistema reprodutor de animais silvestres hígidos, pode favorecer no diagnóstico precoce de patologias reprodutivas,

além de contribuir com o aprofundamento sobre a biologia da espécie e auxiliar na aplicação de técnicas de monitoramento da sanidade destes indivíduos.

Agradecimentos

Os autores agradecem a Coordenação de Aperfeiçoamento do Pessoal de Educação Superior (CAPES) para o financiamento desta pesquisa, Dr. Paulo Marques Costa, Coordenador do centro de estudo e pesquisa de animais selvagens (NEPAS), da Universidade Federal do Piauí (UFPI), por ceder os animais para o estudo. Agradecemos ao Laboratório de Reprodução Animal da Universidade Federal de Campina Grande, que nos forneceu equipamentos para a inspeção dos exames. Agradecemos em especial ao Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal de Campina Grande.

Referências

- [1] BATISTA, JS.; FREITAS, CIA; BRILHANTE, FS; VIANA, GA; OLINDA GR; CAVALCANTE, TV; PAIVA, KR; OLIVEIRA, MF. Pathological changes of the genital system of agoutis (*Dasyprocta aguti* Linnaeus, 1758) females bred in captivity. *Pesq. Vet. Bras.* [online]. 2016, vol.36, n.7, pp.634-641.
- [2] CARVALHO, VM.; SPINOLA, T; TAVOLARI, F; IRINO, K; OLIVEIRA, RM; RAMOS, MCC. Urinary tract infection (UTI) in dogs and cats: etiology and antimicrobial resistance. *Pesq. Vet. Bras.* v.34, n.1, p. 62-70, 2014.
- [3] GOMES, MJP. *Geners Corynebacterium, Rhodococcus and Trueperella spp.* FAVET-UFRGS.2013.
- [4] GONÇALVES, PBD; FIGUEIREDO, JR. *Biotécnicas Aplicadas à Reprodução Animal.* 2ed. Ed Roca 2008, 408p
- [5] GUIMARÃES, DA; MOREIRA, D; VALE, WG. Determinação do ciclo reprodutivo da Cutia (*Dasyprocta prymnolopha*) através do diagnóstico colpocitológico. *Acta Amazônica*, v.27, n.1, p.55-64, 1997.
- [6] HAFEZ, ESE., HAFEZ, B. *Reprodução Animal.* 7 ed. 2003.
- [7] HIRSH, DC.; ZEE, YC. *Microbiologia veterinária.* 1 ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2005.
- [8] HOPPMANN, E; WILSON BARRON, H. Rodent dermatology. *Journal of Exotic Pet Medicine*, v. 16, n. 4, p. 238-255, 2007.

- [9] JOHNSON, JR. 1991. Virulence factors in *Escherichia coli* urinary tract infections. *Clin. Microbiol.* 4:80-128.
- [10] JOHNSON, JR; KASTER, N; KUSKOWSKI, MA; LING GV. 2003. Identification of urovirulence traits in *Escherichia coli* by comparison of urinary and rectal *E. coli* isolates from dogs with urinary tract infection. *J. Clin. Microbiol.* 41:337-345.
- [11] JOHNSON, S., L. LOWENSTINE, F. GULLAND, S. JANG, D. IMAI, F. ALMY, R. DELONG, AND I. GARDNER. 2006. Aerobic bacterial flora of the vagina and prepuce of California sea lions (*Zalophus californianus*) and investigation of associations with urogenital carcinoma. *Veterinary Microbiology* 114: 94–103.
- [12] MARTINS, LL; OLIVEIRA, FS; MACHADO, MRF; MALUTA, RP; MENDES, SRC; ÁVILA, FA. 2012. Análise microbiológica do útero e da vagina em cutias nulíparas e não-nulíparas (*Dasyprocta azarae*). *Biotemas* 25(4):181-184.
- [13] NASCIMENTO, EF; SANTOS, RL. Patologias do útero. In:-. *Patologia da reprodução dos animais domésticos*. 9.ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, Cap.5, p.43-52. 1997
- [14] OHASHI O; MIRANDA MS; SANTOS, SD; CORDEIRO MS; COSTA, NN; SILVA, TV; 2012. Distúrbios reprodutivos do rebanho bubalino nacional. **Ciênc. Anim.** 22(1):171-187.
- [15] QUINN, P.J.; MARKEY, B.K; CARTER, M.E.; DONNELLY, W.J.; LEONARD, F.C. (Ed.). *Microbiologia veterinária e doenças infecciosas*. Porto Alegre: Artmed, 2005.
- [16] REECE, WILLIAM, O. *Fisiologia de animais domésticos*. São Paulo: Roca; 1996.
- [17] THOMPSON, FN. Reprodução em mamíferos do sexo feminino. In: REECE, W.O. *Fisiologia de animais domésticos*. São Paulo: Roca; 1996

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Podemos concluir que o presente estudo pode servir de ferramenta no monitoramento mais preciso de cada fase do ciclo estral das cutias auxiliando outras biotécnicas como a inseminação artificial e a transferência de embriões, assim como no diagnóstico precoce de patologias que possam dificultar todo ciclo reprodutivo dos animais. Em outra perspectiva, podemos destacar tal pesquisa para auxiliar em técnicas de monitoramento de saúde da fauna *in situ*, auxiliando nas estratégias de conservação da espécie, adicionando mais dados fisiológicos para o conhecimento da biologia da espécie.

ANEXO I

Normas do periódico Journal of Veterinary Medicine Science

Manuscript Format

All materials must be written in proper and clear English. The manuscript including tables and their footnotes, and figure legends, must be typed out double-spaced, standard 12 point font (Times New Roman style) with 2.5 cm margins all sides on A4 size (21 × 28 cm). The manuscript should be in the following sequence: abstract and keywords, introduction, materials and methods, results, discussion, acknowledgments, conflict of interest, references, tables, and figure legends. The copyright assignment form and cover letter should be uploaded as separate files. The abstract, references, each table and figure legend should start with a new page. All pages should be numbered consecutively. All tables and figures are to be numbered consecutively using Arabic numerals in order cited. Their positions should be indicated in the end of appropriate typescript. The average size of original articles is around eight (8) printed pages including table(s), figure(s) and references (double-spaced, typewritten 20 pages). Short communications and case reports are four (4) printed pages (double-spaced, type-written 8 pages) including the figure(s) and table(s), and there is no size limitation for review articles.

Cover letter

The corresponding author should highlight the key points and originality of the article in few sentences and provide written assurance that neither the submitted materials nor portions therefore have been published previously or are under consideration for publication elsewhere. When more than one related manuscript has been published or is under consideration for publication by this or other journals, authors are required to declare this in their letter and to enclose copies of those publications for an editorial perusal. Failure to do so may lead to editorial rejection of the submitted manuscript.

The cover letter should also state the contributions of each authors to the article submitted and that all authors have seen and approved the final manuscript.

Title page

This should be contain the title of an article, full names of author(s) and institutional affiliation(s). If several authors, and institutions are listed, they should be clearly indicated with which department and institution each author is affiliated. In separate paragraph, address for correspondence, including the name of corresponding author, telephone and fax number, and e-mail address, should be given. Information concerning sources of financial support should be placed as an acknowledgment.

Title: Title should be brief but informative. It is important for literature retrieval to include the key words in the title which are necessary to identify the nature of the subject matter, including the species of the animal on which the work is done.

Use of expressions such as "Studies on" "Observation of" or "Effects of" should be avoided, since they are not sufficiently informative. Chemical formulas or abbreviations should not be used. Titles in the form of declarative or interrogative sentences are not encouraged. Also, do not use Roman or Arabic numerals to designate that the paper is one in a series.

Authors and Affiliation: Authors are urged to include their full names (e.g. Michael Johns, David N. Fisher, Ana M. Fernández Cabrera etc.). Authors' academic degrees should not be

included. The full name of institutions and subsidiary departments should be given, together with a useful address including postal code. If several authors and institutions are listed on a paper, it should be clearly indicated with which department and institution each author is affiliated. The affiliation address in each case should be indicated by superscript.

Running title: A brief running title should be provided, not to exceed ten words. If running title is declarative or interrogative sentences, it is not acceptable.

Body text

Title: Title should be provided once again at the top of the first page of the body.

Abstracts: Abstract should be concise less than 200 words for original article (100 words in case of short communication and case report) and describe in one paragraph, concisely purpose, methods, important results and describe conclusion of the study, but not repeat information already presented in the title. It should be suitable for direct inclusion in Index Medicus/Medline and CAB/Index Veterinarius.

