



**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
DOUTORADO EM FISIOPATOLOGIA E SAÚDE ANIMAL**

GABRIELA AZENHA MILANI SORIANO

**IMPACTO DE DIFERENTES SISTEMAS ALIMENTARES NA PERIPUBERDADE
SOBRE A ANATOMO-FISIOLOGIA REPRODUTIVA DE BORREGAS**



**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
DOUTORADO EM FISIOPATOLOGIA E SAÚDE ANIMAL**

GABRIELA AZENHA MILANI SORIANO

**IMPACTO DE DIFERENTES SISTEMAS ALIMENTARES NA PERIPUBERDADE
SOBRE A ANATOMO-FISIOLOGIA REPRODUTIVA DE BORREGAS**

Tese apresentada a Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Fisiopatologia e Saúde Animal – Área de concentração: Fisiopatologia Animal.

Orientadora: Profa. Dra. Caliê Castilho

Presidente Prudente - SP
2021

636.208 52 Azenha Milani Soriano, Gabriela.
A993i Impacto de diferentes sistemas alimentares na peri-
puberdade sobre a anatomo-fisiologia reprodutiva de
borregas / Gabriela Azenha Milani Soriano. – Presidente
Prudente, 2021. 83 f.

Tese (Doutorado em Fisiopatologia e Saúde Animal)
- Universidade do Oeste Paulista – Unoeste, Presidente
Prudente, SP, 2021.

Bibliografia.

Orientador: Caliê Castilho

1. Nutrição 2. Reprodução 3. Puberdade 4. Corpo lúteo
5. Ovinos. I. Título.

GABRIELA AZENHA MILANI SORIANO

**IMPACTO DE DIFERENTES SISTEMAS ALIMENTARES NA PERIPUBERDADE
SOBRE A ANATOMO-FISIOLOGIA REPRODUTIVA DE BORREGAS**

Tese apresentada a Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor – Área de concentração: Fisiopatologia e Saúde Animal.

Presidente Prudente, 18 de junho de 2021.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Caliê Castilho
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste
Presidente Prudente - SP

Profa. Dra. Ines Cristina Giometti
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste
Presidente Prudente - SP

Profa. Dra. Marilice Zundt Astolphi
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste
Presidente Prudente - SP

Profa. Dra. Claudia Maria Bertan Membrive
Universidade Estadual Paulista – Unesp
Dracena - SP

Profa. Dra. Fabiola Rego Grecco
Universidade Norte do Paraná – Unopar
Arapongas - PR

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho primeiramente a Deus, que abençoa grandemente minha vida.

Dedico este trabalho aos meus pais, César e Rejane, pessoas sábias, que sempre torceram por mim, me dando apoio, carinho, muito amor e incentivo, permitindo assim a sua realização. Espero um dia poder retribuir tudo o que vocês fazem por mim. Vocês são as pessoas em que eu me espelho ser um dia. De um caráter e coração admiráveis.

À minha irmã Paola, uma das pessoas que sempre me aconselha e me ajuda. Sei que sempre posso contar com você.

Ao meu irmão Bruno, que sempre está ao meu lado. Seu jeito tranquilo de levar a vida me acalma quando preciso.

Aos meus amigos, que fizeram desta caminhada algo muito mais leve e prazeroso.

AGRADECIMENTOS

A realização deste trabalho só foi possível graças a orientação da Profa. Dra. Caliê Castilho, uma excelente profissional, a qual estamos juntas desde a minha graduação, até o Mestrado e agora no Doutorado. Esses anos todos tendo a oportunidade de aprender com você, foi maravilhoso para mim. O laço profissional e a amizade que criamos é muito forte e importante para mim. Sempre me ensinou sabiamente. Obrigada pela oportunidade de realizar este trabalho, pela confiança, paciência, incentivo e amizade.

À Profa. Dra. Marilice Zundt, da Unoeste, pelos ensinamentos e pela grande ajuda na realização deste trabalho.

À Profa. Dra. Claudia Maria Bertan Membrive, da Unesp de Dracena, pelo auxílio na realização deste.

À Profa. Dra. Lilian Francisco Arantes de Souza, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, que sempre esteve a disposição para a realização das estatísticas.

Ao Prof. Dr. Guilherme Nogueira, da Unesp de Araçatuba, por realizar as dosagens hormonais.

À Profa. Dra. Ines Giometti, da Unoeste, pelo auxílio na realização deste.

À minha família, a minha base. Sem vocês eu não chegaria até aqui. Vocês nunca mediram esforços para que esse trabalho fosse realizado. Sempre me apoiaram nessa jornada.

Aos alunos de graduação, Thainá, Mylena, Gabriela, Carolina, Luis Eduardo e Thais, que mesmo durante as aulas, se disponibilizaram para realizar o trabalho.

A Deus, que sempre abençoou minha vida, com uma família e amigos fiéis.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - (Brasil) CAPES – Código de Financiamento 001.

Sem vocês nada disso teria sido possível. Obrigada.

“O homem não teria alcançado o possível se, repetidas vezes, não tivesse tentado o impossível.” (Max Weber)

RESUMO

Impacto de diferentes sistemas alimentares na peripuberdade sobre a anatomo-fisiologia reprodutiva de borregas

O início da puberdade e a manutenção da função reprodutiva são fisiologicamente dependentes da nutrição. Em razão disso, hipotetizamos que variações nutricionais podem influenciar o metabolismo e a habilidade de borregas na peripuberdade a se reproduzir. Assim, objetivou-se investigar a influência do manejo nutricional na peripuberdade (subalimentação e superalimentação) na anatomo-fisiologia do sistema reprodutivo de borregas. As informações deste estudo estão apresentadas nas formas de revisão de literatura para produção de um eBook e um artigo científico. A busca literária, para confecção do eBook, foi realizada nas bases de dados PubMed, ScienceDirect e na biblioteca virtual SciELO, referente aos anos de 2003 a 2021, de modo a fornecer uma revisão bibliográfica sobre o impacto do manejo nutricional na reprodução de borregas. No experimento do artigo científico, 25 borregas (7/8 Dorper), com idades entre 6 e 7 meses, pesando de 15 a 25 Kg ($22 \text{ Kg} \pm 0,89$) foram sorteadas ao acaso e distribuídas em 3 grupos experimentais: G-C (Grupo controle; n=8) com 100-110% do consumo exigido pelo Conselho Nacional de Pesquisa (National Research Council - NRC), G-Sub (Grupo subalimentado; n=8) com regime de 70-80% do consumo exigido e o G-Super (Grupo superalimentado; n=9) com 140% do consumo exigido pelo NRC. As borregas dos grupos G-C e G-Sub, foram mantidas em pastagem de *Panicum maximum* cv. Tanzânia com acesso a água e sal mineral *ad libitum* e apenas o grupo controle recebeu 1,5% do peso vivo em ração comercial, fornecida 2 vezes ao dia. As borregas do G-Super permaneceram confinadas durante o período experimental de 8 meses (abril a novembro), recebendo dieta total, na proporção volumoso: concentrado de 20:80, contendo 16% de proteína bruta (PB) e 72% de nutrientes digestíveis totais (NDT), visando um ganho de peso diário de 200 g/dia conforme NRC, sendo o acesso à água e sal mineral *ad libitum*. No período de adaptação (5 semanas), as borregas receberam 3,5% do peso vivo da dieta total (feno + ração), sendo esta porcentagem aumentada até atingir em média de 4,5 a 5% do peso vivo. A análise bromatológica da pastagem foi realizada a cada 21 dias para avaliação do valor nutricional e determinação dos teores de matéria seca, matéria mineral e proteína bruta. As borregas foram pesadas a cada 15 dias para o ajuste da dieta em função do peso vivo e foram coletadas semanalmente amostras de sangue para dosagem de colesterol total, triglicerídeos e ureia, totalizando 09 coletas. Ao atingir o peso corporal de 32 a 45 kg, as borregas foram sincronizadas pela inserção de um dispositivo vaginal de liberação de progesterona (CIDR®) por 12 dias. Oito dias após a retirada do CIDR, foi feita coleta de sangue para dosagem de progesterona. A seguir as borregas foram abatidas e o aparelho reprodutor foi removido para pesagem, avaliação da morfometria e processamento das amostras para posterior análise da dimensão fractal do corpo lúteo pelo método de *box-counting* e análise do percentual da área do colágeno em lâminas de seções histológicas de corpos lúteos corados com *Picrosirius Red*. Os dados foram analisados com o programa SAS, considerando o nível de significância de 5% ($p=0,05$). O manejo nutricional afetou o peso no G-Super, sendo maior o peso final ($p=0,0002$) e o ganho de peso ($p=0,0006$) quando comparados ao G-C e G-Sub. O G-Sub apresentou aumento do peso do útero ($p=0,01$) e do número de anéis cervicais ($p<0,05$) comparado ao G-C e G-Super. Adicionalmente, as concentrações de

