

**TERMOGRAFIA DIGITAL POR INFRAVERMELHO NO ESTUDO DE
CARACTERÍSTICAS REPRODUTIVAS DE
TOUROS NELORE (*Bos taurus indicus*)**

CAMILA DUTRA DE SOUZA

**TERMOGRAFIA DIGITAL POR INFRAVERMELHO NO ESTUDO DE
CARACTERÍSTICAS REPRODUTIVAS DE
TOUROS NELORE (*Bos taurus indicus*)**

CAMILA DUTRA DE SOUZA

Dissertação apresentada a Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal - Área de Concentração: Fisiopatologia Animal.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo George Mungai Chacur

636.213
S729u

Souza, Camila Dutra de.

Termografia digital por infravermelho no estudo de características reprodutivas de touros Nelore (*Bos taurus indicus*) / Camila Dutra de Souza – Presidente Prudente, 2015.

46 f.: il.

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade do Oeste Paulista – UNOESTE, Presidente Prudente, SP, 2015.

Bibliografia.

Orientador: Marcelo George Mungai Chacur.

1. Nelore (Zebu) – Sêmen. 2. Sêmen 3. Termografia. I. Título.

CAMILA DUTRA DE SOUZA

**TERMOGRAFIA DIGITAL POR INFRAVERMELHO NO ESTUDO DE
CARACTERÍSTICAS REPRODUTIVAS DE
TOUROS NELORE (*Bos taurus indicus*)**

Dissertação apresentada a Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal - Área de Concentração: Fisiopatologia Animal.

Presidente Prudente, 19 de Março de 2015

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Marcelo George Mungai Chacur (orientador)
Universidade do Oeste Paulista – UNOESTE
Presidente Prudente-SP

Prof. Dr. Antônio Fluminhan Junior
Universidade do Oeste Paulista - UNOESTE
Presidente Prudente - SP

Prof. Dr. Antônio de Pinho Marques Júnior
Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG
Belo Horizonte - MG

DEDICATÓRIA

Dedico à minha família que sempre me apoiou.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pela imensa proteção, bênçãos e iluminar meu caminho.

Agradeço aos meus pais Silvia e Maurício, que sempre me apoiaram, e fizeram todo o possível para que eu tivesse confiança no que eu fazia.

Agradeço meu irmão Gabriel pela amizade.

Agradeço minha filha Flávia, que sempre compreendeu minha ausência e pelo companheirismo me fazendo sorrir mesmo quando eu estava cansada.

Agradeço toda minha família por acompanhar minha trajetória até agora e comemorar comigo a cada vitória, em especial minha avó Henriqueta, pelo imenso amor e carinho comigo e cuidar da minha filha todos os dias que fui à faculdade.

Gostaria de agradecer meu namorado Amarildo, por todo amor, companheirismo e parceria, pelas madrugadas acordados estudando ao meu lado.

Agradeço meus colegas de projeto Felipe, Júnia e Isamara, pela amizade e parceria. E as minhas amigas de Mestrado, Gabriela e Mariana com quem dividi todas as etapas desse caminho até agora.

Agradeço aos professores do Mestrado, que contribuíram de forma direta e indireta na minha formação profissional.

Agradeço ao meu orientador Professor Dr. Marcelo Chacur, pela confiança em mim e na minha capacidade, pela orientação e pelos ensinamentos que levarei para toda minha vida, tornando-me uma profissional cada vez melhor.

Agradeço ao Professor Dr. Antônio Fluminhan Jr. por sempre acompanhar minha trajetória e contribuir sempre para meu crescimento.

*“A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que ninguém
ainda pensou sobre aquilo que todo mundo vê.” (Arthur Schopenhauer)*

RESUMO

Termografia digital por infravermelho no estudo de características reprodutivas de touros nelore (*Bos taurus indicus*)

Objetivou-se estudar a temperatura da superfície da bolsa escrotal por meio da termografia digital por infravermelho antes e após a colheita de sêmen bem como a correlação dessas temperaturas com a qualidade do sêmen em touros Nelore criados extensivamente. Foram utilizados 80 touros Nelore, com idade média de 60 meses, dos quais foi coletado o sêmen por eletroejaculação e termografias digitais por infravermelho (E40®, Flir) da bolsa escrotal foram realizadas antes e após a colheita do sêmen e mensurada a temperatura retal. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% e as correlações obtidas pelo coeficiente de Pearson a 5%. Houve diferenças ($P < 0,05$) para as temperaturas da superfície da bolsa escrotal, antes e após a colheita de sêmen, entre os pontos anatômicos estudados, sendo: (T1) temperaturas dos cordões espermáticos, (T2, T3 e T4) temperaturas dos terços dorsal, médio e ventral dos testículos, respectivamente e (T5) temperaturas das caudas dos epidídimos. No entanto, não houve diferença ($P > 0,05$) entre os momentos, antes e após a colheita de sêmen entre as temperaturas dos pontos anatômicos da bolsa escrotal. Houve redução na temperatura da superfície da bolsa escrotal no eixo dorso-ventral, sendo a diferença entre a temperatura do cordão espermático (T1) e cauda do epidídimo (T5) de $4,04^{\circ}\text{C}$, resultando na boa qualidade do sêmen. Houve correlação entre: T2 x defeitos espermáticos totais ($r=0,30$; $P < 0,05$); T3 x defeitos menores ($r=0,35$; $P < 0,05$); T3 x defeitos maiores ($r=0,30$; $P < 0,05$) e T3 x defeitos totais ($r=0,42$; $P < 0,05$); T4 x defeitos menores ($r=0,30$; $P < 0,05$); T4 x defeitos maiores ($r=0,28$; $P < 0,05$) e T4 x defeitos totais ($r=0,37$; $P < 0,05$); T5 x defeitos maiores ($r=0,29$; $P < 0,05$) e T5 x defeitos totais ($r=0,28$; $P < 0,05$). Houve correlação entre temperatura retal (TR) x T1 ($r=0,51$; $P < 0,05$); TR x T2 ($r=0,43$; $P < 0,05$); TR x T3 ($r=0,37$; $P < 0,05$); TR x T4 ($r=0,33$; $P < 0,05$) e TR x T5 ($r=0,32$; $P < 0,05$). A termografia digital por infravermelho é um exame de imagem complementar com acurácia nas mensurações da temperatura da superfície da bolsa escrotal indicada antes ou após a colheita de sêmen de bovinos criados extensivamente. Portanto, recomenda-se essa técnica como de triagem na detecção da termorregulação escrotal adequada na seleção de reprodutores.

Palavras-chave: Touro Zebu; Termorregulação Escrotal; Espermograma; Termograma.

ABSTRACT

Digital Infrared thermography in study of reproductive characteristics in Nelore bulls (*Bos taurus indicus*)

The objective was to study the surface temperature of the scrotum with digital infrared thermography before and after semen collection, and the correlation of these temperatures with semen quality in Nelore bulls bred extensively. 80 Nelore bulls, with an average age of 60 months, of which was collected semen by electroejaculation and digital infrared thermograms (E-40[®], FLIR) of the scrotum, before and after collection of semen and measurement of rectal temperature. The data were subjected to analysis of variance and means compared by Tukey at 5% and the correlations were obtained by Pearson at 5%. There were differences ($P>0.05$) between the surface temperatures of the scrotum, before and after semen collection, between the anatomical points analyzed, where, spermatic cords temperature (T1), temperatures of dorsal, medial and ventral thirds of the testicles (T2, T3 and T4), and epididymal tail temperature. However, there was no difference ($P>0.05$) comparing times before and after semen collection between the temperatures of each anatomical point of the scrotum. There was decrease in scrotal surface temperature in the dorso-ventral axis, where the difference between spermatic cord temperature (T1) and epididymal tails temperature was 4.04°C, resulting in a good quality semen. There was correlation between T2 x total defects ($r=0,30$; $P<0,05$); T3 x minor defects ($r=0,35$; $P<0,05$); T3 x major defects ($r=0,30$; $P<0,05$) and T3 x total defects ($r=0,42$; $P<0,05$); T4 x minor defects ($r=0,30$; $P<0,05$); T4 x major defects ($r=0,28$; $P<0,05$) and T4 x total defects ($r=0,37$; $P<0,05$); T5 x major defects ($r=0,29$; $P<0,05$) e T5 x total defects ($r=0,28$; $P<0,05$). There was correlation between rectal temperature RT x T1 ($r=0,51$; $P<0,05$); RT x T2 ($r=0,43$; $P<0,05$); RT x T3 ($r=0,37$; $P<0,05$); RT x T4 ($r=0,33$; $P<0,05$) and RT x T5 ($r=0,32$; $P<0,05$). The digital infrared thermography is a complementary exam of image with accuracy in the measurements of the scrotal surface temperature indicated before and after semen collection of the bulls bred extensively. Therefore, is recommended this technique as of the screening to detect the adequate scrotal thermoregulation in the breeding bulls selection.