Keywords: This is a list important terms relevant to the content of paper. Up to 5 keywords should be listed at the bottom of abstract to be used as index terms. For the selection of keywords, please refer Medical Subject Heading (MeSH) in Index Medicus/Medline, or in website.

Introduction: This is a brief background. It is not necessary to include all of the background literature. Brief reference to the most pertinent generally is enough to inform readers with findings of others in the field. The specific questions to be addressed the study should also described. It should not contain either authors' result and conclusion.

Materials and Methods: Experimentation of the experimental methods should be concise but sufficient for repetition by other qualified investigators. Procedures that have been published previously should not be described in detail, but merely cited with appropriate references. However, new or significant modifications of previously published procedures need full descriptions. The sources of special chemical(s), equipment(s) or preparation(s) should be given along with their company name and country. All chemicals and reagents should be used a generic name but not brand name. For animal experimentation reported in this Journal, it is expected that the "Guide for the care and use of laboratory animals" approved by the National Research Council (ILAR) in USA will have been observed. The procedures used and the care of animals should be approved by the Institutional Animal Care and Use Committee in one of author's institution(s), and the approval number should be provided (For example, Approval No.12345). Research on humans must be approved by IRB. Please refer the Declaration of Helsinki.

Results: This part should be included a concise textual description of the data presented in tables and figures. Repetition of the same data in different forms should be avoided. The results should not included materials appropriate to the discussion.

Discussion: In this section, the data should be interpreted concisely without repeating material already presented in the results section. It should be considered the results in relation to any hypotheses advanced in the introduction. This may include an evaluation of the methodology and of the relationship of new information to the knowledge in that field.

Acknowledgments: All person who have made a genuine contribution and who endorse the data and conclusions may be included. Authors are responsible for obtaining written permission to use any copyrighted text and/or illustration.

Conflict of Interest: Conflict of interest exists when an author (or the author's institution), reviewer, or editor has financial or personal relationship that inappropriately influence his/her actions (such relationships are also known as dual commitments, competing interests, or competing loyalties). All authors should disclose their conflict of interest, i.e., (1) financial relationships such as employment, consultancy, stock ownership, honoraria, paid expert testimony, (2) personal relationship, (3) academic competition, and (4) intellectual passion. These conflicts of interests must be included in the end of manuscript.

References:The references section must include all relevant published works, and all listed references must be cited in the text.

Arrange the references in alphabetical order by the first author's surname, and number the entries consecutively. And the cited references in the text should be cited by their list number. Cite each listed reference in the text by number in square brackets. Journal name should be abbreviated in accordance with the style of Index Medicus/Medline. The number of references should be less than forty (40) for original article and fifteen (15) for short communication and case report. Follow the styles shown in the example below:

Brock TD, Madigan MT. *Biology of Microorganism*. 5th ed. pp. 42-59, Prentice Hall, Englewood Cliffs, 1988.

Berghoff N, Suchodolski JS, Steiner JM. Association between serum cobalamin and methylmalonic acid concentrations in dogs. *Vet J* 2012, 191, 306-311.

Palmer N, Jensen ML, Raine H. Tumors of joint. In: Jubb KVF, Kennedy PC, Burke E (eds.). *Pathology of Domestic Animals*. 2nd ed. pp. 140-144, Academic Press, San Diego, 1993.

Rogers PL, Lee KJ, Skotnicki ML, Fiecher DE (eds.). *Advances in Biochemical Engineering*. Vol. 23. pp. 15-25, Springer-Verlag, Berlin, 1999.

Alberghina D, Amorini AM, Lazzarino G. Modulation of peripheral markers of the serotonergic system in healthy horses. *Res Vet Sci* 2010. Epub ahead of print. doi: 10.1016/j.rvsc.2010.06.023.

Kraft W. [Introduction]. In: [Geriatrics in Dogs and Cats]. 2nd ed. pp. 23-31, Parey Verlag, Stuttgart, 2003. German.

The following types of references are not valid for listing: unpublished data, personal communication, manuscripts in preparation or submitted, pamphlets, thesis for a degree, proceedings, abstracts, patents, newsletters, website, in press and material that has not been subjected to peer review. However, article(s) that can be available in Medline/PubMed and SCOPUS can be used as reference(s).

Tables and Figures:Tables should be typewritten separately from the text, double spaced, and each table should include a title. Arrange the data so that columns of like material read down, not across. Figures should be included separately from the text, and ordinarily be original drawings. However, glossy photographs of line- drawing are usually satisfactory. In each original line-drawing, letters or numbers should be left blank because they will be typed in during printing. Letters or numbers should be included in the figures contained in a submitted manuscript along with caption for figures. Figures should be submitted in final size (printed 1:1). They may be printed in either single column (75 mm width) or double column (165 mm width) format. The size of text in figures should be 8–10 points, except for single letter markers which may be 12 points. Numbers, letters, and symbols used in multi- paneled figures must be consistent. Authors should place explanatory matter in footnotes, not in the

heading. Explain in footnotes all nonstandard abbreviations that are used in each table. For footnotes use the following symbols, in sequence: *, †, ‡, §, ||, ¶, **, ††, ‡‡, §§ ...

Draw each curve with a different kind of line (solid, dashed, dotted) or with a different symbol for the plotted points dot, triangle and square in order of ○, ●, △, ▲, □, ■, ◉ ... All figures should be created with applications that are capable of preparing high resolution TIFF, JPEG or PPT files acceptable for publication. Diagrams and photographs submitted in electronic format must be of the following minimum resolutions:

*600 dpi for photographs or halftones with B/W, color or line art work as insets or lettering

*1200 dpi for line art work and artwork with greyscale

All kinds of figures may be reduced, enlarged or trimmed for publication by the Editor. The figure numbers should be appeared directly at the lower left corner. And then symbols, arrows, or letters used in photographs could be possible to rearrange for journal format.

Nomenclatures, Unit, and Abbreviations: Nomenclatures for chemicals and biochemicals, microorganism, and genes should follow the guidelines in the instructions to authors of journals published by American Society for Microbiology. SI units (System International Unites) should be used whenever possible.

Abbreviations should be used for those recommended by IUPA-IUB Commission on Biochemical Nomenclature and Related Documents. In addition to abbreviation to SI unit, other common abbreviations may be used without definition. (the same abbreviations are used for plural forms): hour(s) = h, minute(s) = min, second(s) = sec, liter(s) = L, mililiter(s) = mL, meter(s) = m, centimeter(s) = cm, gram(s) = g, miligram(s) = mg, microliter(s) = mL, micrometer(s) = mm, micron(s) = mm, standard deviation = SD, standard error = SE, molar = M, mole = mol.

Alteration in proof

The J Vet Sci provides corresponding author with galley proofs for their correction. Corrections should be kept to minimum. The Editor retains the prerogative to question minor stylistic alterations and major alteration that might affect the scientific content of the paper. Fault found after publication is a responsibility of the authors. We urge our contributors to proofread and their accepted manuscript very carefully. The corresponding author may be contacted by Editorial Office, depending on the nature of correction in proof. If the proof is not returned to Editorial Office within 48 hours, it may be necessary to reschedule the paper for a subsequent issue. Extensive alteration in proof cause delays in publication.

Publication is usually in order of acceptance after review. For publication, authors should be charged the following fees.

Publication charge

The J Vet Sci will charge the publication cost to manuscript submitted from June 01, 2012.

Page charges

\$ 300 for 3 printed pages

Additional pages: \$ 50 per page

Color figure surcharges

\$ 100 per page
English proofreading charges
Actual expense on an article
Reprints charges with shipping if required at published time
\$ 50 for 50 copies, \$80 for 100 copies

Reprints are normally shipped four (4) weeks after publication of the J Vet Sci.

Submission of manuscript

One original manuscript with one set of original figure(s) or table(s) should be submitted by online submission system. This submission should be completed by corresponding author.

If there is any query concerning manuscript submission, contact by e-mail or fax on the below.

ANEXO II

Normas do periódico Theriogenology

GUIDE FOR AUTORS

Please consult this Guide for Authors for further details on the requirements for submitting your paper to Theriogenology. The guidelines described in this document should be adhered to carefully, to ensure high-quality and rapid publication of your manuscript.