ureia diminuíram no G-Sub comparado ao G-C e G-Super. Maior ($p < 0,05$) concentração de colesterol foi identificada no início do manejo nutricional nas borregas do G-Super em comparação ao G-C e G-Sub, no período intermediário do manejo nutricional o G-C apresentou aumento nas concentrações de colesterol em comparação ao G-Super e ao final do manejo nutricional a concentração de colesterol se elevou nas borregas do G-Sub em comparação as do G-C e G-Super. O G-Sub apresentou aumento nas concentrações de triglicerídeos ($p < 0,05$) em comparação ao G-Super durante o experimento. As concentrações de progesterona ($p = 0,3039$) não foram afetadas pelos diferentes manejos nutricionais. A dimensão fractal aumentou ($p = 0,0013$) nos corpos lúteos do G-Sub comparado ao G-C e G-Super. Não foi identificada diferença na área do colágeno ($p = 0,222$) nos corpos lúteos dos grupos avaliados. Deste modo, nós concluímos que diferentes manejos nutricionais nos meses que antecedem a puberdade afetam a biologia reprodutiva, as concentrações de metabólitos sanguíneos e modificam a estrutura de tecidos reprodutivos de borregas.

Palavras-chave: Nutrição. Reprodução. Puberdade. Corpo lúteo. Ovinos.

ABSTRACT

Impact of different food systems in peripuberty on the reproductive anatomy-physiology of lambs

The onset of puberty and maintenance of reproductive function are physiologically dependent on nutrition. As a result, we hypothesize that nutritional variations may influence the metabolism and ability of peripubertal ewe lambs to reproduce. Thus, the objective was to investigate the influence of nutritional management in peripuberty (underfeeding and overfeeding) on the anatomy-physiology of the reproductive system of ewe lambs. The information from this study is presented in the form of a literature review for the production of an eBook and a scientific article. Literary search to make the eBook was carried out in the PubMed, ScienceDirect databases and the SciELO virtual library, referring to the years 2003 to 2021, in order to provide a literature review on the impact of nutritional management on the reproduction of ewe lambs. In the experiment of the scientific article, 25 lambs (7/8 Dorper), aged between 6 and 7 months, weighing from 15 to 25 kg ($22 \text{ kg} \pm 0.89$) were randomly selected and distributed into 3 groups. experimental: CG (Control group; n=8) with 100-110% of the consumption required by the National Research Council (NRC), G-Sub (Undernourished group; n=8) with a regime of 70- 80% of the required consumption and the G-Super (Supercharged Group; n=9) with 140% of the consumption required by the NRC. The lambs of the G-C and G-Sub groups were kept on pasture of *Panicum maximum* cv. Tanzania with access to water and mineral salt ad libitum and only the control group received 1.5% of live weight in commercial food, given twice a day. The G-Super lambs remained confined during the 8-month experimental period (April to November), receiving total diet, in the proportion forage: concentrate of 20:80, containing 16% crude protein (CP) and 72 % of total digestible nutrients (TDN), aiming at a daily weight gain of 200 g/day according to NRC, with access to water and mineral salt ad libitum. In the adaptation period (5 weeks), the lambs received 3.5% of the live weight of the total diet (hay + feed), and this percentage was increased. The onset of puberty and maintenance of reproductive function are physiologically dependent on nutrition. As a result, we hypothesize that nutritional variations may influence the metabolism and ability of peripubertal ewe lambs to reproduce. Thus, the objective was to investigate the influence of nutritional management in peripuberty (underfeeding and overfeeding) on the anatomy-physiology of the reproductive system of ewe lambs. The information from this study is presented in the form of a literature review for the production of an eBook and a scientific article. Literary search to make the eBook was carried out in the PubMed, ScienceDirect databases and the SciELO virtual library, referring to the years 2003 to 2021, in order to provide a literature review on the impact of nutritional management on the reproduction of ewe lambs. In the experiment of the scientific article, 25 lambs (7/8 Dorper), aged between 6 and 7 months, weighing from 15 to 25 kg ($22 \text{ kg} \pm 0.89$) were randomly selected and distributed into 3 groups. experimental: CG (Control group; n=8) with 100-110% of the consumption required by the National Research Council (NRC), G-Sub (Undernourished group; n=8) with a regime of 70- 80% of the required consumption and the G-Super (Supercharged Group; n=9) with 140% of the consumption required by the NRC. The lambs of the G-C and G-Sub groups were kept on pasture of *Panicum maximum* cv. Tanzania with access to water and mineral salt ad libitum and only the control group received 1.5% of live weight in commercial food, given twice a day. The G-Super lambs remained confined during the 8-month experimental period (April to

November), receiving total diet, in the proportion forage: concentrate of 20:80, containing 16% crude protein (CP) and 72 % of total digestible nutrients (TDN), aiming at a daily weight gain of 200 g/day according to NRC, with access to water and mineral salt ad libitum. In the adaptation period (5 weeks), the lambs received 3.5% of the live weight of the total diet (hay + feed), and this percentage was increased until reaching an average of 4.5 to 5% of the live weight. The bromatological analysis of the pasture was carried out every 21 days to evaluate the nutritional value and determination of the dry matter, mineral matter and crude protein contents. The lambs were weighed every 15 days to adjust their diet according to live weight, and blood samples were collected weekly to measure total cholesterol, triglycerides and urea, totaling 9 collections. Upon reaching a body weight of 32 to 45 kg, the ewes were synchronized by inserting a vaginal progesterone release device (CIDR®) for 12 days. Eight days after the removal of the CIDR, blood was collected to measure progesterone. Next, the ewes were slaughtered and the reproductive apparatus was removed for weighing, morphometric evaluation and sample processing for further analysis of the fractal dimension of the corpus luteum by the box-counting method and analysis of the percentage of the collagen area in slides of histological sections of corpora lutea stained with Picrosirius Red. Data were analyzed with the SAS program, considering a significance level of 5% ($p=0.05$). Nutritional management affected weight in G-Super, with higher final weight ($p=0.0002$) and weight gain ($p=0.0006$) when compared to G-C and G-Sub. G-Sub showed an increase in uterine weight ($p=0.01$) and number of cervical rings ($p<0.05$) compared to G-C and G-Super. Additionally, urea concentrations decreased in G-Sub compared to G-C and G-Super. Higher ($p<0.05$) concentration of cholesterol was identified at the beginning of the nutritional management in the lambs of the G-Super compared to the CG and G-Sub, in the intermediate period of the nutritional management, the CG showed an increase in the concentrations of cholesterol in compared to the G-Super and at the end of the nutritional management, the concentration of cholesterol increased in the lambs of the G-Sub compared to those of the GC and G-Super. G-Sub showed increased concentrations of triglycerides ($p<0.05$) compared to G-Super during the experiment. Progesterone concentrations ($p=0.3039$) were not affected by different nutritional managements. The fractal dimension increased ($p=0.0013$) in the corpora lutea of G-Sub compared to G-C and G-Super. There was no difference in collagen area ($p=0.222$) in the corpus luteum of the evaluated groups. Thus, we conclude that different nutritional managements in the months before puberty affect reproductive biology, blood metabolite concentrations and modify the structure of reproductive tissues of ewes.