Keywords: Zebu Bull; Scrotal thermoregulation; Spermogram; Thermogram.

LLISTA DE TABELAS

TABELA 1 -	Valores médios e desvio padrão dos fatores climáticos, Temperatura do Bulbo Negro Seco (WBGT), Temperatura Ambiente (TA), Temperatura do Globo (TG) e Umidade Relativa do Ar (UR), aferidos com termômetro de globo portátil digital (modelo HT-30), nas condições experimentais (1 ^a quinzena de Setembro/2013).	24
TABELA 2 -	Valores médios e desvio-padrão para as características quantitativas e qualitativas do sêmen, e Volume Testicular, em touros da raça Nelore.	25
TABELA 3 -	Valores médios e desvios padrão das temperaturas dos pontos do escroto (T1 a T5), obtidas a partir de Termografia digital por infravermelho, na antes e após a colheita de sêmen de touros da raça Nelore.	26
TABELA 4 -	Gradiente de temperatura da bolsa escrotal (GTE) pela subtração das temperaturas médias dos pontos anatômicos da bolsa escrotal (T1 a T5) de touros da raça Nelore.	27
TABELA 5 -	Correlações das temperaturas dos pontos anatômicos mensurados da bolsa escrotal (T1 a T5) com as características quantitativas e qualitativas do sêmen, em touros da raça Nelore.	28
TABELA 6 -	Gradiente de temperatura entre o reto e a bolsa escrotal pela diferença entre temperatura retal (TR) e temperatura nos pontos anatômicos mensurados na bolsa escrotal (T1 a T5) de touros da raça Nelore, submetidos à Termografia digital por infravermelho.	29
TABELA 7 -	Correlações entre a temperatura retal (TR) e a temperatura dos pontos anatômicos mensurados na bolsa escrotal (T1 a T5) em touros da raça Nelore.	30

SUMÁRIO

1 ARTIGO CIENTÍFICO	10
ANEXO – NORMAS PARA AUTORES - ANIMAL REPRODUCTION SCIENCE	32

1 **1 ARTIGO CIENTÍFICO**

2

3 Temperaturas da superfície da bolsa escrotal antes e após colheita de sêmen
4 mensuradas com termografia digital por infravermelho
5 em Nelore (*Bos taurus indicus*)

6

7 C.D. SOUZA^{a,1}, M.G.M. CHACUR^a, F.R. RUEDIGER^b, I.B. ANDRADE^a, J.S.
8 CARTOCCI^a, G.P. BASTOS^a, E. OBA^b, A.A. RAMOS^b, L.R.A, GABRIEL FILHO^c, F.F. PUTTI^c,
9 C.P. CREMASCO^c.

10 ^a Laboratório de Reprodução Animal, Universidade do Oeste Paulista, Presidente
11 Prudente, SP, Brasil.

12 ^b Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária, Faculdade de
13 Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, Brasil

14 ^c Departamento de Produção Animal, Escola de Medicina Veterinária e Ciência Animal,
15 Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, Brasil

16 ^c Universidade Estadual Paulista, Tupã, SP, Brasil

17 ¹Correspondência: Rua Dr. José foz, 626, ap 44, Presidente Prudente, CEP 19010-041,
18 SP, Brasil, Tel: +55 18 99665-2656; Email: camiladutrasouza@hotmail.com (C. D. SOUZA);
19 chacur@unoeste.br (M. G. M. CHACUR)

20

21 **Resumo**

22

23 Objetivou-se estudar a temperatura da superfície da bolsa escrotal por meio da termografia digital
24 por infravermelho antes e após a colheita de sêmen bem como a correlação dessas temperaturas
25 com a qualidade do sêmen em touros Nelore criados extensivamente. Foram utilizados 80 touros
26 Nelore, com idade média de 60 meses, dos quais foi coletado o sêmen por eletroejaculação e
27 termografias digitais por infravermelho (E40®, Flir) da bolsa escrotal foram realizadas antes e após
28 a colheita do sêmen e mensurada a temperatura retal. Os dados foram submetidos à análise de
29 variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% e as correlações obtidas pelo
30 coeficiente de Pearson a 5%. Houve diferenças ($P < 0,05$) para as temperaturas da superfície da bolsa
31 escrotal, antes e após a colheita de sêmen, entre os pontos anatômicos estudados, sendo: (T1)
32 temperaturas dos cordões espermáticos, (T2, T3 e T4) temperaturas dos terços dorsal, médio e
33 ventral dos testículos, respectivamente e (T5) temperaturas das caudas dos epidídimos. No entanto,
34 não houve diferença ($P > 0,05$) entre os momentos, antes e após a colheita de sêmen entre as
35 temperaturas dos pontos anatômicos da bolsa escrotal. Houve redução na temperatura da superfície
36 da bolsa escrotal no eixo dorso-ventral, sendo a diferença entre a temperatura do cordão
37 espermático (T1) e cauda do epidídimo (T5) de $4,04^{\circ}\text{C}$, resultando na boa qualidade do sêmen.
38 Houve correlação entre: T2 x defeitos espermáticos totais ($r=0,30$; $P < 0,05$); T3 x defeitos menores
39 ($r=0,35$; $P < 0,05$); T3 x defeitos maiores ($r=0,30$; $P < 0,05$) e T3 x defeitos totais ($r=0,42$; $P < 0,05$); T4
40 x defeitos menores ($r=0,30$; $P < 0,05$); T4 x defeitos maiores ($r=0,28$; $P < 0,05$) e T4 x defeitos totais
41 ($r=0,37$; $P < 0,05$); T5 x defeitos maiores ($r=0,29$; $P < 0,05$) e T5 x defeitos totais ($r=0,28$; $P < 0,05$).
42 Houve correlação entre temperatura retal (TR) x T1 ($r=0,51$; $P < 0,05$); TR x T2 ($r=0,43$; $P < 0,05$);
43 TR x T3 ($r=0,37$; $P < 0,05$); TR x T4 ($r=0,33$; $P < 0,05$) e TR x T5 ($r=0,32$; $P < 0,05$). A termografia
44 digital por infravermelho é um exame de imagem complementar com acurácia nas mensurações da
45 temperatura da superfície da bolsa escrotal indicada antes ou após a colheita de sêmen de bovinos

46 criados extensivamente. Portanto, recomenda-se essa técnica como de triagem na detecção da
47 termorregulação escrotal adequada na seleção de reprodutores.

48

49 **Palavras-chave:** Touro Zebu; Termorregulação Escrotal; Espermograma; Termograma.

50

51 **Introdução**

52

53 A eficiência reprodutiva do rebanho e econômica da pecuária extensiva depende da
54 fertilidade do touro no campo e a termografia digital por infravermelho pode auxiliar na
55 identificação do estresse térmico dos animais através da análise de imagens termográficas por
56 infravermelho, onde é possível visualizar gradientes de temperatura, com a vantagem de ser uma
57 técnica não invasiva (Bouzida et al., 2009). A maioria dos estudos que avaliam os efeitos do
58 estresse térmico sobre o desempenho reprodutivo em touros são em situações de simulação do
59 ambiente natural, câmaras climáticas ou por insolação escrotal (Kastelic et al., 1996b; Fernandes et
60 al., 2008).