Aims and Scope

Theriogenology is an international, peer-reviewed journal that publishes papers regarding the study of reproduction in domestic and non-domestic mammals, birds, reptiles, and fish. Theriogenology publishes only material that has never been previously published and is not currently being considered for publication elsewhere; the exception would be limited disclosure (e.g. publication of an abstract or in the proceedings of a scientific conference, with limited circulation).

Types of Articles

Original Research Papers should report the results of original research. The material should not have been previously published elsewhere, except in a preliminary form.

Review Articles should cover subjects within the scope of the journal that are of active current interest. They are usually invited, but prospective Authors may contact the Editors with proposals.

Letters to the Editor offering comment or useful critique on material published in the journal are welcomed. The decision to publish submitted letters rests purely with the Editors. It is hoped that the publication of such letters will permit an exchange of views which will be of benefit to both the journal and its readers.

Page charges

This journal has no page charges.

Submission checklist

You can use this list to carry out a final check of your submission before you send it to the journal for review. Please check the relevant section in this Guide for Authors for more details.

Ensure that the following items are present:

One author has been designated as the corresponding author with contact details:

- E-mail address
- Full postal address

All necessary files have been uploaded:

Manuscript:

- Include keywords
 - All figures (include relevant captions)
 - All tables (including titles, description, footnotes)
 - Ensure all figure and table citations in the text match the files provided
 - Indicate clearly if color should be used for any figures in print
- Graphical Abstracts / Highlights files (where applicable)
Supplemental files (where applicable)

Further considerations

- Manuscript has been 'spell checked' and 'grammar checked'
- All references mentioned in the Reference List are cited in the text, and vice versa
- Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Internet)
 - A competing interests statement is provided, even if the authors have no competing interests to declare
 - Journal policies detailed in this guide have been reviewed
 - Referee suggestions and contact details provided, based on journal requirements

For further information, visit our Support Center.

Ethics in publishing

Please see our information pages on Ethics in publishing and Ethical guidelines for journal publication.

Human and animal rights

If the work involves the use of human subjects, the author should ensure that the work described has been carried out in accordance with The Code of Ethics of the World Medical Association (Declaration of Helsinki) for experiments involving humans; Uniform Requirements for manuscripts submitted to Biomedical journals. Authors should include a statement in the manuscript that informed consent was obtained for experimentation with human subjects. The privacy rights of human subjects must always be observed.

All animal experiments should comply with the ARRIVE guidelines and should be carried out in accordance with the U.K. Animals (Scientific Procedures) Act, 1986 and associated guidelines, EU Directive 2010/63/EU for animal experiments, or the National Institutes of Health guide for the care and use of Laboratory animals (NIH Publications No. 8023, revised 1978) and the authors should clearly indicate in the manuscript that such guidelines have been followed.

Declaration of interest

All authors must disclose any financial and personal relationships with other people or organizations that could inappropriately influence (bias) their work. Examples of potential conflicts of interest include employment, consultancies, stock ownership, honoraria, paid expert testimony, patent applications/registrations, and grants or other funding. Authors must

disclose any interests in two places: 1. A summary declaration of interest statement in the title page file (if double-blind) or the manuscript file (if single-blind). If there are no interests to declare then please state this: 'Declarations of interest: none'. This summary statement will be ultimately published if the article is accepted. 2. Detailed disclosures as part of a separate Declaration of Interest form, which forms part of the journal's official records. It is important for potential interests to be declared in both places and that the information matches. More information.

Submission declaration and verification

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract or as part of a published lecture or academic thesis or as an electronic preprint, see 'Multiple, redundant or concurrent publication' section of our ethics policy for more information), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyright-holder. To verify originality, your article may be checked by the originality detection service Crossref Similarity Check.

Contributors

Each author is required to declare his or her individual contribution to the article: all authors must have materially participated in the research and/or article preparation, so roles for all authors should be described. The statement that all authors have approved the final article should be true and included in the disclosure.

Authorship

All authors should have made substantial contributions to all of the following: (1) the conception and design of the study, or acquisition of data, or analysis and interpretation of data, (2) drafting the article or revising it critically for important intellectual content, (3) final approval of the version to be submitted.

Changes to authorship

Authors are expected to consider carefully the list and order of authors before submitting their manuscript and provide the definitive list of authors at the time of the original submission. Any addition, deletion or rearrangement of author names in the authorship list should be made only before the manuscript has been accepted and only if approved by the journal Editor. To request such a change, the Editor must receive the following from the corresponding author: (a) the reason for the change in author list and (b) written confirmation (e-mail, letter) from all authors that they agree with the addition, removal or rearrangement. In the case of addition or removal of authors, this includes confirmation from the author being added or removed.

Only in exceptional circumstances will the Editor consider the addition, deletion or rearrangement of authors after the manuscript has been accepted. While the Editor considers the request, publication of the manuscript will be suspended. If the manuscript has already been published in an online issue, any requests approved by the Editor will result in a corrigendum.

Copyright

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'Journal Publishing Agreement' (see more information on this). An e-mail will be sent to the corresponding author confirming receipt of the manuscript together with a 'Journal Publishing Agreement' form or a link to the online version of this agreement.

Subscribers may reproduce tables of contents or prepare lists of articles including abstracts for internal circulation within their institutions. Permission of the Publisher is required for resale or distribution outside the institution and for all other derivative works, including compilations and translations. If excerpts from other copyrighted works are included, the author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has preprinted forms for use by authors in these cases.

For open access articles: Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete an 'Exclusive License Agreement' (more information). Permitted third party reuse of open access articles is determined by the author's choice of user license.

Author rights

As an author you (or your employer or institution) have certain rights to reuse your work. More information.

Elsevier supports responsible sharing

Find out how you can share your research published in Elsevier journals.

Role of the funding source

You are requested to identify who provided financial support for the conduct of the research and/or preparation of the article and to briefly describe the role of the sponsor(s), if any, in study design; in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the report; and in the decision to submit the article for publication. If the funding source(s) had no such involvement then this should be stated.

Funding body agreements and policies

Elsevier has established a number of agreements with funding bodies which allow authors to comply with their funder's open access policies. Some funding bodies will reimburse the author for the Open Access Publication Fee. Details of existing agreements are available online.

After acceptance, open access papers will be published under a noncommercial license. For authors requiring a commercial CC BY license, you can apply after your manuscript is accepted for publication.

Open access

This journal offers authors a choice in publishing their research:

Subscription

- Articles are made available to subscribers as well as developing countries and patient groups through our universal access programs.

- No open access publication fee payable by authors.

Open access

- Articles are freely available to both subscribers and the wider public with permitted reuse.

- An open access publication fee is payable by authors or on their behalf, e.g. by their research funder or institution.

Regardless of how you choose to publish your article, the journal will apply the same peer review criteria and acceptance standards.

For open access articles, permitted third party (re)use is defined by the following Creative Commons user licenses:

Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs (CC BY-NC-ND)

For non-commercial purposes, lets others distribute and copy the article, and to include in a collective work (such as an anthology), as long as they credit the author(s) and provided they do not alter or modify the article.

The open access publication fee for this journal is USD 2500, excluding taxes. Learn more about Elsevier's pricing policy: [External link http://www.elsevier.com/openaccesspricing.](http://www.elsevier.com/openaccesspricing)

Green open access

Authors can share their research in a variety of different ways and Elsevier has a number of green open access options available. We recommend authors see our green open access page for further information. Authors can also self-archive their manuscripts immediately and enable public access from their institution's repository after an embargo period. This is the version that has been accepted for publication and which typically includes author-incorporated changes suggested during submission, peer review and in editor-author communications. Embargo period: For subscription articles, an appropriate amount of time is needed for journals to deliver value to subscribing customers before an article becomes freely available to the public. This is the embargo period and it begins from the date the article is formally published online in its final and fully citable form. Find out more.

This journal has an embargo period of 12 months.

Elsevier Researcher Academy

Researcher Academy is a free e-learning platform designed to support early and mid-career researchers throughout their research journey. The "Learn" environment at Researcher Academy offers several interactive modules, webinars, downloadable guides and resources to guide you through the process of writing for research and going through peer review. Feel free to use these free resources to improve your submission and navigate the publication process with ease.

Language (usage and editing services)

Please write your text in good English (American or British usage is accepted, but not a mixture of these). Authors who feel their English language manuscript may require editing to eliminate possible grammatical or spelling errors and to conform to correct scientific English may wish to use the English Language Editing service available from Elsevier's WebShop.

Submission

Our online submission system guides you stepwise through the process of entering your article details and uploading your files. The system converts your article files to a single PDF file used in the peer-review process. Editable files (e.g., Word, LaTeX) are required to typeset your article for final publication. All correspondence, including notification of the Editor's decision and requests for revision, is sent by e-mail.