Keywords: Nutrition. Reproduction. Puberty. Corpus luteum. Sheep.

SUMÁRIO

1	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	16
2	ARTIGO CIENTÍFICO NAS NORMAS DA REVISTA THERIOGENO- LOGY.....	39
	ANEXO A - PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA E PESQUISA.....	68
	ANEXO B – NORMAS DA REVISTA.....	70

1 **1 Revisão Bibliográfica**

2

3 **PUBERDADE DE OVELHAS: INFLUÊNCIA DA NUTRIÇÃO**

4

5 Gabriela Azenha Milani Soriano^a, Marilice Zundt^a, Caliê Castilho^{a*}

6

7 ^a Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente (UNOESTE), SP, Brasil

8

9 * Autor correspondente: Rodovia Raposo Tavares, Km 572 - Bairro Limoeiro Presi-
10 dente Prudente, SP- Brasil- CEP:19067-175. Tel.: +55 18 32292077; Fax: +55 18
11 3229-2080.

12 E-mail: calie@unoeste.br (C. Castilho)

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25

RESUMO

26

27

28 A eficiência dos sistemas de produção de carne ovina, depende de um manejo re-
29 produtivo intensificado para o aumento da produtividade. O início da puberdade e a
30 manutenção da função reprodutiva estão fisiologicamente ligados à nutrição, consi-
31 derando que variações nutricionais influenciam o metabolismo e a habilidade do
32 animal para se reproduzir. Fêmeas que entram em puberdade mais cedo, tendem a
33 antecipar o primeiro parto, aumentando o retorno da atividade. O impacto do balan-
34 ço energético na reprodução ocorre a nível hipotalâmico-hipofisário. O elevado esco-
35 re de condição corporal (ECC) está correlacionado com o acréscimo proteico e au-
36 mento de substâncias essenciais que contribuem para o aumento da taxa de ovula-
37 ção. O estado nutricional do animal pode interferir nos mecanismos de maturação
38 oocitária, fecundação e desenvolvimento embrionário na fase pré-implantacional.
39 Portanto, novas perspectivas sobre o melhor entendimento dos efeitos nutricionais
40 nos mecanismos fisiológicos no início da puberdade e no desempenho reprodutivo
41 precoce em ovelha, podem ser fundamentais para melhoria nos sistemas de produ-
42 ção ovina.

43

44 **Palavras-chave:** Manejo nutricional. Reprodução. Puberdade. Ovinos.

45

46 1. Introdução

47

48 A carne ovina é consumida em 188 países (DE ANDRADE et al., 2016), sendo
49 considerada como um produto importante no mercado de carnes, à medida que se
50 desenvolveu como um mercado especializado (HEJAZI et al., 2019).

51 Os consumidores apreciam à carne de ovinos comumente pelo sabor
52 (HOFFMAN et al., 2016). As características de qualidade da carne, como pH, cor,
53 perda de cozimento e força de cisalhamento, não são amplamente influenciados pela
54 dieta, idade ou sexo dos animais (JABOREK et al., 2018). No entanto, a intensidade
55 do sabor da carne ovina é proporcional ao aumento da idade dos animais
56 (JABOREK et al., 2020).

57 Em uma análise de comparação com cordeiros, a carne de animais adultos exi-
58 biu uma maior proporção benéfica de ômega-6 (n-6) para ômega-3 (n-3) e uma por-
59 centagem favorável de ácidos graxos ímpares (OFAs). Por essas razões, nutricionis-
60 tas recomendam a inclusão da carne de ovina na dieta humana, assim como incenti-
61 vam a produção de carne de ovinos para obtenção de um produto de alto valor nutri-
62 cional (JUNKUSZEW et al., 2020).

63 Uma vez que os efeitos associados à idade no abate influenciam a percepção do
64 consumidor sobre o sabor da carne (JABOREK et al., 2020), o manejo nutricional
65 pode ser uma estratégia eficiente para antecipar a produtividade, além de estimular
66 a atividade reprodutiva, antecipando o aparecimento da puberdade (ROSALES
67 NIETO et al., 2015).

68 O período de 50 dias que antecede a puberdade denomina-se peripuberdade e
69 pode ser definida como o momento a partir do qual o animal tem a capacidade de se
70 reproduzir e conseqüentemente aumentar o rebanho (ROSALES NIETO;
71 THOMPSON; MARTIN, 2018). A idade e o peso são considerados os principais fato-
72 res que influenciam o início da puberdade e o desempenho reprodutivo de ovelhas
73 ao longo da vida. O plano nutricional desempenha um papel importante na secreção
74 de progesterona (P4), insulina e leptina, o que pode levar à puberdade sexual pre-
75 coce. Deste modo, a ovinocultura pode se beneficiar economicamente com estraté-

76 gias para a antecipação da puberdade, o que permite o aumento da eficiência repro-
77 dutiva do rebanho pela quantidade de crias geradas anualmente (MENATIAN et al.,
78 2020; ROSALES NIETO; THOMPSON; MARTIN, 2018; SILVA et al., 2018). Por essa
79 razão se faz necessário o conhecimento dos efeitos nutricionais no sistema reprodu-
80 tivo de ovelhas, de modo a contribuir para a otimização do desempenho reprodutivo.

81

82 **2. Anatomo-fisiologia do sistema reprodutivo das ovelhas**

83

84 Os órgãos reprodutivos da fêmea abrangem os ovários, os ovidutos (infundí-
85 bulo, ampola e istmo), o útero (cornos e corpo uterino), a cérvix, a vagina e a genitá-
86 lia externa (SCHLAFER; FOSTER, 2016). Nas espécies domésticas, o útero é for-
87 mado por dois cornos, um corpo e uma cérvix, sendo classificado como bicornuado
88 ou bipartido. A cérvix das ovelhas é formada por 4 a 7 anéis cervicais, apresenta um
89 formato tubular longo e é composta por tecido fibroso, conjuntivo e muscular. O
90 comprimento da cérvix varia entre 5,7 a 10 cm e essas variações ocorrem por in-
91 fluência da idade, raça, número de partos e estado nutricional (CRUZ JÚNIOR et al.,
92 2014; KAABI et al., 2006; KERSHAW et al., 2005). O orifício cervical externo está
93 localizado na parte ventral da vagina e a morfologia da abertura cervical é classifica-
94 da em 4 tipos: flap (uma prega), bico de pato (duas pregas opostas), roseta (conjun-
95 to de pregas) e espiral (tecido no formato espiralado). O tipo liso (fenda) foi identifi-
96 cado, porém não há protusão da cérvix em direção a vagina anterior, e a abertura é
97 em formato de fenda (KERSHAW et al., 2005; MOURA et al., 2011).