61 A localização dos testículos no escroto de touros é fator preponderante, para a
62 espermatogênese normal, pois a temperatura neste local apresenta-se de 2 a 6°C inferior à do
63 abdômen com gradiente positivo de cima para baixo, sendo a parte superior mais quente (Kastelic et
64 al., 1996). Uma elevação da temperatura testicular aumenta o metabolismo e a demanda de oxigênio
65 pelos tecidos que compõe os testículos, porém, seu fluxo sanguíneo é limitado, tornando-se incapaz
66 de suprir essa demanda, resultando, portanto, em hipóxia e redução da qualidade seminal (Setchell,
67 1998).

68 A termografia digital por infravermelho é um método de avaliação da superfície da
69 bolsa escrotal no qual as anormalidades são reconhecidas pela análise dos padrões de temperatura e
70 identificação das áreas com aumento ou redução de temperatura superficial (Coulter, 1988). A
71 temperatura da superfície da bolsa escrotal está altamente correlacionada com a temperatura dos

72 testículos e epidídimos, e os termogramas gerados a partir da termografia por infravermelho
73 fornecem precisas informações sobre a termorregulação testicular (Coulter et al., 1988; Kastelic et
74 al., 2001; Lunstra e Coulter, 1997; Purohit et al., 1985).

75 Faz-se necessário o diagnóstico da influência de fatores limitantes da reprodução de
76 touros, dentre eles o efeito da temperatura na qualidade do sêmen. A identificação de técnicas com
77 acurácia que sirva como um exame complementar que facilite a seleção dos rebanhos é relevante e
78 faz com que o custo/benefício da produção e reprodução de bovinos de corte seja satisfatório aos
79 criadores.

80 Objetivou-se estudar a temperatura da superfície da bolsa escrotal por meio da
81 termografia digital por infravermelho antes e após a colheita de sêmen bem como a correlação
82 dessas temperaturas com a qualidade do sêmen em touros Nelore criados extensivamente.

83

84 **Material e Métodos**

85

86 O presente projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética e Uso de Animais em
87 Experimentação (CEUA) da Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE), sob o protocolo nº 1920.

88

89 **Animais e local do experimento**

90

91 Foram utilizados 80 touros da raça Nelore, com idade média de 60 meses, criados
92 extensivamente, em pasto de *Urochloa decumbens*, com acesso a mistura mineral e água *ad libitum*.

93 O experimento foi conduzido em propriedade rural localizada no município de Campo
94 Grande, MS, com latitude Sul 20° 26' 34" S e Longitude W.GE 54° 38' 45" W, com precipitação
95 média de 1225 mm/ano e caracterizado como um clima tropical com estação seca, sendo o período
96 experimental no mês de setembro de 2013, quando foram aferidos os fatores climáticos com

97 termômetro de globo portátil digital (modelo HT-30) (Tabela 1). As colheitas foram realizadas entre
98 as 9:00h e 16:00h.

99

100 **Mensurações da bolsa escrotal**

101

102 A mensuração de comprimento, largura e altura dos testículos e largura dos epidídimos
103 foi realizada com auxílio de um paquímetro. O perímetro escrotal (PE) foi aferido utilizando uma
104 fita métrica graduada em centímetros, no maior diâmetro da bolsa escrotal. Para o cálculo do
105 volume testicular (VOLTE) foi utilizada a expressão $VOLTE = 0,0396 \times (\text{média do comprimento}$
106 $\text{dos testículos}) \times (\text{perímetro escrotal})^2$, conforme Lunstra et al. (1988).

107

108 **Colheita e avaliação do sêmen**

109

110 Foi efetuada uma colheita de sêmen de cada touro com o uso da técnica de
111 eletroejaculação no modo automático (Eletroejac®, Neovet, Brasil), proporcionando maior conforto
112 aos animais durante a colheita, totalizando 80 ejaculados.

113 As amostras de sêmen foram mantidas em banho-maria (Fanem. Modelo 100®, Brasil),
114 entre 32 a 35°C, para as análises imediatas de motilidade espermática progressiva (0 a 100%), vigor
115 espermático (1 a 5) e turbilhão (0 a 5). Em seguida, fez-se diluição do sêmen em formol salino
116 tamponado (1:100), para obtenção da concentração espermática em câmara de Neubauer e da
117 morfologia espermática frente à avaliação de 200 células com microscopia óptica de contraste de
118 fase (Nikon, L200®, Japão). Os touros foram classificados segundo avaliações clínicas e
119 espermáticas para efeito de seleção para monta natural, segundo normas do Colégio Brasileiro de
120 Reprodução Animal (CBRA, 2013).

121

122 **Termografia Digital por Infravermelho**

123

124 Antes da colheita de sêmen de cada um dos 80 touros, foi aferida a temperatura da
125 superfície do escroto por meio de termografia digital de infravermelho (FLIR, E-40®, Suécia),
126 sendo o foco emissor do aparelho direcionado a 1m de distância caudalmente à bolsa escrotal. A
127 imagem termográfica foi capturada e salva, compreendendo desde o cordão espermático até a cauda
128 do epidídimo. Após a colheita de sêmen, o procedimento de termografia digital por infravermelho
129 foi repetido, sendo o tempo entre a captura das imagens antes e após a colheita do sêmen de 5
130 minutos. Adicionalmente, foi aferida a temperatura retal (TR) com o auxílio de termômetro digital
131 clínico após a realização da imagem termográfica.

132

133 **Processamento dos termogramas**

134

135 Utilizando o *software* FLIR Tools (versão 2.0.11333.1001) foi possível analisar cada
136 termograma da bolsa escrotal gerado a partir da captura da imagem por termografia digital por
137 infravermelho. Em cada termograma foram processados e obtidos os seguintes dados, padronizando
138 e adotando a seguinte nomenclatura: T1- Temperatura dos cordões espermáticos; T2- Temperatura
139 do terço dorsal dos testículos; T3- Temperatura do terço médio dos testículos; T4- Temperatura do
140 terço ventral dos testículos e T5- Temperatura das caudas dos epidídimos.

141

142 Os termogramas foram classificados em três categorias (classes) térmicas, as quais
143 foram baseadas nas descrições detalhadas e representações de padrões de termograma por
144 termografia por infravermelho de touros (Lunstra e Coulter, 1997) que estabeleceram:

144

145 Padrão normal (satisfatório - Qualidade de Imagem 1) – numerosas bandas em cores na
146 horizontal, com cada banda que representa uma faixa específica de temperatura e temperaturas
147 progressivamente mais frias em relação à distância do corpo;

147

148 Padrão intermediário (questionável – Qualidade de Imagem 2) – termograma escrotal
que apresenta alguma não-uniformidade da largura da banda ou assimetria de bandas;

149 Padrão anormal (insatisfatório – Qualidade de Imagem 3) – termograma escrotal que
150 apresenta poucas bandas, bandas não-uniformes ou bandas assimétricas com a presença de *hot spot*.

151 O gradiente de temperatura da bolsa escrotal (GTE) foi calculado pela subtração entre a
152 temperatura da superfície na região dos cordões espermáticos (T1) da bolsa escrotal em relação às
153 temperaturas nos terços dorsal (T2), médio (T3) e ventral (T4) dos testículos, e temperatura das
154 caudas dos epidídimos (T5).

155 O gradiente de temperatura entre o reto e a bolsa escrotal foi obtido pela subtração da
156 temperatura retal (TR) e das temperaturas em cada ponto anatômico da bolsa escrotal estudado (de
157 T1 a T5).

158

159 **Análise Estatística**

160

161 Os dados foram submetidos a Análise de Variância com posterior comparação entre
162 médias pelo teste de Tukey a 5%.

163 As correlações entre as características do sêmen, temperatura de cada ponto da bolsa
164 escrotal e temperatura retal foram obtidos por meio do coeficiente de correlação de Pearson a 5%
165 com o auxílio do programa estatístico SAS (2009).