Submit your article

Please submit your article via External link <http://ees.elsevier.com/therio/>.

Referees

Please submit the names and institutional e-mail addresses of several potential referees. For more details, visit our Support site. Note that the editor retains the sole right to decide whether or not the suggested reviewers are used.

Use of word processing software

It is important that the file be saved in the native format of the word processor used. The text should be in single-column format. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. In particular, do not use the word processor's options to justify text or to hyphenate words. However, do use bold face, italics, subscripts, superscripts etc. When preparing tables, if you are using a table grid, use only one grid for each individual table and not a grid for each row. If no grid is used, use tabs, not spaces, to align columns. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the Guide to Publishing with Elsevier). Note that source files of figures, tables and text graphics will be required whether or not you embed your figures in the text. See also the section on Electronic artwork.

To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the 'spell-check' and 'grammar-check' functions of your word processor.

Pages and lines should be numbered.

Article structure

Subdivision - numbered sections

Divide your article into clearly defined and numbered sections. Subsections should be numbered 1.1 (then 1.1.1, 1.1.2, ...), 1.2, etc. (the abstract is not included in section numbering). Use this numbering also for internal cross-referencing: do not just refer to 'the text'. Any subsection may be given a brief heading. Each heading should appear on its own separate line.

Introduction

State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results.

Material and methods

Provide sufficient details to allow the work to be reproduced by an independent researcher. Methods that are already published should be summarized, and indicated by a reference. If quoting directly from a previously published method, use quotation marks and also cite the source. Any modifications to existing methods should also be described.

Results

Results should be clear and concise.

Discussion

This should explore the significance of the results of the work, not repeat them. A combined Results and Discussion section is often appropriate. Avoid extensive citations and discussion of published literature.

Conclusions

The main conclusions of the study may be presented in a short Conclusions section, which may stand alone or form a subsection of a Discussion or Results and Discussion section.

Essential title page information

- Title. Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.
- Author names and affiliations. Please clearly indicate the given name(s) and family name(s) of each author and check that all names are accurately spelled. You can add your name between parentheses in your own script behind the English transliteration. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in

front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.

- Corresponding author. Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. This responsibility includes answering any future queries about Methodology and Materials. Ensure that the e-mail address is given and that contact details are kept up to date by the corresponding author.

- Present/permanent address. If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

Abstract

A concise and factual abstract is required. The abstract should state briefly the purpose of the research, the principal results and major conclusions. Since an abstract is often presented separately from the article, it must be able to stand alone. For this reason, references should generally be avoided, but if essential, they must be cited in full, without reference to the reference list. Also, non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if their use is essential, they must be defined at their first mention in the abstract itself. Abstracts must be limited to a single paragraph with no more than 2,500 keystrokes (characters plus spaces).

Keywords

Immediately after the abstract, provide a maximum of 6 keywords, using American spelling and avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, 'and', 'of'). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes.

Acknowledgements

Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references; therefore, do not include them on the title page, as a footnote to the title, etc.. List individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.), sources of financial support, and donations of products and materials.

Formatting of funding sources

List funding sources in this standard way to facilitate compliance to funder's requirements:

Funding: This work was supported by the National Institutes of Health [grant numbers xxxx, yyyy]; the Bill & Melinda Gates Foundation, Seattle, WA [grant number zzzz]; and the United States Institutes of Peace [grant number aaaa].

It is not necessary to include detailed descriptions on the program or type of grants and awards. When funding is from a block grant or other resources available to a university,

college, or other research institution, submit the name of the institute or organization that provided the funding.

If no funding has been provided for the research, please include the following sentence:

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Nomenclature and units

Follow internationally accepted rules and conventions: use the international system of units (SI). If other quantities are mentioned, give their equivalent in SI. You are urged to consult IUB: Biochemical Nomenclature and Related Documents for further information.

Math formulae

Please submit math equations as editable text and not as images. Present simple formulae in line with normal text where possible and use the solidus (/) instead of a horizontal line for small fractional terms, e.g., X/Y. In principle, variables are to be presented in italics. Powers of e are often more conveniently denoted by exp. Number consecutively any equations that have to be displayed separately from the text (if referred to explicitly in the text).

Footnotes

Footnotes should be used sparingly. Number them consecutively throughout the article. Many word processors can build footnotes into the text, and this feature may be used. Otherwise, please indicate the position of footnotes in the text and list the footnotes themselves separately at the end of the article. Do not include footnotes in the Reference list.

Artwork

Image manipulation

Whilst it is accepted that authors sometimes need to manipulate images for clarity, manipulation for purposes of deception or fraud will be seen as scientific ethical abuse and will be dealt with accordingly. For graphical images, this journal is applying the following policy: no specific feature within an image may be enhanced, obscured, moved, removed, or introduced. Adjustments of brightness, contrast, or color balance are acceptable if and as long as they do not obscure or eliminate any information present in the original. Nonlinear adjustments (e.g. changes to gamma settings) must be disclosed in the figure legend.

Electronic artwork

General points

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Embed the used fonts if the application provides that option.

- Aim to use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Times New Roman, Symbol, or use fonts that look similar.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Provide captions to illustrations separately.
- Size the illustrations close to the desired dimensions of the published version.
- Submit each illustration as a separate file.

A detailed guide on electronic artwork is available.

You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.

Formats

If your electronic artwork is created in a Microsoft Office application (Word, PowerPoint, Excel) then please supply 'as is' in the native document format.

Regardless of the application used other than Microsoft Office, when your electronic artwork is finalized, please 'Save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below):

EPS (or PDF): Vector drawings, embed all used fonts.

TIFF (or JPEG): Color or grayscale photographs (halftones), keep to a minimum of 300 dpi.

TIFF (or JPEG): Bitmapped (pure black & white pixels) line drawings, keep to a minimum of 1000 dpi.

TIFF (or JPEG): Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale), keep to a minimum of 500 dpi.

Please do not:

- Supply files that are optimized for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); these typically have a low number of pixels and limited set of colors;
- Supply files that are too low in resolution;
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

Color artwork

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF (or JPEG), EPS (or PDF), or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color online (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in color in the printed version. For color reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article. Please indicate your preference for color: in print or online only. Further information on the preparation of electronic artwork.

Figure captions

Ensure that each illustration has a caption. Supply captions separately, not attached to the figure. A caption should comprise a brief title (not on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

Text graphics

Text graphics may be embedded in the text at the appropriate position. If you are working with LaTeX and have such features embedded in the text, these can be left. See further under Electronic artwork.

Tables

Please submit tables as editable text and not as images. Tables can be placed either next to the relevant text in the article, or on separate page(s) at the end. Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text and place any table notes below the table body. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in them do not duplicate results described elsewhere in the article. Please avoid using vertical rules and shading in table cells.

References

Citation in text

Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa). Any references cited in the abstract must be given in full. Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in the text. If these references are included in the reference list they should follow the standard reference style of the journal and should include a substitution of the publication date with either 'Unpublished results' or 'Personal communication'. Citation of a reference as 'in press' implies that the item has been accepted for publication.

Web references

As a minimum, the full URL should be given and the date when the reference was last accessed. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. Web references can be listed separately (e.g., after the reference list) under a different heading if desired, or can be included in the reference list.

Data references

This journal encourages you to cite underlying or relevant datasets in your manuscript by citing them in your text and including a data reference in your Reference List. Data references should include the following elements: author name(s), dataset title, data repository, version (where available), year, and global persistent identifier. Add [dataset] immediately before the reference so we can properly identify it as a data reference. The [dataset] identifier will not appear in your published article.

References in a special issue

Please ensure that the words 'this issue' are added to any references in the list (and any citations in the text) to other articles in the same Special Issue.

Reference management software

Most Elsevier journals have their reference template available in many of the most popular reference management software products. These include all products that support Citation Style Language styles, such as Mendeley and Zotero, as well as EndNote. Using the word processor plug-ins from these products, authors only need to select the appropriate journal template when preparing their article, after which citations and bibliographies will be automatically formatted in the journal's style. If no template is yet available for this journal, please follow the format of the sample references and citations as shown in this Guide.

Users of Mendeley Desktop can easily install the reference style for this journal by clicking the following link:

External link <http://open.mendeley.com/use-citation-style/theriogenology>

When preparing your manuscript, you will then be able to select this style using the Mendeley plug-ins for Microsoft Word or LibreOffice.