98 Os ovários são o principal órgão do aparelho reprodutivo, regulado por hor-
99 mônios gonadotróficos do eixo hipotálamo-hipófise que regem o ciclo estral. As alte-
100 rações morfológicas dependem do número de folículos em desenvolvimento, da for-

101 mação do CL no ciclo estral, prenhez, puerpério e lactação. Além disso, os ovários
102 nas espécies uníparas, como ovelhas, têm o formato ovóide e a faixa de peso do
103 ovário nessa espécie é muito variável e estão relacionada a raça, idade, nutrição e
104 época do ano (RODRIGUES et al., 2007; SCARAMUZZI et al., 2006).

105 A puberdade é medida pela observância do primeiro CL, uma glândula endó-
106 crina transitória que desempenha um papel na regulação do ciclo estral e na pre-
107 nhez pela síntese de P4 por células esteroideogênicas e deve ser mantida em níveis
108 adequados em mamíferos para reprodução (STOCCO; TELLERIA; GIBORI, 2007).
109 As células não esteroideogênicas do CL, são compostas por células endoteliais, fi-
110 broblastos, que estão associados aos componentes estruturais dos tecidos e produ-
111 zem colágeno e citocinas, e por macrófagos que participam da resposta imune que
112 ocorre no período de regressão do CL (RICHARDS et al., 2017; SALLES; ARAÚJO,
113 2010).

114 Durante o ciclo estral, nas fases de crescimento, manutenção e regressão do
115 CL, a secreção de progesterona pode variar por influência da idade, peso e equilí-
116 brio energético, podendo afetar a precocidade sexual (MENEZES; CORDEIRO;
117 SATRAPA, 2020; REGO, 2019), dado que o colesterol é o precursor dos hormônios
118 esteroides, como a progesterona e os níveis sanguíneos de colesterol podem au-
119 mentar quando são utilizadas dietas ricas em carboidratos ou gorduras. Os episódios
120 de baixos níveis de colesterol, ocorrem quando há deficiência de consumo de ali-
121 mentos energéticos, sendo assim, para que a síntese dos hormônios esteroides não
122 seja afetada, é necessária uma dieta balanceada (GONZALEZ; SILVA, 2017).

123 O primeiro estro ocorre quando as borregas apresentam 30 a 50 kg de peso
124 vivo (JAINUDEEN; HAFEZ; 1993), que representa 60 a 70% do peso de uma fêmea
125 adulta. No entanto, além do peso corporal ideal para atingir a puberdade, o fotoperí-

126 do determina o início da puberdade nas raças que exibem estacionalidade reprodu-
127 tiva.

128

129 **3. Ciclo estral**

130

131 As ovelhas são poliéstricas sazonais e a duração média do ciclo estral é de
132 16 a 17 dias durante a estação reprodutiva, geralmente pode ocorrer uma diferença
133 de um dia de duração do ciclo estral entre diferentes raças ou idade (RAWLINGS;
134 BARTLEWSKI, 2006). As fases do ciclo estral são denominadas de proestro, estro,
135 metaestro e diestro.

136 Durante a fase de proestro, o crescimento folicular ocorre de forma rápida e
137 se estende do dia 4 aos dias 13 a 15 do ciclo. O estro é o tempo em que a ovelha se
138 mantém receptiva ao carneiro para o acasalamento e isto ocorre aproximadamente
139 entre 24 a 36 horas, enquanto a ovulação ocorre entre a metade e o final do estro. O
140 metaestro se inicia com o término do estro e persiste cerca de 3 dias após a ovula-
141 ção, sendo o período requerido para a formação do CL. O CL é uma glândula transi-
142 tória responsável pela síntese de P4 e manutenção da prenhez (BARTLEWSKI;
143 BABY; GIFFIN, 2011). O diestro é o período em que o CL está totalmente funcional,
144 onde o animal apresenta altas concentrações circulantes de P4.

145 O período de anestro se refere a um período de quiescência reprodutiva de-
146 terminada pela sazonalidade, onde imperam maiores concentrações de serotonina e
147 menores concentrações de melatonina, pois o ciclo de reprodução da ovelha é sin-
148 cronizado pelo fotoperíodo (FERRA et al., 2010; GRANADOS; DIAS; SALES, 2006;
149 MAIA; BEZERRA, 2010). O fotoperíodo é um fator ambiental que controla o ciclo
150 estral e após o solstício de verão ocorre a diminuição do fotoperíodo, causando um

151 aumento diário progressivo na secreção de melatonina e uma diminuição de seroto-
152 nina, ambos produzidos pela pineal. Uma mudança no padrão de liberação do GnRH
153 no hipotálamo, aumenta a ocorrência de pulsos por unidade de tempo e aumenta a
154 amplitude dos pulsos, promovendo o início a puberdade (MENZIES, 2015). No en-
155 tanto, as raças como a Santa Inês e Dorper são poliéstricas não estacionais, apre-
156 sentam ciclo estrais durante todo ano, possibilitando três partições em dois anos
157 (MEXIA et al., 2004; ROSANOVA; SILVA SOBRINHO; GONZAGA NETO, 2005).

158

159 **4. Puberdade**

160

161 A puberdade precoce em ovelhas é uma característica que permite um acrés-
162 cimo na produtividade por meio do aumento do rebanho, descarte de animais infér-
163 teis e a diminuição dos custos de manutenção, sendo que o ganho de peso é um
164 fator determinante para o início da fase de puberdade (KUTLUCA KORKMAZ;
165 EMSEN, 2016).

166 A puberdade zootécnica corresponde à idade em que uma fêmea alcança a
167 capacidade de se reproduzir pelo desenvolvimento corporal e que a torne capaz de
168 sustentar de forma eficiente uma prenhez a termo, sendo o primeiro cio em torno dos
169 cinco meses de idade ou quando atingem de 30 a 50 Kg (FRAGA et al., 2015;
170 HULET; SHELTON, 2004).

171 A puberdade fisiológica é definida como a ativação do eixo hipotálamo-
172 hipófise-gonadal (HHG), resultando no início da vida reprodutiva das fêmeas a partir
173 da primeira ovulação, prosseguida pelo desenvolvimento do CL e por uma fase lute-
174 ínica. Porém é necessário que a fêmea atinja um determinado peso para ser capaz
175 de sustentar uma prenhez a termo (SMITH; CLARKE, 2010).

176 Na peripuberdade, a secreção de LH é pulsátil, como na ovelha adulta, mas a
177 frequência de pulsos de LH é reduzida. Assim, a mudança na frequência de pulsos
178 GnRH/LH indica ser o principal determinante da função reprodutiva. Os pulsos de LH
179 de baixa frequência são incapazes de fornecer o estímulo necessário para o desen-
180 volvimento de um folículo ao estágio de folículo pré-ovulatório, impossibilitando a
181 produção de E2 em concentrações suficientes para promover um pico pré-
182 ovulatório de LH (SMITH; CLARKE, 2010).

183 Precedente ao início da puberdade ocorre uma diminuição na resposta ao
184 *feedback* negativo do E2, resultando no aumento da frequência de pulsos de GnRH
185 e, subsequentemente, de LH. Este aumento na frequência de pulso de LH leva ao
186 aumento da produção de E2 que, por sua vez, induz o aumento subsequente de
187 GnRH/LH e a primeira ovulação. Os pulsos de GnRH são controlados pelas ações
188 de *feedback* negativo de E2 e P4, enquanto o pico de GnRH é desencadeado pelo
189 *feedback* positivo das altas concentrações de E2 no final da fase folicular do ciclo
190 estral (NESTOR et al., 2012, 2018).

191 A P4 é produzida pelo CL formado na primeira ovulação silenciosa, embora o
192 estímulo hormonal para o estro seja o E2, um período de exposição à P4 de 5 a 9
193 dias é essencial para que a fêmea seja sensível ao E2 (DIXON et al., 2006).