166

167 **Resultados e Discussão**

168

169 Os valores médios para os fatores climáticos: WBGT que representa a sensação térmica
170 ou estresse total sofrido pelos animais, TA que representa a temperatura ambiente, TG que
171 representa a insolação ou radiação térmica e UR que é a umidade relativa do ar; no local durante o
172 período experimental estão na Tabela 1. A temperatura média de $32.9 \pm 1.17^\circ\text{C}$ encontra-se dentro da
173 faixa de temperatura ambiente considerada crítica para a manutenção normal da espermatogênese,
174 visto que a temperatura ambiental crítica para prejuízo da espermatogênese está na faixa de 27 a

175 32°C, segundo Skinner e Louw (1996) para touros Nelore. A umidade relativa do ar média de
176 19.04±3.63% está muito abaixo daquela considerada adequada por Brito et al. (2002), os quais
177 concluíram que a umidade média deve estar entre 68,7 e 71,4%, sem prejudicar a qualidade seminal
178 de touros da raça Nelore. Deste modo, apesar dos animais do presente experimento estarem
179 submetidos à um ambiente fora dessa faixa, os mesmos estavam adaptados ao ambiente.

180 Através da análise das características quantitativas e qualitativas do sêmen dos 80
181 touros, bem como a avaliação da morfometria do escroto (Tabela 2) foi possível inferir que os
182 animais estudados apresentaram uma boa espermatogênese. Visto que, segundo o Colégio
183 Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA, 2013) considera um bom reprodutor, aquele animal que
184 tiver motilidade maior ou igual a 60%; vigor maior ou igual a 3; turbilhão igual ou maior a 3;
185 Defeitos menores com máximo de 20%, sendo 10% para os individuais; Defeitos maiores com
186 máximo de 20%, sendo 5% para os individuais; e Defeitos totais com máximo de 30%.

187 A partir da análise dos termogramas da bolsa escrotal, foi sugerida a classificação em
188 três classes térmicas, segundo Lunstra e Coulter (1997). No entanto, no presente estudo foram
189 padronizados os termogramas para touros Nelore: Qualidade de Imagem 1 – Normal/Satisfatória;
190 Qualidade de Imagem 2 – Intermediária/Questionável; e Qualidade de Imagem 3 –
191 Anormal/Insatisfatória (Figura 1a, b, c).

192 Os resultados das temperaturas dos pontos anatômicos da bolsa escrotal, estudados na
193 presente pesquisa, antes e após a colheita do sêmen foram estabelecidos, a partir da análise das
194 imagens termográficas (Tabela 3).

195 A temperatura nos pontos anatômicos da bolsa escrotal apresentou um declínio em
196 relação ao eixo dorso-ventral antes e após a colheita do sêmen, não havendo diferença para os
197 resultados nos dois momentos de determinação da temperatura através da análise das imagens
198 termográficas, sendo semelhante ao encontrado por Purohit et al. (1985), que observaram diferença
199 estatística ($P<0.05$) entre a temperatura do cordão espermático e a temperatura da cauda do
200 epidídimo, $34.94 \pm 0.60^{\circ}\text{C}$ e $30.11 \pm 0.91^{\circ}\text{C}$, respectivamente. No entanto, no experimento de

201 Kastelic et al. (1996b), a temperatura da cauda do epidídimo aumentou após a colheita do sêmen
202 com o uso da técnica de eletroejaculação, devido à contração da cauda do epidídimo durante a
203 ejaculação.

204 O gradiente de temperatura da bolsa escrotal (GTE) foi obtido pela diferença entre as
205 temperatura média dos cordões espermáticos (T1), terços dorsal (T2), médio (T3) e ventral (T4) dos
206 testículos e cauda dos epidídimos (T5) (Tabela 4), e os resultados apresentados por Purohit et al.
207 (1985), relataram que a termografia de uma bolsa escrotal normal foi caracterizada por um padrão
208 térmico simétrico e constante com um gradiente de temperatura escrotal de 4 a 6°C dorso-
209 ventralmente, sendo possível concluir que o gradiente de temperatura obtido por termografia digital
210 por infravermelho do presente trabalho encontra-se dentro do padrão térmico simétrico e constante
211 preconizado.

212 O gradiente de temperatura obtido entre a porção dorsal (T1) e medial (T3) da bolsa
213 escrotal do presente estudo (Tabela 4) e os animais apresentaram sêmen com características
214 desejáveis para um touro reprodutor. Similar ao trabalho de Lunstra e Coulter (1997), onde
215 relataram que os animais com gradiente de temperatura de $2.6\pm 0.1^{\circ}\text{C}$ entre a porção dorsal da bolsa
216 escrotal (T1) e a porção medial do mesmo (T3), produzem sêmen com características superiores em
217 relação aos touros com gradiente de $1.0\pm 0.2^{\circ}\text{C}$.

218 O decréscimo da temperatura no eixo dorso-ventral da bolsa escrotal (Tabela 4)
219 sinalizou para uma boa espermatogênese nas condições experimentais. Chacur et al. (2014)
220 observaram uma faixa de maior amplitude média de temperatura, de $0,88^{\circ}\text{C}$ a $1,26^{\circ}\text{C}$, entre as
221 estações do ano na região do cordão espermático. Por outro lado, na região da cauda do epidídimo,
222 menores variações, de $0,40^{\circ}\text{C}$ a $0,86^{\circ}\text{C}$ foram verificadas entre as estações.

223 A partir das correlações da Tabela 5 pode ser verificada a influência da temperatura
224 aumentada da bolsa escrotal nas características quantitativas e qualitativas do sêmen de touros
225 Nelore. Hafez e Hafez (2004) descreveram que quando a temperatura na cauda do epidídimo
226 aumenta, aumentam às porcentagens de defeitos maiores, defeitos totais e patologia de cabeça,

227 sendo a habilidade especial da cauda do epidídimo em armazenar espermatozoides dependente da
228 manutenção da temperatura da bolsa escrotal baixa. Setchell (1998) explicou que uma elevação da
229 temperatura testicular aumenta o metabolismo e a demanda de oxigênio pelas células dos testículos,
230 porém, seu fluxo sanguíneo é limitado, tornando-se incapaz de suprir essa demanda, resultando,
231 portanto, em hipóxia e redução da qualidade seminal.

232 A média e desvio-padrão da temperatura retal (TR) dos 80 touros Nelore, obtido no
233 presente estudo, foram de $38,85 \pm 0,62^\circ\text{C}$ e o gradiente de temperatura entre o reto e bolsa escrotal,
234 calculado pela diferença da média da temperatura retal e cauda dos epidídimos (Tabela 6), nas
235 condições climáticas experimentais (Tabela 1), também foi encontrado por Kastelic et al. (1997) no
236 qual estudaram a influência de duas temperaturas ambientais (15 e 25°C) sobre a temperatura da
237 bolsa escrotal em touros *Bos taurus taurus*, verificando que o gradiente de temperatura entre o reto
238 e a bolsa escrotal foi de $9,8$ e $7,5^\circ\text{C}$ na temperatura de 15 e 25°C , respectivamente. Esses gradientes
239 apresentados corroboram os dados da revisão de Kastelic (2014), no qual o gradiente de
240 temperatura que mantêm a temperatura testicular de 2 a 6°C mais frio do que a temperatura corporal
241 central, representada pela temperatura retal, fazendo com que ocorra uma espermatogênese normal.

242 As correlações entre a temperatura retal e a temperatura média dos pontos anatômicos
243 da bolsa escrotal mensurados com termografia digital por infravermelho (Tabela 7) foram positivas
244 ($P < 0,05$), indicando que a temperatura retal exerce influência sobre a temperatura do escroto,
245 agindo de forma diferenciada em cada ponto avaliado na anatomia da bolsa escrotal. Apesar da
246 termorregulação da bolsa escrotal ser um fenômeno complexo que depende de alguns importantes
247 mecanismos que facilitam a dissipação de calor, alguns fatores influem como temperatura e
248 umidade ambiental, a temperatura corporal, a postura do animal, a variação anatômica escrotal e a
249 condição corporal do animal (Garcia, 2006). A troca de calor contracorrente no plexo pampiniforme
250 depende muito da diferença da temperatura entre artéria e veia, ou seja, da temperatura corporal e
251 do testículo, respectivamente (Waites e Setchell, 1990).