Reference style

Text: Indicate references by number(s) in square brackets in line with the text. The actual authors can be referred to, but the reference number(s) must always be given.

List: Number the references (numbers in square brackets) in the list in the order in which they appear in the text.

Examples:

Reference to a journal publication:

[1] Van der Geer J, Hanraads JAJ, Lupton RA. The art of writing a scientific article. *J Sci Commun* 2010;163:51–9.

Reference to a book:

[2] Strunk Jr W, White EB. *The elements of style*. 4th ed. New York: Longman; 2000.

Reference to a chapter in an edited book:

[3] Mettam GR, Adams LB. How to prepare an electronic version of your article. In: Jones BS, Smith RZ, editors. *Introduction to the electronic age*, New York: E-Publishing Inc; 2009, p. 281–304.

Reference to a website:

[4] Cancer Research UK. Cancer statistics reports for the UK, <http://www.cancerresearchuk.org/aboutcancer/statistics/cancerstatsreport/>; 2003 [accessed 13 March 2003].

Reference to a dataset:

[dataset] [5] Oguro M, Imahiro S, Saito S, Nakashizuka T. Mortality data for Japanese oak wilt disease and surrounding forest compositions, Mendeley Data, v1; 2015. <https://doi.org/10.17632/xwj98nb39r.1>.

Note shortened form for last page number. e.g., 51–9, and that for more than 6 authors the first 6 should be listed followed by 'et al.' For further details you are referred to 'Uniform Requirements for Manuscripts submitted to Biomedical Journals' (*J Am Med Assoc* 1997;277:927–34) (see also Samples of Formatted References).

Journal Abbreviation Source

Journal names should be abbreviated according to Index Medicus journal abbreviations: External link <http://www.nlm.nih.gov/tsd/serials/lji.html>; List of serial title word abbreviations: External link <http://www.issn.org/2-22661-LTWA-online.php>; CAS (Chemical Abstracts Service): External link <http://www.cas.org/sent.html>

Video

Elsevier accepts video material and animation sequences to support and enhance your scientific research. Authors who have video or animation files that they wish to submit with their article are strongly encouraged to include links to these within the body of the article. This can be done in the same way as a figure or table by referring to the video or animation content and noting in the body text where it should be placed. All submitted files should be properly labeled so that they directly relate to the video file's content. . In order to ensure that your video or animation material is directly usable, please provide the file in one of our recommended file formats with a preferred maximum size of 150 MB per file, 1 GB in total. Video and animation files supplied will be published online in the electronic version of your article in Elsevier Web products, including ScienceDirect. Please supply 'stills' with your files: you can choose any frame from the video or animation or make a separate image. These will be used instead of standard icons and will personalize the link to your video data. For more detailed instructions please visit our video instruction pages. Note: since video and animation cannot be embedded in the print version of the journal, please provide text for both the electronic and the print version for the portions of the article that refer to this content.

AudioSlides

The journal encourages authors to create an AudioSlides presentation with their published article. AudioSlides are brief, webinar-style presentations that are shown next to the online article on ScienceDirect. This gives authors the opportunity to summarize their research in their own words and to help readers understand what the paper is about. More information and examples are available. Authors of this journal will automatically receive an invitation e-mail to create an AudioSlides presentation after acceptance of their paper.

Supplementary material

Supplementary material such as applications, images and sound clips, can be published with your article to enhance it. Submitted supplementary items are published exactly as they are received (Excel or PowerPoint files will appear as such online). Please submit your material together with the article and supply a concise, descriptive caption for each supplementary file. If you wish to make changes to supplementary material during any stage of the process, please make sure to provide an updated file. Do not annotate any corrections on a previous version. Please switch off the 'Track Changes' option in Microsoft Office files as these will appear in the published version.

Research data

This journal encourages and enables you to share data that supports your research publication where appropriate, and enables you to interlink the data with your published articles. Research data refers to the results of observations or experimentation that validate research findings. To facilitate reproducibility and data reuse, this journal also encourages you to share your software, code, models, algorithms, protocols, methods and other useful materials related to the project.

Below are a number of ways in which you can associate data with your article or make a statement about the availability of your data when submitting your manuscript. If you are sharing data in one of these ways, you are encouraged to cite the data in your manuscript and

reference list. Please refer to the "References" section for more information about data citation. For more information on depositing, sharing and using research data and other relevant research materials, visit the research data page.

Data linking

If you have made your research data available in a data repository, you can link your article directly to the dataset. Elsevier collaborates with a number of repositories to link articles on ScienceDirect with relevant repositories, giving readers access to underlying data that gives them a better understanding of the research described.

There are different ways to link your datasets to your article. When available, you can directly link your dataset to your article by providing the relevant information in the submission system. For more information, visit the database linking page.

For supported data repositories a repository banner will automatically appear next to your published article on ScienceDirect.

In addition, you can link to relevant data or entities through identifiers within the text of your manuscript, using the following format: Database: xxxx (e.g., TAIR: AT1G01020; CCDC: 734053; PDB: 1XFN).

Mendeley Data

This journal supports Mendeley Data, enabling you to deposit any research data (including raw and processed data, video, code, software, algorithms, protocols, and methods) associated with your manuscript in a free-to-use, open access repository. Before submitting your article, you can deposit the relevant datasets to Mendeley Data. Please include the DOI of the deposited dataset(s) in your main manuscript file. The datasets will be listed and directly accessible to readers next to your published article online.

For more information, visit the Mendeley Data for journals page.

Data statement

To foster transparency, we encourage you to state the availability of your data in your submission. This may be a requirement of your funding body or institution. If your data is unavailable to access or unsuitable to post, you will have the opportunity to indicate why during the submission process, for example by stating that the research data is confidential. The statement will appear with your published article on ScienceDirect. For more information, visit the Data Statement page.

Additional Style Notes

Please use the following words, phrases, abbreviations, and stylistic conventions

- Avoid the word "injected," (e.g., "Cows were injected with cloprostenol") but include the generic name, proprietary name, dosage and route of administration (e.g., "Cows were treated with cloprostenol [Estrumate 500 µg im]").

- Either cite a P value (recommended for Abstract and for Results) or use the term 'significant' (recommended for Discussion), but generally avoid doing both.

- Terms with a specific statistical meaning (i.e. significant, tended and correlated), should only be used in a strict statistical context.
- Numbers less than 10 are written as a word, unless followed by an abbreviation for unit of measure, e.g. five embryos, 5 min

Use the following expressions

- transrectal palpation, not rectal palpation
- nucleus transfer, not nuclear transplant
- estrus (noun) synchronization, but, estrous (adjective) behavior
- sperm can be used as both noun and adjective
- 120 to 125, not 120-125
- treatment by period, not treatment X period
- gravity: 100 X g (in lieu of speed for centrifugation)
- magnification: X 100
- identification number of an animal: No. 10, but 30 animals: n = 30
- 3 d, Day 3 (define Day 0)

Standard definitions

- oogonium: female gamete before meiosis
- oocyte, primary: female gamete from onset of the first maturation division (meiosis) to extrusion of the first polar body
 - oocyte secondary: female gamete from onset of second meiosis to extrusion of the second polar body
 - ovum: female gamete from the end of both meiotic divisions until the union of the male and female pronuclei (differs from the common use of ovum as a general term for any female gamete)
 - germinal vesicle: nucleus of the ovum
 - zygote: a fertilized ovum, from fusion of the male and female gamete to completion of first cleavage
 - embryo: a conceptus from the 2-cell stage to the stage when cell migration and differentiation are largely complete
 - fetus: a conceptus after organogenesis is mostly complete (primarily increasing in size)
 - conceptus: an embryo or fetus with all its membranes and accessory structures
 - abortion: expulsion of a conceptus incapable of independent life
 - premature parturition: expulsion (before full term) of a conceptus capable of independent life
 - stillbirth: avoid this term (use fetal death or abortion)

Abbreviations

Never use an abbreviation to start a sentence. Some abbreviations may be used anywhere else, including the manuscript's title and in figures, table titles and legends, without definition; others may not be used in the title, but may be used in the text without definition. In general, abbreviations must be defined when used for the first time (this may be avoided in the ABSTRACT if necessary to conserve space). To make reading the paper more pleasant, avoid using excessive abbreviations and acronyms; instead use short synonyms, for instance: for "Cesarean section" instead of "CS" use "section" or "hysterotomy."