194 O colesterol é o precursor dos hormônios esteróides, como o estradiol, pro-
195 gesterona e testosterona. As concentrações circulantes de colesterol podem aumen-
196 tar quando são fornecidas dietas ricas em carboidratos ou gorduras. Quando há de-
197 ficiência de consumo de alimentos energéticos foram verificadas baixas concentra-
198 ções circulantes de colesterol. Para que a síntese dos hormônios esteróides não
199 seja afetada, torna-se necessária uma dieta balanceada (GONZALEZ; SILVA, 2017).

200

201 **5. A influência da nutrição no desempenho reprodutivo de ovelhas**

202

203 A relação entre o desempenho funcional do sistema reprodutivo e a síntese
204 de energia pelo organismo estão associados especialmente em fêmeas, cujos pro-
205 cessos reprodutivos exigem um aumento do metabolismo energético (SZLIS;
206 WÓJCIK-GŁADYSZ; PRZYBYŁ, 2020). O fornecimento de uma nutrição adequada
207 contribui com o aumento da taxa de ganho de peso, aumento ECC e antecipação da
208 puberdade (DANTAS et al., 2016; ROSALES NIETO et al., 2013).

209 O conhecimento e caracterização dos mecanismos envolvidos na puberdade
210 ovina contribui na redução de intervalo entre partos e antecipa o primeiro parto, nos
211 quais são recursos que possibilitam maiores números de partos por ovelha durante
212 sua vida, garantindo o crescimento da criação de ovinos de corte (FERRA et al.,
213 2010).

214 O peso e a idade são fatores que variam consideravelmente na puberdade,
215 pois são determinados pelo genótipo do animal e pelos fatores ambientais. O genó-
216 tipo é responsável pela expressão de fatores intrínsecos como a interação entre
217 hormônios e órgãos alvos que serão influenciados por fatores ambientais, como a
218 nutrição, a luminosidade, a temperatura, a umidade e a precipitação pluviométrica
219 (DUPONT; SCARAMUZZI; REVERCHON, 2014). O ganho de peso médio diário é
220 responsável por 96% de desencadeamento da puberdade em ruminantes, dado que
221 os eventos reprodutivos que ocorrem durante a puberdade e na fêmea adulta, de-
222 pendem de um sistema complexo controlado pela interação entre o cérebro, a glân-
223 dula pituitária e as gônadas, sendo que esses sinais são afetados pelo nível nutri-
224 cional dos animais, hormônios e substâncias do metabolismo energético, entretanto

225 esses mecanismos não estão totalmente caracterizados (CHELIKANI; AMBROSE;
226 KENNELLY, 2003).

227 O sistema nervoso central (SNC) reconhece quando o organismo obtém o pe-
228 so adequado para a reprodução através da sinalização da leptina, que estimula a
229 secreção do fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-1) e de insulina
230 (BARB; HAUSMAN; CZAJA, 2005). O IGF-1 aumenta durante a puberdade em rumi-
231 nantes e estimula o crescimento de folículos pré-antrais e antrais (EL-SHAHAT;
232 KHALED; EL-FAR, 2014; MONTE et al., 2019). A nutrição pode afetar a expressão
233 do mRNA do sistema IGF ovariano e influenciar na regulação da resposta de folícu-
234 los às gonadotrofinas (LENZ SOUZA; LEANDRO GRESSLER; URIBE VELÁSQUEZ,
235 2014).

236 Os neurônios kisspeptina (Kiss1) são os principais componentes das vias
237 neuroendócrinas que ligam os níveis energéticos à reprodução. O papel da Kiss1 é
238 preponderante para o desencadeamento do pico de LH tanto na puberdade, como
239 na fase adulta em várias espécies, incluindo a humana (LUQUE; KINEMAN; TENA-
240 SEMPERE, 2007). Estudos apontam que a baixa concentração circulante de IGF-1
241 causa a diminuição da expressão do mRNA da Kiss1 (HINEY et al., 2009;
242 PRALONG, 2010), uma vez que o IGF-1 estimula a expressão do gene Kiss1 no nú-
243 cleo anteroventral periventricular (HINEY et al., 2009).

244 A obtenção de adequados índices nutricionais resulta em maiores concentra-
245 ções de glicose circulante oriundas de ácidos graxos voláteis metabolizados no fígado
246 (VARELA; HORVATH, 2012), que estimula a secreção de insulina para garantir o
247 suporte nutricional na síntese de neurotransmissores que controlam a secreção de
248 GnRH em ovelhas (NESTOR et al., 2018). A glicose é a principal fonte de energia
249 das células e tecidos, incluindo o ovário, e a captação de glicose é regulada por

250 hormônios metabólicos, como insulina e IGF-1 (DUPONT; SCARAMUZZI, 2016;
251 RABIEE; LEAN, 2000). A administração de soluções glicogênicas em ovelhas au-
252 menta a taxa de ovulação, em resultado da elevação do peso corporal ou insulina e
253 glicose (GUTIERREZ et al., 2011).

254 A glicose é transportada da circulação para o folículo através do transporte
255 passivo de substâncias pela membrana plasmática (difusão facilitada) e de proteínas
256 transportadoras de glicose (GLUTs). A concentração de glicose no fluido folicular
257 depende da taxa de difusão para o folículo e da taxa de utilização de glicose pelas
258 células da granulosa. Em vista disso, o fornecimento de energia e o balanço energé-
259 tico têm um grande efeito na reprodução, provavelmente mediado pela insulina, o
260 principal regulador do balanço energético em mamíferos (JÓZWIK et al., 2007). Gra-
261 zul-Bilska et al. (2012) mostrou que a depender do nível energético da dieta, a insu-
262 lina pode aumentar em animais nutridos ou diminuir em animais desnutridos, como
263 ressaltado no estudo sobre o efeito do ECC nos metabólitos sanguíneos de ovelhas,
264 que evidenciou menores concentrações de glicose plasmática em animais com ECC
265 1 e 2 comparadas às ovelhas com ECC 3 e 4, na escala de 1 a 5 (CALDEIRA et al.,
266 2007).

267 O efeito da nutrição na dinâmica folicular ovariana e na taxa de ovulação é
268 imediato em ovelhas com alto ECC do que em ovelhas com baixo ECC, uma vez
269 que a secreção de insulina e leptina estimula o surgimento da segunda onda folicular
270 (VIÑOLES et al., 2010). Os oócitos de ovelhas desnutridas apresentam uma menor
271 taxa de clivagem e blastocisto, conseqüentemente, há uma correlação positiva entre
272 peso corporal ou ECC e a formação do blastocisto (BOROWCZYK et al., 2006).
273 Além disso, o ECC pode ser usado para prever o desenvolvimento embrionário em

274 ovelhas, por estar associado à diminuição da qualidade do oócito na fertilização *in*
275 *vitro* (BOROWCZYK et al., 2006).

276 O balanço energético negativo provocado pela restrição alimentar pode dimi-
277 nuir a expressão gênica dos hormônios reprodutivos femininos (AHMED et al.,
278 2012). Em ovelhas desnutridas, foi evidenciado que a concentrações de E2 são
279 maiores que em ovelhas nutridas. O aumento das concentrações séricas de E2 em
280 ovelhas alimentadas com dieta restrita, pode estar relacionado à uma menor depu-
281 ração hepática de E2 (GRAZUL-BILSKA et al., 2012) menos estradiol grudando na
282 gordura do tecido adiposo. Entretanto, a avaliação do desempenho reprodutivo de
283 ovelhas e os efeitos da alimentação com diferentes proporções de volumoso nas
284 concentrações séricas de P4, concomitantemente não mostrou interação entre a di-
285 eta e a concentração de P4 (LAGHROUR et al., 2020).