252

253 **Conclusões**

254

255 A termografia digital por infravermelho é um exame de imagem complementar com
256 acurácia nas mensurações da temperatura da superfície da bolsa escrotal indicada antes ou após a
257 colheita de sêmen de bovinos criados extensivamente. Portanto, recomenda-se essa técnica como de
258 triagem na detecção da termorregulação escrotal adequada na seleção de reprodutores.

259

260 **Agradecimentos**

261

262 Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq pelo
263 suporte financeiro e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES
264 pela bolsa PROSUP concedida.

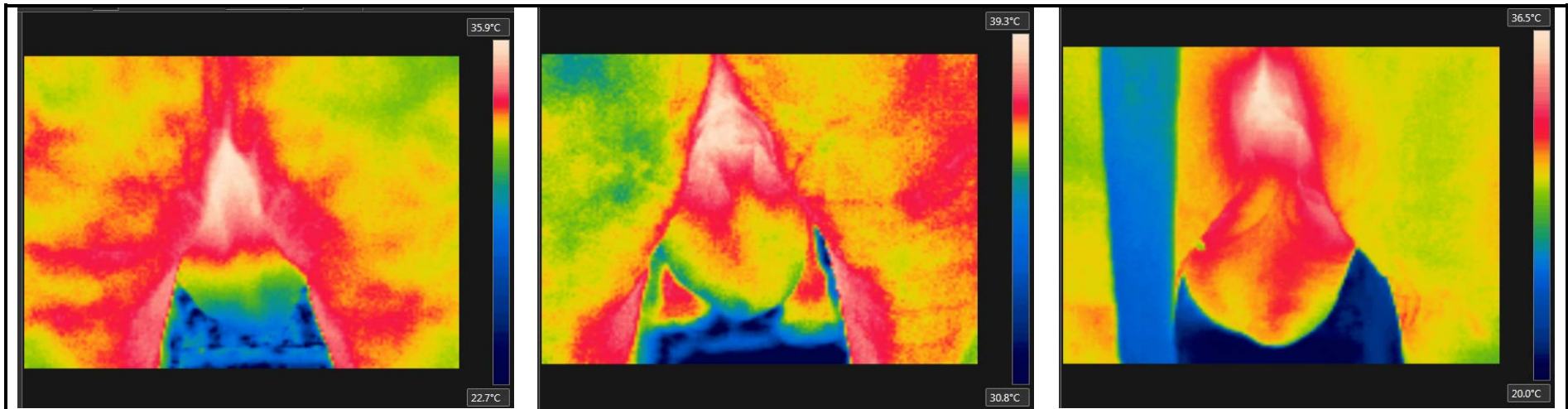


Figura 1: Padrões de imagens termográficas da bolsa escrotal de touros Nelore.

- A) Qualidade de Imagem 1 – Satisfatório: Apresenta degrade de cores no sentido dorso-ventral da bolsa escrotal com característica homogênea e imagem especular entre os lados direito e esquerdo do escroto.
- B) Qualidade de Imagem 2 – Questionável: Presença de degrade de cores no sentido dorso-ventral da bolsa escrotal com características heterogêneas e ausência de imagem especular entre os lados direito e esquerdo do escroto.
- C) Qualidade de Imagem 3 – Insatisfatório: Ausência de degrade dorso-ventral da bolsa escrotal e ausência de imagem especular entre os lados direito e esquerdo do escroto.

266 **Tabela 1:** Valores médios e desvio padrão dos fatores climáticos, Temperatura do Bulbo Negro
267 Seco (WBGT), Temperatura Ambiente (TA), Temperatura do Globo (TG) e Umidade Relativa do
268 Ar (UR), aferidos com termômetro de globo portátil digital (modelo HT-30), nas condições
269 experimentais (1ª quinzena de Setembro/2013).
270

Fatores Climáticos	Média \pm Desvio padrão
WBGT (°C)	21.86 \pm 0.26
TA (°C)	32.90 \pm 1.17
TG (°C)	32.62 \pm 0.87
UR (%)	19.04 \pm 3.63

271 **Tabela 2:** Valores médios e desvio-padrão para as características quantitativas e qualitativas do
 272 sêmen, e Volume Testicular, em touros da raça Nelore.
 273

Variável	Média ± desvio padrão
VE (mL)	5.48 ± 3.04
MO (%)	73.44 ± 12.92
VI (1 a 5)	3.44 ± 0.77
TU (0 a 5)	3.12 ± 0.75
DME (%)	14.61 ± 13.42
PCAB (%)	2.15 ± 0.91
PCAU (%)	7.15 ± 4.37
GD (%)	2.01 ± 0.61
DMA (%)	8.92 ± 6.67
GP (%)	1.89 ± 0.57
PPI (%)	1.85 ± 0.52
DTO (%)	23.23 ± 11.11
VTE (cm ³)	708.19 ± 158.15

274 VE- Volume do Ejaculado; MO- Motilidade; VI- Vigor; TU- Turbilhão; DME- Defeitos Menores;
 275 PCAB- Patologia de Cabeça; PCAU- Patologia de Cauda; GD- Gota Distal; DMA- Defeitos
 276 Maiores; GP- Gota Proximal; PPI- Patologia de Peça Intermediária; DTO- Defeitos Totais; VTE-
 277 Volume Testicular.

278 **Tabela 3:** Valores médios e desvios padrão das temperaturas dos pontos do escroto (T1 a T5),
 279 obtidas a partir de Termografia digital por infravermelho, na antes e após a colheita de sêmen de
 280 touros da raça Nelore.
 281

Ponto anatômico da bolsa escrotal	Temperatura na bolsa escrotal	
	Antes colheita de sêmen	Após colheita de sêmen
T1	36.91 ± 1.56 ^{Aa}	36.72 ± 1.70 ^{Aa}
T2	35.71 ± 1.54 ^{Ba}	35.65 ± 1.57 ^{Ba}
T3	34.74 ± 1.57 ^{Ca}	34.56 ± 1.47 ^{Ca}
T4	33.87 ± 1.64 ^{Da}	33.61 ± 1.52 ^{Da}
T5	32.87 ± 1.88 ^{Ea}	32.77 ± 1.57 ^{Ea}

282 Médias seguidas de letras diferentes, minúscula na linha e maiúscula na coluna, diferem entre si
 283 (P<0,05) pelo teste Tukey. T1- Temperatura média dos cordões espermáticos; T2- Temperatura
 284 média do terço dorsal dos testículos; T3- Temperatura média do terço médio dos testículos; T4-
 285 Temperatura média do terço ventral dos testículos; T5- Temperatura média das caudas dos
 286 epidídimos.

287 **Tabela 4:** Gradiente de temperatura da bolsa escrotal (GTE) pela subtração das temperaturas
 288 médias dos pontos anatômicos da bolsa escrotal (T1 a T5) de touros da raça Nelore.
 289

Gradiente de Temperatura da Bolsa Escrotal (GTE)	
Subtração entre a temperatura dos pontos anatômicos	ΔT (°C)
T1 (36.91) - T2 (35.71)	1.20
T1 (36.91) - T3 (34.74)	2.17
T1 (36.91) - T4 (33.87)	3.04
T1 (32.87) - T5 (32.87)	4.04
T2 (35.71) - T3 (34.74)	0.97
T2 (35.71) - T4 (33.87)	1.84
T2 (35.71) - T5 (32.87)	2.84
T3 (34.74) - T4 (33.87)	0.87
T3 (34.74) - T5 (32.87)	1.87
T4 (33.87) - T5 (32.87)	1.00

290 $\Delta T^{\circ}\text{C}$ – Temperatura obtida pela diferença entre a temperatura média dos pontos anatômicos da
 291 bolsa escrotal; T1- Temperatura média dos cordões espermáticos; T2- Temperatura média do terço
 292 dorsal dos testículos; T3- Temperatura média do terço médio dos testículos; T4- Temperatura média
 293 do terço ventral dos testículos; T5- Temperatura média das caudas dos epidídimos.