The following abbreviations may be used in the text without definition (note that abbreviations exclude periods):

chart

Units of Measure

cpm - counts per min

dpm - disintegrations per min

g - gram

ga - gauge of hypodermic needle

h - hour

kg - kilogram

L - liter

mL - milliliter

μ L - microliter

m - meter

min - minute

mo - month

s - second

v:v - volume ratio

wk - week

wt/vol - weight per volume

y - year

Routes of treatment

id - intradermal

im - intramuscular

iu - intrauterine

iv - intravenous

sc - subcutaneous

po - oral

Statistical expressions

ANOVA - analysis of variance

CV - coefficient of variation

df - degrees of freedom

F - variance ratio

NS - not significant

P - probability

SD - standard deviation

SEM - standard error of the mean

r - correlation coefficient

r² - coefficient of regression

Additional information

- For issues of style and format not addressed here, please consult *Scientific Style and Format: The CBE Manual for Authors, Editors, and Publishers, Sixth Edition*.

- For spelling, word formation and divisions, plurals, possessives, meanings and usage, consult the *CBE Manual* or a current English language (collegiate-level or higher) dictionary.

- For conflicts between instructions in this Guide and any of the references, the Guide takes precedence. Do not hesitate to contact the Editorial Office if you have any questions regarding preparation of your manuscript.

Online proof correction

Corresponding authors will receive an e-mail with a link to our online proofing system, allowing annotation and correction of proofs online. The environment is similar to MS Word: in addition to editing text, you can also comment on figures/tables and answer questions from the Copy Editor. Web-based proofing provides a faster and less error-prone process by allowing you to directly type your corrections, eliminating the potential introduction of errors.

If preferred, you can still choose to annotate and upload your edits on the PDF version. All instructions for proofing will be given in the e-mail we send to authors, including alternative methods to the online version and PDF.

We will do everything possible to get your article published quickly and accurately. Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. It is important to ensure that all corrections are sent back to us in one communication. Please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility.

Offprints

The corresponding author will, at no cost, receive a customized Share Link providing 50 days free access to the final published version of the article on ScienceDirect. The Share Link can be used for sharing the article via any communication channel, including email and social media. For an extra charge, paper offprints can be ordered via the offprint order form which is sent once the article is accepted for publication. Both corresponding and co-authors may order offprints at any time via Elsevier's Webshop. Corresponding authors who have published their article open access do not receive a Share Link as their final published version of the article is available open access on ScienceDirect and can be shared through the article DOI link.

Visit the Elsevier Support Center to find the answers you need. Here you will find everything from Frequently Asked Questions to ways to get in touch.

You can also check the status of your submitted article or find out when your accepted article will be published. *manuscritos submetidos em revistas biomédicas. Os autores devem incluir uma declaração no manuscrito que informa o consentimento onde foi obtido para experimentação com seres humanos. Os direitos de privacidade dos seres humanos sempre será observado.*

Todas as experiências com animais devem cumprir as diretrizes ARRIVE e devem ser em conformidade com a Lei dos Animais (Procedimentos Científicos) de 1986, e as diretrizes diretiva 2010/63 / UE para experiências com animais, ou o guia dos Institutos Nacionais e de utilização de animais de laboratório (NIH Publicações No. 8023, revisto em 1978) e os

autores devem ver claramente no manuscrito que essas orientações foram seguidas. Declaração de interesse por todos os autores devem divulgar quaisquer relações financeiras e pessoais com outras pessoas ou organizações que poderiam influenciar indevidamente o seu trabalho. Exemplos de potenciais conflitos de interesse incluem emprego, consultorias, propriedade de ações, honorários, testemunha de peritos pagos, pedidos de patentes / Inscrições e bolsas ou outros financiamentos. Se não houver conflitos de interesse, por favor, indique o seguinte: "Conflitos de interesse: nenhum". Mais informação. Declaração de submissão e verificação a submissão de um artigo implica que o trabalho descrito não tenha sido publicado anteriormente (exceto na forma de um resumo ou como parte de uma dissertação ou tese acadêmica publicada ou como uma pré-impressão, consulte a seção "Publicação múltipla, redundante ou concorrente" de nossa política de ética para mais informações), que não está sob consideração para publicação em outro lugar, que sua publicação aprovada por todos os autores e tácita ou explicitamente pelas autoridades responsáveis onde o trabalho foi e, se aceito, não será publicado em outro lugar na mesma forma, em inglês ou em qualquer outra língua, incluindo eletronicamente sem o consentimento por escrito do detentor dos direitos autorais. Para verificar a originalidade, seu artigo pode ser verificado pelo serviço de detecção de originalidade CrossCheck.

Colaboradores

Cada autor é obrigado a declarar a sua contribuição individual para o artigo: todos os autores devem provar que materialmente participaram na pesquisa e / ou preparação do artigo, de modo que os papéis de todos os descrito. A afirmação de que todos os autores aprovaram o artigo final deve ser verdadeira e na divulgação.

Autoria

Todos os autores deveriam ter feito contribuições substanciais para todos os seguintes: (1) a concepção e ou aquisição de dados, ou análise e interpretação de dados, (2) elaboração do artigo ou revisá-lo criticamente para conteúdo intelectual importante, (3) aprovação final da versão para que seja submetido.

Mudanças na autoria

Espera-se que os autores considerem cuidadosamente a lista e a ordem dos autores antes de manuscrito e fornecer a lista definitiva de autores no momento da apresentação original. Qualquer adição, supressão ou rearranjo de nomes de autores na lista de autores deve ser feita apenas antes que o manuscrito tenha sido aceito e somente se aprovado pelo editor do jornal. Para solicitar uma alteração, o Editor deve receber o seguinte do autor correspondente: (a) a razão para a alteração na lista de autor e (b) confirmação por escrito (e-mail, carta) de todos os autores que concordar com a adição, remoção ou rearranjo. No caso de adição ou remoção de autores, isto inclui a confirmação do autor que está sendo adicionado ou removido. Apenas em circunstâncias excepcionais o Editor considerará a adição, supressão ou rearranjo de autores após a aceitação do manuscrito. Enquanto o Editor considera o pedido, a publicação do manuscrito será suspensa. Se o manuscrito já foi publicado em uma edição online, quaisquer pedidos aprovados pelo Editor resultarão em uma correção.

Copyright

Após a aceitação de um artigo, os autores serão solicitados a concluir um "Acordo de Publicação. Um e-mail será enviado ao autor correspondente confirmando o recebimento do manuscrito juntamente com um formulário de "Edital de Publicação de Diário" ou um link para a versão online do presente acordo. Os subscritores podem reproduzir tabelas de conteúdos ou preparar listas de artigos, incluindo resumos para circulação dentro das suas instituições. É necessária a permissão do editor para revenda ou distribuição fora da instituição e para todas as outras obras derivadas, incluindo compilações e traduções. E excerto de outras obras protegidas por direitos autorais, o (s) autor (es) deve (m) obter permissão por escrito dos proprietários dos direitos autorais e creditar a (s) fonte (s) no artigo.

Elsevier possui formulários pré-impressos de uso pelos autores nesses casos. Para artigos de acesso aberto: Após a aceitação de um artigo, os autores serão convidados a 'Contrato de Licença Exclusivo' (mais informações). Reutilização permitida por terceiros de artigos de acesso aberto é determinada pela escolha do autor da licença de usuário.

Direitos autorais

Como autor, você (ou seu empregador ou instituição) tem certos direitos para reutilizar seu trabalho. Elsevier apóia partilha responsável, descubra como você pode compartilhar sua pesquisa publicada nas revistas Elsevier. Papel da fonte de financiamento solicita-se que identifique quem forneceu apoio financeiro para a condução da pesquisa e / ou preparação do artigo e descrever brevemente o papel do (s) patrocinador (es), se houver, no desenho do estudo; dentro da recolha, análise e interpretação de dados; Na redacção do relatório; E na decisão de apresentar o artigo para publicação. Se a (s) fonte (s) de financiamento não tivesse tal envolvimento, ser declarado.

Acordos e políticas do organismo de financiamento

A Elsevier estabeleceu uma série de acordos com organismos de financiamento que permitem as políticas de acesso aberto do seu financiador. Alguns organismos de financiamento reembolsarão o autor ao cessar taxa de publicação. Os detalhes dos acordos existentes estão disponíveis on-line. Após a aceitação, os documentos de acesso aberto serão publicados sob uma licença não comercial. Para autores é exigindo uma CC comercial licença BY, você pode aplicar após o seu manuscrito é aceito para publicação.