286 Os hormônios esteróides são essenciais na modulação da fisiologia uterina e
287 qualquer alteração na capacidade do útero em responder a esses hormônios, pode
288 prejudicar o desenvolvimento embrionário (FERNÁNDEZ-FOREN et al., 2019;
289 MEIKLE et al., 2004). No dia 5 do ciclo estral, ovelhas cíclicas desnutridas apresen-
290 taram uma redução de hormônios esteróides e uma menor expressão de mRNA PR
291 e ER α na tuba uterina ipsilateral ao CL. No entanto, nenhuma diferença foi encon-
292 trada na expressão ou na análise quantitativa de imunocoloração de PR e ER α nos
293 dias 10 ou 14 do ciclo estral, isto é, as alterações na funcionalidade uterina durante
294 a fase lútea inicial são influenciadas pela nutrição e regulação da secreção hormo-
295 nal, portanto podem afetar o desenvolvimento embrionário e ocasionar perda embri-
296 onária precoce (GRAZUL-BILSKA et al., 2012; SOSA et al., 2004, 2006, 2008).

297 A produtividade de um rebanho depende do sucesso de alguns aspectos re-
298 produtivos (LOBATO et al., 2013). As ovelhas apresentam mecanismos fisiológicos

299 que limitam a reprodução aos meses de outono e inverno e os nascimentos às esta-
300 ções que são favoráveis à sobrevivência. Em vista disso, ovelhas mantidas em con-
301 dições de pastagem inadequada, apresentam necessidades e devem ser suplemen-
302 tadas, do contrário é provável que ocorra um declínio no desempenho total e conse-
303 quentemente perdas econômicas em decorrência da redução da reprodução
304 (YOKUS et al., 2006).

305 Os sistemas de produção animal não podem se limitar ao momento ou condi-
306 ção mais adequada para criarem seus rebanhos. O investimento energético na re-
307 produção de ovinos é considerável, dado que as populações de folículos são sensí-
308 veis à adição nutricional, isto pode contribuir na foliculogênese e no aumento da taxa
309 de ovulação por meio de modificações nutricionais. As interferências nos mecanismos
310 reprodutivos através de alterações no padrão nutricional são uma ferramenta de ges-
311 tão econômica para controlar a taxa de ovulação e o tamanho da ninhada, sobretudo
312 de baixo custo e rentável em sistemas de produção em ambientes marginais, como
313 as regiões semi-áridas, mediterrâneas e regiões montanhosas (MARTIN; RODGER;
314 BLACHE, 2004; SCARAMUZZI et al., 2006).

315 Contudo, deficiências nutricionais são mais frequentes em ruminantes, resul-
316 tando em uma produção ineficiente dos sistemas agropecuários, e consequentemen-
317 te, impactam negativamente nos parâmetros produtivos desses animais. As dietas
318 balanceadas fornecem ao animal um rápido ganho de peso e a antecipação da pu-
319 berdade, viabilizando a produção. Dentre vários fatores que podem causar resulta-
320 dos negativos, a nutrição é um dos fatores mais acessíveis a ser modificado pelo
321 produtor para assegurar resultados satisfatórios na reprodução (PEREIRA et al.,
322 2017; PETROVIC et al., 2012). A tabela 1 compõe dados de estudos de 2003 a
323 2021, sobre a influência de diferentes manejos nutricionais no peso, nos parâmetros

- 324 bioquímicos e hormonais e nas características reprodutivas de ovelhas durante os
- 325 períodos experimentais.
- 326 Tabela 1: A influência de diferentes manejos nutricionais sobre o peso, parâmetros bioquímicos e
- 327 hormonais e características reprodutivas de ovelhas

Estudo e raça	Dieta	Período da dieta	Parâmetros avaliados
Rosales-Nieto et al., 2021	Controle= 100% da NRC (n=33)	21 dias	Controle= ganho de peso diário (-104 ± 30 g/d)* e taxa reprodutiva (100%).
Dorset X Polypay	Subalimentados= 50% da NRC (n=33)		Subalimentados= ganho de peso diário (-462 ± 30 g/d)* e taxa de prenhez (82%).
	Superalimentados= 200% da NRC (n=33)		Superalimentados= ganho de peso diário (+230 ± 26 g/d)* e taxa de prenhez (145%).
*p<0,001, diferiu entre os tratamentos.			
González-García et al., 2020	Controle= 100% da NRC (n=12)	122 dias	Controle= Peso vivo (44,27± 0,285 Kg) ^b , ECC (1,92 ± 0,017) ^b , glicose (0,55 ± 0,005 mg/dL) ^a , insulina (12,98 ± 0,520 mIU/mL) ^b e leptina (4,56 ± 0,058 mg/dL) ^a .
Merino d'Arles	Subalimentados= 70% da NRC (n=12)		Subalimentados= Peso vivo (41,59 ± 0,285 Kg) ^a , ECC (1,78 ± 0,017) ^a , glicose (0,55 ± 0,005 mg/dL) ^a , insulina (11,58 ± 0,520 mIU/mL) ^a e leptina (4,52 ± 0,058 mg/dL) ^a .
	Superalimentados= 160% da NRC (n=12)		Superalimentados= Peso vivo (47,48 ± 0,446 Kg) ^c , ECC 2,00 ± 0,027) ^c , glicose (0,59 ± 0,008 mg/dL) ^b , insulina (14,96 ± 0,813 mIU/mL) ^c e leptina (5,09 ± 0,091 mg/dL) ^b .
Prezotto et al., 2020	Controle= 100% da NRC (n=16)	75 dias	Controle: sem alteração no peso, glicose (73,2 ± 1,7 mg/dL) e insulina (8,9 ± 0,8 mIU/mL).
Rambouillet	Subalimentados= 60% da NRC (n=16)		Subalimentados: peso (-13,9 ± 0,1 Kg)*, glicose (67,6 ± 2,1 mg/dL) e insulina (4,4 ± 0,4 mIU/mL).
	Superalimentados= 200% da NRC (n=16)		Superalimentados: peso (+9,6 ± 0,7 Kg), glicose (76,8±2,6 mg/dL)**, insulina (15,7

			± 1,6 mIU/mL) ^{***} . *p<0,02, em comparação ao controle. **p<0,01, em comparação ao subalimentado. ***p<0,0001, em comparação ao controle e subalimentado.
Macias-Cruz et al., 2017	Controle= 100% da NRC (n=2)	30 dias	A subalimentação não afetou a taxa de manifestação de estro, a taxa de prenhez, a perda precoce de embriões, a taxa de aborto, a taxa de parto e a duração da prenhez.
Katahdin x Pelibuey	Subalimentados= 60% da NRC (n=12)		
Tsiplakou et al., 2017	Controle= 100% da NRC (n=8)	60 dias	Controle: ganho de peso (+2 ± 1,31 Kg). Subalimentados: ganho de peso (-8 ± 0,90 Kg). Superalimentados: ganho de peso (+10 ± 1,07 Kg).
Friesian	Subalimentados= 70% da NRC (n=8)		
	Superalimentados= 130% da NRC (n=8)		
Hoffman et al., 2014	Controle= 100% da NRC (n=8)	32 dias	Controle= peso final (111 ± 3 Kg)*.
Dorset (n=21) e Shropshire (n=3)	Subalimentados= 60% da NRC (n=8)		Subalimentados= peso final (95 ± 3 Kg)*.
	Superalimentados= 126% da NRC (n=8)		Superalimentados= peso final (118 ± 4 Kg). *p=0,002, em comparação ao controle.
Murdoch et al.,2003	Controle= 100% da NRC (n=7)	50 dias	Controle= peso final (102 ± 5 Kg)* e Folículos terciários/ovelha (7,2 ± 0,4)**
Western-Range	Subalimentados= 50% da NRC (n=6)		Subalimentados= peso final (86 ± 5 Kg) e Folículos terciários/ovelha (3,0 ± 0,6). *=p<0,05, em comparação ao subalimentado. **=p<0,01, em comparação ao subalimentado.