294 **Tabela 5:** Correlações das temperaturas dos pontos anatômicos mensurados da bolsa escrotal (T1 a T5) com as características quantitativas e
 295 qualitativas do sêmen, em touros da raça Nelore.
 296
 297

Pontos anatômicos mensurados na bolsa escrotal	Características quantitativas e qualitativas do sêmen											
	VE	TU	MO	VI	DME	DMA	DTO	GD	GP	PCAB	PCAU	PPI
T1	-0.01 ^{ns}	-0.06 ^{ns}	-0.10 ^{ns}	-0.10 ^{ns}	-0.01 ^{ns}	0.01 ^{ns}	0.25 ^{ns}	0.10 ^{ns}	0.30 ^{ns}	0.20 ^{ns}	0.10 ^{ns}	0.20 ^{ns}
T2	-0.02 ^{ns}	-0.05 ^{ns}	-0.10 ^{ns}	-0.09 ^{ns}	0.20 ^{ns}	0.32 ^{ns}	0.34 [*]	0.20 ^{ns}	0.08 ^{ns}	0.02 ^{ns}	0.17 ^{ns}	0.20 ^{ns}
T3	0.06 ^{ns}	-0.01 ^{ns}	-0.10 ^{ns}	-0.10 ^{ns}	0.35 [*]	0.30 [*]	0.42 [*]	-0.11 ^{ns}	0.10 ^{ns}	0.33 [*]	0.16 ^{ns}	0.23 ^{ns}
T4	0.06 ^{ns}	-0.01 ^{ns}	-0.15 ^{ns}	-0.15 ^{ns}	0.30 [*]	0.28 [*]	0.37 [*]	-0.11 ^{ns}	0.30 ^{ns}	0.35 [*]	0.16 ^{ns}	0.10 ^{ns}
T5	0.15 ^{ns}	-0.07 ^{ns}	-0.12 ^{ns}	-0.12 ^{ns}	0.19 ^{ns}	0.29 [*]	0.28 [*]	-0.11 ^{ns}	-0.11 ^{ns}	0.36 [*]	0.19 ^{ns}	0.30 ^{ns}

298 Coeficiente de Correlação de Pearson, ^{ns} – não significativo; * P<0.05; T1- Temperatura média dos cordões espermáticos; T2- Temperatura média do
 299 terço dorsal dos testículos; T3- Temperatura média do terço médio dos testículos; T4- Temperatura média do terço ventral dos testículos; T5-
 300 Temperatura média das caudas dos epidídimos; VE- Volume do ejaculado; TU- Turbilhão; MO- Motilidade; VI- Vigor; DME- Defeitos Menores;
 301 DMA- Defeitos Maiores; DTO- Defeitos Totais; GD- Gota Distal; GP- Gota Proximal; PCAB- Patologia de Cabeça; PCAU- Patologia de Cauda; PPI-
 302 Patologia de Peça Intermediária.

303 **Tabela 6:** Gradiente de temperatura entre o reto e a bolsa escrotal pela diferença entre
 304 temperatura retal (TR) e temperatura nos pontos anatômicos mensurados na bolsa
 305 escrotal (T1 a T5) de touros da raça Nelore, submetidos à Termografia digital por
 306 infravermelho.

307
 308

Gradiente de temperatura entre reto e bolsa escrotal	
Subtração entre a Temperatura Retal (TR) e Temperatura média nos pontos anatômicos (T1 a T5) mensurados na bolsa escrotal	$\Delta T^{\circ}\text{C}$
TR (38.85) – T1 (36.91)	1.94
TR (38.85) – T2 (35.71)	3.14
TR (38.85) – T3 (34.74)	4.11
TR (38.85) – T4 (33.87)	4.98
TR (38.85) – T5 (32.87)	5.98

309 $\Delta T^{\circ}\text{C}$ - Gradiente de temperatura entre reto e bolsa escrotal; TR- Temperatura retal; T1-
 310 Temperatura média dos cordões espermáticos; T2- Temperatura média do terço dorsal
 311 dos testículos; T3- Temperatura média do terço médio dos testículos; T4- Temperatura
 312 média do terço ventral dos testículos; T5- Temperatura média das caudas dos
 313 epidídimos.

314 **Tabela 7:** Correlações entre a temperatura retal (TR) e a temperatura dos pontos
 315 anatômicos mensurados na bolsa escrotal (T1 a T5) em touros da raça Nelore.
 316
 317

	Pontos anatômicos mensurados na bolsa escrotal				
	T1	T2	T3	T4	T5
Temperatura Retal	0.51*	0.43*	0.37*	0.35*	0.32*

318 Coeficiente de Correlação de Pearson; * P<0,05; TR- Temperatura Retal; T1-
 319 Temperatura média dos cordões espermáticos; T2- Temperatura média do terço dorsal
 320 dos testículos; T3- Temperatura média do terço médio dos testículos; T4- Temperatura
 321 média do terço ventral dos testículos; T5- Temperatura média das caudas dos
 322 epidídimos.

323 **Referências**

324

325 Bouzida, N., Bendada, A., Maldague, X. P., 2009. Visualization of body
326 thermoregulation by infrared imaging. *J. Therm. Bio.* 34, 3, 120-126.

327 Brito, L. F. C., Silva, A. E. D., Rodrigues, L. H., Vieira, F. V., Deregon, L. A. G.,
328 Kastelic, J. P., 2002. Effects of environmental factors, age and genotype on sperm
329 production and sêmen quality in *Bos indicus* and *Bos taurus* AI bulls in Brazil.
330 *Theriogenology*. 70, 181-190.

331 Chacur, M. G. M., Reis, J. D. A., Tavares, L. S., Barros, K. S., Gualberto, L., Alves, V.
332 C., OBA, E., Ramos, A. A. 2014. Influence of year periods on testicle and epididymal
333 morphometry, semen characteristics and seminal proteins by SDS-PAGE in zebu and
334 taurine. *Acta Sci. Vet. (Online)*. 42, 1173.

335 Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA), 2013. Procedimentos para exame
336 andrológico e avaliação de sêmen animal. Belo Horizonte, Brasil.

337 Coulter, G. H., Senger, P. L., Bailey, D.R.C., 1988. Relationship of scrotal surface
338 temperature measured by infrared thermography to subcutaneous and deep testicular
339 temperature in the ram. *J. Reprod. Fertil.* 84, 417-423.

340 Fernandes, C. E., Dode, M. A., Pereira, D., Silva, A. E., 2008. Effects of scrotal
341 insulation in Nellore bulls (*Bos taurus indicus*) on seminal quality and its relationship
342 with in vitro fertilizing ability. *Theriogenology*. 70, 1560-1568.

343 Garcia, A. R., 2006. Influência de fatores ambientais sobre as características
344 reprodutivas de búfalos do rio (*Bubalus bubalis*). *Rev. de Ciênc. Agrár.* 45, Suplemento.

345 Hafez, E. S. E., Hafez, B., 2004. *Reprodução Animal*. Sétima edição. Manole, Barueri,
346 Brasil.

- 347 Kastelic, J. P., Cook, R. B., Coulter, G. H., 1996a. Contribution of scrotum and testes to
348 scrotal and testicular thermoregulation in bulls and rams. *J. Reprod. Fertil.* 108, 81-85.
- 349 Kastelic, J. P., Cook, R. B., Coulter, G. H., Saacke, R. G., 1996b. Insulating the scrotal
350 neck affects semen quality and scrotal/testicular temperatures in the bull.
351 *Theriogenology.* 45, 935-942.
- 352 Kastelic, J. P., Cook, R. B., Coulter, G. H., 1997. Contribution of the scrotum, testes
353 and testicular artery to scrotal/testicular thermoregulation in bulls at ambient
354 temperatures. *Anim. Reprod. Sci.* 45, 255-261.
- 355 Kastelic, J. P., Cook, R. B., Pierson, R. A., Coulter, G. H., 2001. Relationships among
356 scrotal and testicular characteristics, sperm production, and seminal quality in 129 beef
357 bulls. *Can. J. Vet. Res.* 65, 111-115.
- 358 Kastelic, J. P., 2014. Understanding and evaluating bovine testes. *Theriogenology.* 81
359 (1), 18-23.
- 360 Lunstra, D. D., Coulter, G. H., 1997. Relationship between scrotal infrared temperature
361 patterns and natural-mating fertility in beef Bulls. *J. Anim. Sci.* 75, 767-774.
- 362 Lunstra, D. D., Gregory, K. E., Cundiff, L. V., 1988. Heritability estimates and
363 adjustment factors for effects of bull age and age of dam on yearling testicular size in
364 breeds of beef bulls. *Theriogenology.* 30, 127-136.
- 365 Lunstra, Donald D. and Coulter, Glenn H., 1993. Scrotal Thermography as a Tool for
366 Predicting Semen Quality and Natural-Mating Fertility in Young Beef Bulls. *Roman L.*
367 *Hruska U.S. Meat Anim. Res. Cent.* 1, 85-89.
- 368 Marai, I. F. M., El-Darawany, A. A., Fadiel A., Abdel-Hafez, M. A. M. 2008.
369 Reproductive performance traits as affected by heat stress and its alleviation in sheep.
370 *Tropical and Subtropical Agroecosystems.* 8, 209-234.