Acesso livre

Esta revista oferece aos autores uma escolha na publicação de suas pesquisas:

Acesso livre

- Os artigos são livremente disponíveis tanto para os assinantes como para o público em geral com reutilização permitida.
- Uma taxa de publicação de acesso aberto é paga pelos autores ou em seu nome, p. Pelo seu financiador da investigação ou instituição.

Inscrição

- Os artigos são disponibilizados aos assinantes, bem como aos países em desenvolvimento e aos grupos dos nossos programas de acesso universal.
- Nenhuma taxa de publicação de acesso aberto pagável pelos autores.

Independentemente de como você optar por publicar seu artigo, o jornal aplicará a mesma revisão por pares e critérios e padrões de aceitação. Para artigos de acesso aberto, o (re) uso de terceiros autorizado é definido pelo seguinte Creative Commons

Licenças de usuário:

Creative Commons Atribuição-Uso Não-Comercial-NoDerivs (CC BY-NC-ND) para fins não comerciais, permite que outros distribuam e copiem o artigo e incluam em um trabalho (tal como uma antologia), desde que creditem o (s) autor (es) e desde que não alterem ou modificar o artigo. A taxa de publicação de acesso aberto para esta revista é USD 2500, excluindo impostos. Aprender mais sobre a política de preços da Elsevier: <http://www.elsevier.com/openaccesspricing>.

Subdivisão - secções numeradas

Divida seu artigo em seções claramente definidas e numeradas. Subsecções devem ser numeradas:

1.1 (em seguida, 1.1.1, 1.1.2, ...), 1.2, etc. (o resumo não está incluído na numeração da secção). Usa isto

Numeração também para referências cruzadas internas: não se refere apenas ao "texto". Qualquer subsecção pode ser dado um título breve. Cada título deve aparecer em sua própria linha separada.

Introdução

Indique os objetivos do trabalho e forneça uma base adequada, evitando uma literatura detalhada ou um resumo dos resultados.

Material e métodos

Fornecer detalhes suficientes para permitir que o trabalho seja reproduzido. Métodos já publicados devem ser indicado por uma referência: apenas devem ser descritas modificações relevantes.

Resultados

Os resultados devem ser claros e concisos.

Discussão

Isso deve explorar a importância dos resultados do trabalho, não repeti-los. Um resultado combinado a Discussão é muitas vezes apropriado. Evite citações extensas e discussão de publicações na literatura.

Conclusões

As principais conclusões do estudo podem ser apresentadas numa breve seção de Conclusões, que pode sozinho ou formar uma subseção de uma Discussão ou Resultados e Discussão seção.

Informações essenciais da página de rosto

- Título. Concisa e informativo. Os títulos são freqüentemente usados em sistemas de recuperação de informações. Evitar abreviaturas e fórmulas sempre que possível.

- Nomes de autores e afiliações. Indicar claramente o (s) nome (s) e apelido (s) de cada autor e verifique se todos os nomes estão devidamente escritos. Apresentar a afiliação dos autores e endereços (onde o trabalho real foi feito) abaixo dos nomes. Indique todas as afiliações com letras minúsculas imediatamente após o nome do autor e na frente do endereço apropriado. Forneça o endereço postal completo de cada afiliação, incluindo o nome do país e o endereço de e-mail de cada autor.

Autor correspondente

- Indicar claramente quem vai lidar com a correspondência em todas as fases de arbitragem e a publicação, também pós-publicação. Certifique-se de que o endereço de e-mail é fornecido e que os detalhes são mantidos atualizados pelo autor correspondente.

- Endereço atual / permanente. Se um autor se deslocou desde que o trabalho descrito no artigo foi efetuado ou esteve a visitar no momento, um "endereço atual" (ou "endereço permanente") pode ser indicado como uma nota de rodapé para o nome desse autor. O endereço em que o autor fez o trabalho deve ser retido como principal endereço de afiliação. Números arábicos sobrescritos são usados para tais notas de rodapé.

Abstrato

Um resumo conciso e factual é requerido. O resumo deve indicar brevemente a finalidade da pesquisa, os principais resultados e principais conclusões. Uma vez que um resumo é frequentemente apresentado separadamente a parte do artigo, ele deve ser capaz de stand alone(ser lido sozinho?). Por esta razão, as referências devem ser citadas na sua totalidade, sem referência à lista de referências. Além disso, não padrão ou abreviaturas incomuns devem ser evitadas, mas se o seu uso for essencial, devem ser definidos na sua primeira menção no próprio resumo. Os resumos devem ser limitados a um único parágrafo com não mais de 2.500 pressionamentos de tecla (caracteres mais espaços).

Palavras-chave

Imediatamente após o resumo, fornecer um máximo de 6 palavras-chave, usando ortografia e evitando termos gerais e plurais e conceitos múltiplos (evite, por exemplo, 'e', 'de'). Seja poupador com abreviaturas: apenas as abreviaturas firmemente estabelecidas no campo podem ser elegíveis. Essas palavras-chave serão utilizadas para fins de indexação.

Agradecimentos

Agrupe os agradecimentos em uma seção separada no final do artigo antes das referências; Portanto, não incluí-los na página de rosto, como uma nota de rodapé para o título, etc. Liste os indivíduos que forneceu ajuda durante a pesquisa (por exemplo, fornecendo ajuda de idioma, ajuda de escrita ou prova de leitura do artigo, etc.), fontes de apoio financeiro e doações de produtos e materiais.

Formatação das fontes de financiamento

Liste as fontes de financiamento desta maneira padrão para facilitar a conformidade com os requisitos do financiador: Financiamento: Este trabalho foi apoiado pelo National Institutes of Health [conceder números xxxx, yyyy];

“A Fundação Bill & Melinda Gates, Seattle, WA [número de concessão zzzz]; E os Institutos dos Estados Unidos Da Paz [número da concessão aaaa].”

Não é necessário incluir descrições detalhadas sobre o programa ou tipo de subvenções e prêmios. Quando o financiamento for de um subsídio de bloco ou de outros recursos disponíveis para uma universidade, faculdade ou outra instituição, apresentar o nome do instituto ou organização que forneceu o financiamento. Se nenhum financiamento foi fornecido para a pesquisa, inclua a seguinte frase: “Esta pesquisa não recebeu qualquer concessão específica de agências de financiamento no setor público, comercial” ou “setores sem fins lucrativos.”

Nomenclatura e unidades

Siga as regras e convenções internacionalmente aceitas: use o sistema internacional de unidades (SI). E se outras quantidades são mencionadas, dar seu equivalente em SI. Você é convidado a consultar o IUB: Biochemical Nomenclatura e Documentos Relacionados para mais informações.

Fórmulas matemáticas

Submeter equações matemáticas como texto editável e não como imagens. Apresente fórmulas simples em linha com texto normal sempre que possível e use o solidus (/) em vez de uma linha horizontal para termos fracionais, por exemplo, X / Y . Em princípio, as variáveis devem ser apresentadas em itálico. Poderes de e são frequentemente mais convenientemente indicado por exp. Numere consecutivamente as equações que devem ser exibidas separadamente do texto (se referido explicitamente no texto).

Notas de Rodapé

As notas de rodapé devem ser utilizadas com moderação. Numere-os consecutivamente ao longo do artigo. Muitas palavras os processadores podem criar notas de rodapé no texto, e esse recurso pode ser usado. Caso contrário, indique uma posição das notas de rodapé no texto e listar separadamente as notas de rodapé no final do artigo. Não inclua notas de rodapé na lista Referência.

Arte final

- Manipulação de imagens

Embora seja aceito que os autores às vezes precisam manipular imagens para clareza, manipulação para fins de engano ou fraude será visto como abuso ético científico e será tratado em conformidade. Para imagens gráficas, esta revista está aplicando a seguinte política: nenhum recurso específico dentro de uma imagem pode ser aumentada, obscurecida, movida, removida ou introduzida. Ajustes de brilho, contraste ou equilíbrio de cor são aceitáveis se e desde que não obscureçam ou eliminem qualquer informação

Presente no original. Os ajustamentos não lineares (por exemplo, alterações às definições de gama) devem ser revelados na legenda da figura.

Arte eletrônica

Pontos gerais

- Certifique-se de usar letras e tamanhos uniformes de sua arte original.
- Incorporar as fontes usadas se o aplicativo fornecer essa opção.