328 **NRC**= National Research Council; + = Aumento; - = Diminuição.

329

330

331

332 **Considerações Finais**

333

334 A lucratividade de um sistema de produção animal está intimamente relacio-
335 nada à eficiência reprodutiva do rebanho. A puberdade, bem como todos os eventos
336 reprodutivos que ocorrem na fêmea adulta depende de um sistema complexo, con-
337 trolado por interações entre sinais regulatórios do cérebro, hipófise e gônada, que
338 são altamente influenciados pelo nível nutricional do animal e conseqüentemente
339 pelos hormônios e substâncias do metabolismo energético.

340 O estabelecimento de um manejo nutricional com estratégias que minimizam
341 o impacto na biologia reprodutiva de ovelhas é fundamental para a produtividade do
342 rebanho.

343

344 **Referências**

345

346 AHMED, H. et al. Effect of food restriction on reproductive-related genes and
347 reproductive hormones in adult female rats. **European Review for Medical and**
348 **Pharmacological Sciences**, v. 16, p. 1680–1690, 2012.

349

350 ANDRADE, J. C. et al. Understanding consumers' perception of lamb meat using free
351 word association. **Meat Science**, v. 117, p. 68–74, 2016. DOI:
352 10.1016/j.meatsci.2016.02.039. Disponível em:
353 <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.02.039>.

354

355 BARB, C. R.; HAUSMAN, G. J.; CZAJA, K. Leptin: A metabolic signal affecting
356 central regulation of reproduction in the pig. **Domestic Animal Endocrinology**, v.
357 29, n. 1, p. 186–192, 2005. DOI: 10.1016/j.domaniend.2005.02.024.

358

359 BARTLEWSKI, P. M.; BABY, T. E.; GIFFIN, J. L. Reproductive cycles in sheep.
360 **Animal Reproduction Science**, v. 124, n. 3–4, p. 259–268, 2011. DOI:
361 10.1016/j.anireprosci.2011.02.024. Disponível em:
362 <http://dx.doi.org/10.1016/j.anireprosci.2011.02.024>.

363

364 BOROWCZYK, E. et al. Effects of plane of nutrition on in vitro fertilization and early
365 embryonic development in sheep. **Journal of Animal Science**, v. 84, n. 6, p. 1593–
366 1599, 2006. DOI: 10.2527/2006.8461593x.

367

368

369 BUTLER, W. R. Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle.
370 **Animal Reproduction Science**, v. 60–61, p. 449–457, 2000. DOI: 10.1016/S0378-
371 4320(00)00076-2.

- 372
373 CALDEIRA, R. M. et al. The effect of body condition score on blood metabolites and
374 hormonal profiles in ewes. **Small Ruminant Research**, , v. 68, n. 3, p. 233–241,
375 2007. DOI: 10.1016/j.smallrumres.2005.08.027.
- 376
377 CHELIKANI, P. K.; AMBROSE, J. D.; KENNELLY, J. J. Effect of dietary energy and
378 protein density on body composition, attainment of puberty, and ovarian follicular
379 dynamics in dairy heifers. **Theriogenology**, , v. 60, n. 4, p. 707–725, 2003. DOI:
380 10.1016/S0093-691X(03)00088-8.
- 381
382 CRUZ JÚNIOR, C. A. et al. Anatomical and histological characterization of the cervix
383 in Santa Inês hair ewes. **Animal Reproduction**, , v. 11, n. 1, p. 49–55, 2014.
- 384
385 DANTAS, A. et al. Influence of feeding differentiation on the age at onset of puberty
386 in Brazilian Bergamasca dairy ewe lambs. **Arquivo Brasileiro de Medicina**
387 **Veterinaria e Zootecnia**, , v. 68, n. 1, p. 22–28, 2016. DOI: 10.1590/1678-4162-
388 8278.
- 389
390 ANDRADE, J. C. et al. Understanding consumers' perception of lamb meat using free
391 word association. **Meat Science**, v. 117, p. 68–74, 2016. DOI:
392 10.1016/j.meatsci.2016.02.039. Disponível em:
393 <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.02.039>.
- 394
395 DIXON, A. B. et al. Reproductive performance of ewes after 5-day treatment with
396 intravaginal inserts containing progesterone in combination with injection of
397 prostaglandin F2 α . **Reproduction in Domestic Animals**, v. 41, n. 2, p. 142–148,
398 2006. DOI: 10.1111/j.1439-0531.2006.00656.x.
- 399
400 DUPONT, J.; SCARAMUZZI, R. J.; REVERCHON, M. The effect of nutrition and
401 metabolic status on the development of follicles, oocytes and embryos in ruminants.
402 **Animal**, v. 8, n. 7, p. 1031–1044, 2014. DOI: 10.1017/S1751731114000937.
- 403
404 DUPONT, J.; SCARAMUZZI, R. J. Insulin signalling and glucose transport in the
405 ovary and ovarian function during the ovarian cycle. **Biochemical Journal**, v. 473, n.
406 11, p. 1483–1501, 2016. DOI: 10.1042/BCJ20160124.
- 407
408 EL-SHAHAT, K. H.; KHALED, N. F.; EL-FAR, F. I. Influence of growth hormone on
409 growth and onset of puberty of Rahmani ewe lamb. **Asian Pacific Journal of**
410 **Reproduction**, v. 3, n. 3, p. 224–230, 2014. DOI: 10.1016/S2305-0500(14)60030-0.
- 411
412 FERNÁNDEZ-FOREN, A. et al. Dietary restriction in sheep: Uterine functionality in
413 ewes with different body reserves during early gestation. **Theriogenology**, , v. 135, p.
414 189–197, 2019. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2019.06.023.
- 415
416 FERRA, J. de C. et al. Peso e idade à puberdade e suas correlações com medidas
417 morfométricas em cordeiras mestiças Suffolk. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.
418 39, n. 1, p. 134–141, 2010. DOI: 10.1590/S1516-35982010000100018.
- 419
420 FRAGA, A. L. C. de R. et al. Puberty beginning in lambs from hairless ewe submitted
421 to caloric or protein restriction. **Revista Brasileira de Saude e Producao Animal**, v.