- 371 Purohit, R. C., Hudson, R. S., Riddell, M. G., Carson, R. L., Wolfe, D. F., Walker, D.
372 F., 1985. Thermography of the bovine scrotum. *Am. J. Vet. Res.* 46, 2388-2392.
- 373 Setchell, B. P., 1998. The Parkes Lecture Heat and the testis. *J. Reprod. Fertil.* 114, 179-
374 194.
- 375 Skinner, J. D., Louw, G. N., 1996. Heat stress and spermatogenesis in *Bos Indicus* and
376 *Bos taurus* cattle. *J. Appl. Phys.* 21, 2, 1784-1790.
- 377 Waites, G. M. H., Setchell, B. P., 1990. Physiology of the Mammalian Testis. In:
378 Lamming GE, ed. *Marshall's Physiology of Reproduction*, Fourth edition, 2,
379 *Reproduction in the Male*. Edinburg: Churchill Livingstone. 1-105.

ANEXO

NORMAS PARA AUTORES – ANIMAL REPRODUCTION SCIENCE



Introduction

Types of Paper

1. Original Research Papers (Regular Papers)
2. Review Articles

Original Research Papers should report the results of research that comprises one or a series of experiments. The paper should contribute to increasing our understanding of the biology and/or manipulation of reproduction in animals. The material should not have been previously published elsewhere, except in a preliminary form.

Review Articles should cover subjects falling within the scope of the journal which are of active current interest. They may be submitted or invited. Invited reviews will normally be solicited by the Review's Editor, but suggestions for appropriate review topics may be sent to:

K.L. Macmillan
University of Melbourne
Veterinary Clinical Centre
250 Princess Highway
VIC 3030 Werribee, Australia
k.macmillan@unimelb.edu.au

Contact details for submission

Authors should send queries concerning the submission process or journal procedures to AuthorSupport@elsevier.com. Authors can check the status of their manuscript within the review procedure using Elsevier Editorial System.



Before You Begin

Ethics in publishing

For information on Ethics in publishing and Ethical guidelines for journal publication see <http://www.elsevier.com/publishingethics> and <http://www.elsevier.com/journal-authors/ethics>.

Human and animal rights

If the work involves the use of animal or 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 <http://www.wma.net/en/30publications/10policies/b3/index.html>; EU Directive 2010/63/EU for animal experiments http://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab_animals/legislation_en.htm; Uniform Requirements for manuscripts submitted to Biomedical journals <http://www.icmje.org>. 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.

Unnecessary cruelty in animal experimentation is not acceptable to the Editors of *Animal Reproduction Science*.

Conflict 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. See also <http://www.elsevier.com/conflictsofinterest>. Further information and an example of a Conflict of Interest form can be found at: http://help.elsevier.com/app/answers/detail/a_id/286/p/7923.

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 <http://www.elsevier.com/postingpolicy>), 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 CrossCheck <http://www.elsevier.com/editors/plagdetect>.

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

This policy concerns the addition, deletion, or rearrangement of author names in the authorship of accepted manuscripts:

Before the accepted manuscript is published in an online issue: Requests to add or remove an author, or to rearrange the author names, must be sent to the Journal Manager from the corresponding author of the accepted manuscript and must include: (a) the reason the name should be added or removed, or the author names rearranged and (b) written confirmation (e-mail, fax, 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. Requests that are not sent by the corresponding author will be forwarded by the Journal Manager to the corresponding author, who must follow the procedure as described above. Note that: (1) Journal Managers will inform the Journal Editors of any such requests and (2) publication of the accepted manuscript in an online issue is suspended until authorship has been agreed.

After the accepted manuscript is published in an online issue: Any requests to add, delete, or rearrange author names in an article published in an online issue will follow the same policies as noted above and result in a corrigendum.

Copyright

This journal offers authors a choice in publishing their research: Open access and Subscription.

For subscription articles

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'Journal Publishing Agreement' (for more information on this and copyright, see <http://www.elsevier.com/copyright>). 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 (please consult <http://www.elsevier.com/permissions>). 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: please consult <http://www.elsevier.com/permissions>.

For open access articles

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete an 'Exclusive License Agreement' (for more information see <http://www.elsevier.com/OAauthoragreement>). Permitted reuse of open access articles is determined by the author's choice of user license (see <http://www.elsevier.com/openaccesslicenses>).

Retained author rights

As an author you (or your employer or institution) retain certain rights. For more information on author rights for:

Subscription articles please see <http://www.elsevier.com/journal-authors/author-rights-and-responsibilities>.

Open access articles please see <http://www.elsevier.com/OAauthoragreement>.

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 agreements and developed policies to allow authors whose articles appear in journals published by Elsevier, to comply with potential manuscript archiving requirements as specified as conditions of their grant awards. To learn more about existing agreements and policies please visit <http://www.elsevier.com/fundingbodies>.

Open access

This journal offers authors a choice in publishing their research:

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 their research funder

Subscription

- Articles are made available to subscribers as well as developing countries and patient groups through our access programs (<http://www.elsevier.com/access>)
- No open access publication fee

All articles published open access will be immediately and permanently free for everyone to read and download. Permitted reuse is defined by your choice of one of the following Creative Commons user licenses:

Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike (CC BY-NC-SA): for non-commercial purposes, lets others distribute and copy the article, to create extracts, abstracts and other revised versions, adaptations or derivative works of or from an article (such as a translation), to include in a collective work (such as an anthology), to text and data mine the article, as long as they credit the author(s), do not represent the author as endorsing their adaptation of the article, do not modify the article in such a way as to damage the author's honor or reputation, and license their new adaptations or creations under identical terms (CC BY-NC-SA).

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.

Elsevier has established agreements with funding bodies, <http://www.elsevier.com/fundingbodies>. This ensures authors can comply with funding body open access requirements, including specific user licenses, such as CC BY. Some authors may also be reimbursed for associated publication fees. If you need to comply with your funding body policy, you can apply for the CC BY license after your manuscript is accepted for publication.

To provide open access, this journal has a publication fee which needs to be met by the authors or their research funders for each article published open access.

Your publication choice will have no effect on the peer review process or acceptance of submitted articles.

The open access publication fee for this journal is **\$2500**, excluding taxes. Learn more about Elsevier's pricing policy: <http://www.elsevier.com/openaccesspricing>.

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 (<http://webshop.elsevier.com/languageediting/>) or visit our customer support site (<http://support.elsevier.com>) for more information.

Submission

Submission to this journal proceeds totally online and you will be guided stepwise through the creation and uploading of your files. The system automatically converts source files to a single PDF file of the article, which is used in the peer-review process. Please note that even though manuscript source files are converted to PDF files at submission for the review process, these source files are needed for further processing after acceptance. All correspondence, including notification of the Editor's decision and requests for revision, takes place by e-mail removing the need for a paper trail.

Submit your article

Please submit your article via <http://ees.elsevier.com/anirep>.

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.