- Procure usar as seguintes fontes nas suas ilustrações: Arial, Courier, Times New Roman, Symbol ou use fontes que parecem semelhantes.
- Numere as ilustrações de acordo com a sua sequência no texto.
- Use uma convenção de nomenclatura lógica para seus arquivos de arte.
- Fornecer legendas às ilustrações separadamente.
- Dimensione as ilustrações de acordo com as dimensões desejadas da versão publicada.

- Submeter cada ilustração como um arquivo separado.

Um guia detalhado sobre obras de arte eletrônicas está disponível.

Você é convidado a visitar este site; Alguns excertos das informações detalhadas são dados aqui.

Formatos

Se sua arte eletrônica for criada em um aplicativo do Microsoft Office (Word, PowerPoint, Excel), então forneça 'como está' no formato de documento nativo. Independentemente do aplicativo usado diferente do Microsoft Office, quando sua arte eletrônica é finalizada, por favor, "Salvar como" ou converter as imagens para um dos seguintes formatos (observe a resolução e requisitos para desenhos de linha, meios-tons e combinações linha / meio-tom dado abaixo):

- EPS (ou PDF): desenhos vetoriais, incorporar todas as fontes usadas.
- TIFF (ou JPEG): Fotografias em cores ou em tons de cinza (meio-tom), mantenha um mínimo de 300 dpi.
- TIFF (ou JPEG): Desenhos de linha bitmapped (pixels preto e branco puros), mantenha um mínimo de 1000 dpi.
- TIFF (ou JPEG): Combinações de linha / meio-tom de mapa de bits (cor ou escala de cinza), mantenha a um mínimo de 500 dpi.

Por favor não:

- Fornecer arquivos que são otimizados para uso de tela (por exemplo, GIF, BMP, PICT, WPG); Estes tipicamente têm um baixo número de pixels e conjunto limitado de cores;
- Fornecer arquivos com baixa resolução;
- Submeter gráficos que são desproporcionalmente grandes para o conteúdo.

Arte em cores

Certifique-se de que os arquivos de arte estão em um formato aceitável (TIFF (ou JPEG), EPS (ou PDF) ou MS Office arquivos) e com a resolução correta. Se, juntamente com o seu artigo aceito, você enviar valores de cores utilizáveis, então a Elsevier assegurará, sem custo adicional, que esses números em cores on-line (por exemplo, ScienceDirect e outros sites), independentemente de essas ilustrações serão reproduzidas na cor na versão impressa. Para reprodução de cor em impressão, você receberá informações sobre os custos da Elsevier após o recebimento do seu artigo aceito. Por favor indique sua preferência para a cor: na cópia ou em linha somente. Outras informações sobre a preparação de arte eletrônica.

Legendas da figura

Certifique-se de que cada ilustração tem uma legenda. Fornecer as legendas separadamente, não anexadas à figura. UMA a legenda deve incluir um título breve (não na própria figura) e uma descrição da ilustração. Guarda o texto nas próprias ilustrações a um mínimo, mas explicar todos os símbolos e abreviaturas utilizadas.

Gráficos de texto

Gráficos de texto podem ser incorporados no texto na posição apropriada. Se você estiver trabalhando com LaTeX e ter esses recursos incorporados no texto, estes podem ser deixados. Veja mais em Arte eletrônica.

Tabelas

Envie as tabelas como texto editável e não como imagens. As tabelas podem ser colocadas ao lado do texto relevante no artigo, ou em páginas separadas no final. Número de tabelas consecutivamente em acordo com a sua aparência no texto e coloque quaisquer notas de tabela abaixo do corpo da tabela. Estar poupando o uso de tabelas e assegurando que os dados nele apresentados não dupliquem resultados descrito em outro lugar do artigo. Por favor, evite usar regras verticais.

Referências

Citação no texto

Certifique-se de que todas as referências citadas no texto também estão presentes na lista diversa. Todas as referências citadas no resumo devem ser dadas na íntegra. Resultados não publicados e dados pessoais e comunicações não são recomendados na lista de referências, mas podem ser mencionadas no texto. Se estas referências estão incluídas na lista de referência devem seguir o estilo de referência padrão da revista e deve incluir uma substituição da data de publicação por "Resultados não publicados" ou 'Comunicação pessoal'. A citação de uma referência como "in press" implica que o item foi aceito para publicação.

Referências da Web

Como mínimo, o URL completo deve ser dado ea data em que a referência foi acessada pela última vez. Qualquer informação adicional, se conhecidas (DOI, nomes de autor, datas, referência a uma publicação também deve ser dada. As referências da Web podem ser listadas separadamente (por exemplo, após a lista de diferente, se desejado, ou podem ser incluídos na lista de referências).

Referências de dados

Esta revista incentiva você a citar bases de dados subjacentes ou relevantes em seu manuscrito citando-os no seu texto e incluindo uma referência de dados na sua Lista de Referência. As referências de dados devem ter os seguintes elementos: nome (s) do autor, título do conjunto de dados, repositório de dados, versão (se disponível), ano, e identificador persistente global. Adicione [dataset] imediatamente antes da referência para que possamos a identificá-lo como uma referência de dados. O identificador [dataset] não aparecerá no artigo publicado. Referências em um número especial certifique-se de que as palavras "esta edição" são adicionadas a quaisquer referências na lista (e quaisquer texto) a outros artigos da mesma Edição Especial. Software de gerenciamento de referência a maioria dos periódicos Elsevier tem seu modelo de referência disponível em muitas das mais populares referências do software de gestão de produtos. Estes incluem todos os produtos que suportam Citation Style Language, estilos, como Mendeley e Zotero, bem como EndNote. Usando os plug-ins de processador desses produtos, os autores só precisam selecionar o modelo de revista apropriado ao artigo, após o qual citações e bibliografias serão automaticamente formatadas no estilo da revista.

Se nenhum modelo ainda estiver disponível para esta revista, siga o formato das referências de amostra e citações como mostrado neste Guia. Os usuários do Mendeley Desktop podem facilmente instalar o estilo de referência para este diário clicando na seguinte ligação: [Http://open.mendeley.com/use-citation-style/theriogenology](http://open.mendeley.com/use-citation-style/theriogenology).

Ao preparar seu manuscrito, você será capaz de selecionar este estilo usando os plugins Mendeley para Microsoft Word ou LibreOffice. Estilo de referência do texto: Indicar as referências por número (s) entre colchetes de acordo com o texto. Os autores reais podem ser referidos, mas o (s) número (s) de referência deve (m) ser sempre indicado (s). Lista: Numere as referências (números entre colchetes) na lista na ordem em que aparecem no texto.

Exemplos:

Referência a uma publicação de revista:

[1] Van der Geer J, Hanraads JAJ, Lupton RA. A arte de escrever um artigo científico. J Sci Commun

2010; 163: 51-9.

Referência a um livro:

[2] Strunk Jr W, Branco EB. Os elementos do estilo. 4a ed. Nova Iorque: Longman; 2000.

Referência a um capítulo de um livro editado:

[3] Mettam GR, Adams LB. Como preparar uma versão eletrônica do seu artigo. Em: Jones BS, Smith RZ, editores. Introdução à era eletrônica, Nova York: E-Publishing Inc; 2009, p. 281-304.

Referência a um site:

[4] Cancer Research UK. Relatórios de estatísticas de câncer para o Reino Unido, <http://www.cancerresearchuk.org/>

Sobrecancer / statistics / cancerstatsreport /; 2003 [acessado em 13.03.03].

Referência a um conjunto de dados:

[Dataset] [5] Oguro M, Imahiro S, Saito S, Nakashizuka T. Dados de mortalidade para o carvalho japonês

Doença e composições florestais circundantes, Mendeley Data, v1; 2015. <http://dx.doi.org/10.17632/Xwj98nb39r.1>.

Observe o formulário abreviado para o último número da página. Por exemplo, 51-9 e que para mais de 6 autores os primeiros 6 devem ser listados seguidos de 'et al.' Para obter mais detalhes, consulte "Requisitos Uniformes para manuscritos submetidos a Biomedical Journals '(J Am Med Assoc 1997; 277: 927-34) (ver também Amostras de Referências Formatadas).

Fonte da abreviatura do jornal

Os nomes dos periódicos devem ser abreviados de acordo com o periódico Index Medicus. Abreviaturas: <http://www.nlm.nih.gov/tsd/serials/lji.html>; Lista de palavras-título em série

Abreviaturas: <http://www.issn.org/2-22661-LTWA-online.php>; CAS (Chemical Abstracts Service):

<Http://www.cas.org/sent.html>