Preparation

Article structure

Manuscripts should have numbered lines with wide margins and double spacing throughout, i.e. also for abstracts, footnotes and references. Every page of the manuscript, including the title page, references, tables, etc., should be numbered. However, in the text no reference should be made to page numbers; if necessary, one may refer to sections. Avoid excessive usage of italics to emphasize part of the text.

Introduction

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

The introduction "sets the scene" for your work. Do not over-reference statements; two or three key references should suffice unless each adds something specific. The introduction should not normally be more than 500 words (approximately two manuscript pages).

Material and methods

Provide sufficient detail to allow the work to be reproduced. Methods already published should be indicated by a reference: only relevant modifications should 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.** Where the family name may be ambiguous (e.g., a double name), please indicate this clearly. 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. **Ensure that phone numbers (with country and area code) are provided in addition to the e-mail address and the complete postal address. Contact details must be 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 of not more than 250 words. The abstract should state briefly the purpose of the research, the principal results and major

conclusions. An abstract is often presented separately from the article, so it must be able to stand alone. For this reason, References should be avoided, but if essential, then cite the author(s) and year(s). Also, non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself.

Graphical abstract

Although a graphical abstract is optional, its use is encouraged as it draws more attention to the online article. The graphical abstract should summarize the contents of the article in a concise, pictorial form designed to capture the attention of a wide readership. Graphical abstracts should be submitted as a separate file in the online submission system. Image size: Please provide an image with a minimum of 531×1328 pixels (h \times w) or proportionally more. The image should be readable at a size of 5×13 cm using a regular screen resolution of 96 dpi. Preferred file types: TIFF, EPS, PDF or MS Office files. See <http://www.elsevier.com/graphicalabstracts> for examples. Authors can make use of Elsevier's Illustration and Enhancement service to ensure the best presentation of their images and in accordance with all technical requirements: [Illustration Service](#).

Highlights

Highlights are mandatory for this journal. They consist of a short collection of bullet points that convey the core findings of the article and should be submitted in a separate file in the online submission system. Please use 'Highlights' in the file name and include 3 to 5 bullet points (maximum 85 characters, including spaces, per bullet point). See <http://www.elsevier.com/highlights> for examples.

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 and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise. List here those individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.).

Authors and editors are, by general agreement, obliged to accept the rules governing biological nomenclature, as laid down in the *International Code of Botanical Nomenclature*, the *International Code of Nomenclature of Bacteria*, and the *International Code of Zoological Nomenclature*.

All biotica (crops, plants, insects, birds, mammals, etc.) should be identified by their scientific names when the English term is first used, with the exception of common domestic animals.

All biocides and other organic compounds must be identified by their Geneva names when first used in the text. Active ingredients of all formulations should be likewise identified.

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: <http://www.chem.qmw.ac.uk/iubmb/> for further information.

Math formulae

Present simple formulae in the line of 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, using superscript Arabic numbers. Many wordprocessors build footnotes into the text, and this feature may be used. Should this not be the case, indicate the position of footnotes in the text and present the footnotes themselves separately at the end of the article. Do not include footnotes in the Reference list.

Table footnotes

Indicate each footnote in a table with a superscript lowercase letter.

Artwork

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 printed version.
- Submit each illustration as a separate file.

A detailed guide on electronic artwork is available on our website:

<http://www.elsevier.com/artworkinstructions>

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 on the Web (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 on the Web only. For further information on the preparation of electronic artwork, please

see <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>.

Please note: Because of technical complications that can arise by converting color figures to 'gray scale' (for the printed version should you not opt for color in print) please submit in addition usable black and white versions of all the color illustrations.

Tables

Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text. Place footnotes to tables below the table body and indicate them with superscript lowercase letters. Avoid vertical rules. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in tables do not duplicate results described elsewhere in the article.

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.

Reference style

Text: All citations in the text should refer to:

1. *Single author:* the author's name (without initials, unless there is ambiguity) and the year of publication;
2. *Two authors:* both authors' names and the year of publication;
3. *Three or more authors:* first author's name followed by 'et al.' and the year of publication.

Citations may be made directly (or parenthetically). Groups of references should be listed first alphabetically, then chronologically.

Examples: 'as demonstrated (Allan, 2000a, 2000b, 1999; Allan and Jones, 1999).

Kramer et al. (2010) have recently shown'

List: References should be arranged first alphabetically and then further sorted chronologically if necessary. More than one reference from the same author(s) in the same year must be identified by the letters 'a', 'b', 'c', etc., placed after the year of publication.

Examples:

Reference to a journal publication:

Van der Geer, J., Hanraads, J.A.J., Lupton, R.A., 2010. The art of writing a scientific article. *J. Sci. Commun.* 163, 51–59.

Reference to a book:

Strunk Jr., W., White, E.B., 2000. *The Elements of Style*, fourth ed. Longman, New York.

Reference to a chapter in an edited book:

Mettam, G.R., Adams, L.B., 2009. How to prepare an electronic version of your article, in: Jones, B.S., Smith, R.Z. (Eds.), *Introduction to the Electronic Age*. E-Publishing Inc., New York, pp. 281–304.

Video data

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 files in one of our recommended file formats with a preferred maximum size of 50 MB. Video and animation files supplied will be published online in the electronic version of your article in Elsevier Web products, including ScienceDirect: <http://www.sciencedirect.com>. 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 at <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>. 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 at <http://www.elsevier.com/audioslides>. Authors of this journal will automatically receive an invitation e-mail to create an AudioSlides presentation after acceptance of their paper.

Supplementary data

Elsevier accepts electronic supplementary material to support and enhance your scientific research. Supplementary files offer the author additional possibilities to publish supporting applications, high-resolution images, background datasets, sound clips and more. Supplementary files supplied will be published online alongside the

electronic version of your article in Elsevier Web products, including ScienceDirect: <http://www.sciencedirect.com>. In order to ensure that your submitted material is directly usable, please provide the data in one of our recommended file formats. Authors should submit the material in electronic format together with the article and supply a concise and descriptive caption for each file. For more detailed instructions please visit our artwork instruction pages at <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>.

Submission checklist

The following list will be useful during the final checking of an article prior to sending it to the journal for review. Please consult this Guide for Authors for further details of any item.

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
- Phone numbers

All necessary files have been uploaded, and contain:

- Keywords
- All figure captions
- All tables (including title, description, footnotes)

Further considerations

- Manuscript has been 'spell-checked' and 'grammar-checked'
- References are in the correct format for this journal
- 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 Web)
- Color figures are clearly marked as being intended for color reproduction on the Web (free of charge) and in print, or to be reproduced in color on the Web (free of charge) and in black-and-white in print
- If only color on the Web is required, black-and-white versions of the figures are also supplied for printing purposes

For any further information please visit our customer support site

at <http://support.elsevier.com>.



After Acceptance

Use of the Digital Object Identifier

The Digital Object Identifier (DOI) may be used to cite and link to electronic

documents. The DOI consists of a unique alpha-numeric character string which is assigned to a document by the publisher upon the initial electronic publication. The assigned DOI never changes. Therefore, it is an ideal medium for citing a document, particularly 'Articles in press' because they have not yet received their full bibliographic information. Example of a correctly given DOI (in URL format; here an article in the journal *Physics Letters B*):

<http://dx.doi.org/10.1016/j.physletb.2010.09.059>

When you use a DOI to create links to documents on the web, the DOIs are guaranteed never to change.

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, at no cost, will be provided with a personalized link providing 50 days free access to the final published version of the article on [ScienceDirect](#). This link can also be used for sharing via email and social networks. 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 (<http://webshop.elsevier.com/myarticleservices/offprints>). Authors requiring printed copies of multiple articles may use Elsevier WebShop's 'Create Your Own Book' service to collate multiple articles within a single cover (<http://webshop.elsevier.com/myarticleservices/booklets>).



Author Inquiries

You can track your submitted article at http://help.elsevier.com/app/answers/detail/a_id/89/p/8045/. You can track your accepted article at <http://www.elsevier.com/trackarticle>. You are also welcome to contact Customer Support via <http://support.elsevier.com>.