- 422 16, n. 3, p. 746–757, 2015. DOI: 10.1590/s1519-99402015000300024.
423
- 424 GONZÁLEZ-GARCÍA, E. et al. Short, medium and long term metabolic responses of
425 adult meat ewes subjected to nutritional and β -adrenergic challenges. **Animals**, v.
426 10, n. 8, p. 1–21, 2020. DOI: 10.3390/ani10081320.
427
- 428 GRANADOS, L. B. C.; DIAS, A. J. B.; SALES, M. P. Aspectos gerais da reprodução
429 de caprinos e ovinos. **PROEX/UENF**, Campos dos Goytacazes, RJ, p. 54, 2006.
430 Disponível em:
431 [http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:Aspectos+gerais+d](http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:Aspectos+gerais+d+a+reprodu??o+de+caprinos+e+ovinos#0)
432 [a+reprodu??o+de+caprinos+e+ovinos#0](http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:Aspectos+gerais+d+a+reprodu??o+de+caprinos+e+ovinos#0).
433
- 434 GRAZUL-BILSKA, A. T. et al. Overfeeding and underfeeding have detrimental effects
435 on oocyte quality measured by in vitro fertilization and early embryonic development
436 in sheep. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 43, n. 4, p. 289–298, 2012. DOI:
437 10.1016/j.domaniend.2012.05.001. Disponível em:
438 <http://dx.doi.org/10.1016/j.domaniend.2012.05.001>.
439
- 440 GUTIERREZ, C. G. et al. Increasing ovulation quota: More than a matter of energy.
441 **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 39, n. SUPPL. 1, p. 305–316, 2011.
442 HEJAZI, Mina; MARCHANT, Mary A.; ZHU, Jue; NING, Xin. The decline of U.S.
443 export competitiveness in the Chinese meat import market. **Agribusiness**, v. 35, n.
444 1, p. 114–126, 2019. DOI: 10.1002/agr.21588.
445
- 446 HINEY, J. K.; SRIVASTAVA, V. K.; PINE, M. D.; DEES, W. L. Insulin-like growth
447 factor-I activates KiSS-1 gene expression in the brain of the prepubertal female rat.
448 **Endocrinology**, v. 150, n. 1, p. 376–384, 2009. DOI: 10.1210/en.2008-0954.
449
- 450 HOFFMAN, M. L. et al. Poor maternal nutrition during gestation in sheep reduces
451 circulating concentrations of insulin-like growth factor-I and insulin-like growth factor
452 binding protein-3 in offspring. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 49, n. 1, p. 39–
453 48, 2014. DOI: 10.1016/j.domaniend.2014.05.002. Disponível em:
454 <http://dx.doi.org/10.1016/j.domaniend.2014.05.002>.
455
- 456 HOFFMAN, T. W. et al. Preferences associated with American lamb quality in retail &
457 foodservice markets. **Meat Science**, v. 112, p. 138, 2016. DOI:
458 10.1016/j.meatsci.2015.08.085. Disponível em:
459 <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2015.08.085>.
460
- 461 JABOREK, J. R. et al. Effect of energy source and level, and animal age and sex on
462 meat characteristics of sheep. **Small Ruminant Research**, v. 166, p. 53–60, 2018.
463 DOI: 10.1016/j.smallrumres.2018.07.005. Disponível em:
464 <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2018.07.005>.
465
- 466 JABOREK, J. R. et al. Effect of energy source and level, animal age, and sex on the
467 flavor profile of sheep meat. **Translational Animal Science**, v. 4, n. 2, p. 1141–
468 1147, 2020. DOI: 10.1093/TAS/TXAA081.
469
- 470 JAINUDEEN, M.R.; HAFEZ, E.S.E. Sheep and goat. **Reproduction in farm**
471 **animals**, 6.ed. Philadelphia: Lea & Fabiger, 1993. p.330-342.

- 472
473 JÓZWIK, M. et al. Concentrations of monosaccharides and their amino and alcohol
474 derivatives in human preovulatory follicular fluid. **Molecular Human Reproduction**,
475 v. 13, n. 11, p. 791–796, 2007. DOI: 10.1093/molehr/gam060.
476
- 477 JUNKUSZEW, A. Chemical composition and fatty acid content in lamb and adult
478 sheep meat. **Archives Animal Breeding**, v. 63, n. 2, p. 261–268, 2020. DOI:
479 10.5194/aab-63-261-2020.
480
- 481 KAABI, M. et al. Influence of breed and age on morphometry and depth of
482 inseminating catheter penetration in the ewe cervix: A postmortem study.
483 **Theriogenology**, v. 66, n. 8, p. 1876–1883, 2006. DOI:
484 10.1016/j.theriogenology.2006.04.039.
485
- 486 KERSHAW, C. M. et al. The anatomy of the sheep cervix and its influence on the
487 transcervical passage of an inseminating pipette into the uterine lumen.
488 **Theriogenology**, v. 64, n. 5, p. 1225–1235, 2005. DOI:
489 10.1016/j.theriogenology.2005.02.017.
490
- 491 KUTLUCA KORKMAZ, M.; EMSEN, E. Growth and reproductive traits of purebred
492 and crossbred Romanov lambs in Eastern Anatolia. **Animal Reproduction**, v. 13, n.
493 1, p. 03–06, 2016. DOI: 10.4322/1984-3143-AR722.
494
- 495 LAGHROUR, W. et al. Efeito da alimentação com diferentes proporções de
496 volumoso concentrado durante o estro induzido no desempenho hormonal e
497 reprodutivo de ovelhas, v. 32, n. 3, p. 1–19, 2020.
498
- 499 LENZ SOUZA, M. I.; LEANDRO GRESSLER, M. A.; URIBE VELÁSQUEZ, L. F.
500 Interrelationships of nutrition, metabolic hormones and reproduction of female sheep.
501 **Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia**, v. 9, n. 2, p. 248–261, 2014. DOI:
502 10.21615/3148.
503
- 504 LOBATO, E. et al. Fisiologia reprodutiva de ovinos. **Pubvet**, 2013. DOI:
505 10.22256/pubvet.v7n15.1573.
506
- 507 LUQUE, R. M.; KINEMAN, R. D.; TENA-SEMPERE, M. Regulation of hypothalamic
508 expression of KiSS-1 and GPR54 genes by metabolic factors: Analyses using mouse
509 models and a cell line. **Endocrinology**, v. 148, n. 10, p. 4601–4611, 2007. DOI:
510 10.1210/en.2007-0500.
511
- 512 MAIA, K. M.; BEZERRA, A. C. D. S. Controle Do Ciclo Estral Em Caprinos: Revisão.
513 **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 4, n. 0, p. 14–19, 2010. DOI:
514 10.21708/avb.2010.4.0.1841.
515
- 516 MACÍAS-CRUZ, U. et al. Undernutrition pre- and post-mating affects serum levels of
517 glucose, cholesterol and progesterone, but not the reproductive efficiency of
518 crossbred hair ewes synchronized for estrus. **Livestock Science**, v. 205, n.
519 September, p. 64–69, 2017. DOI: 10.1016/j.livsci.2017.09.016. Disponível em:
520 <http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2017.09.016>.
521

- 522 MARTIN, G. B.; RODGER, J.; BLACHE, D. Nutritional and environmental effects on
523 reproduction in small ruminants. **Reproduction, Fertility and Development**, , v. 16,
524 n. 4, p. 491–501, 2004. DOI: 10.1071/RD04035.
525
526
- 527 MEIKLE, A. et al. Effects of parity and body condition at parturition on endocrine and
528 reproductive parameters of the cow. **Reproduction**, , v. 127, n. 6, p. 727–737, 2004.
529 DOI: 10.1530/rep.1.00080.
530
- 531 MENATIAN, S. et al. Effect of Pre and Post Weaning Diet Quality on Puberty Age
532 and Tail Measures in Kurdish Female Lambs. **Reproductive Biology and
533 Technology in Animals**, p. 1–11, 2020. DOI: 10.5772/intechopen.88647.
534
- 535 MENEZES, D. R. G.; CORDEIRO, A. L. L.; SATRAPA, R. A. Sexual Precocity
536 Associated With the Concentration of Plasma Progesterone in Nelore Heifers Raised
537 in Northern Brazil. **Revista Ciência Agrícola**, v. 18, n. 2, p. 35, 2020. DOI:
538 10.28998/rca.v18i2.8694.
539
- 540 MEXIA, A. A. et al. Desempenhos reprodutivo e produtivo de ovelhas Santa Inês
541 suplementadas em diferentes fases da gestação. **Revista Brasileira de Zootecnia**,
542 v. 33, n. 3, p. 658–667, 2004. DOI: 10.1590/s1516-35982004000300014.
543
- 544 MONTE, A. P. O. et al. Immunohistochemical localization of insulin-like growth factor-
545 1 (IGF-1) in the sheep ovary and the synergistic effect of IGF-1 and FSH on follicular
546 development in vitro and LH receptor immunostaining. **Theriogenology**, v. 129, p.
547 61–69, 2019. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2019.02.005. Disponível em:
548 <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.02.005>.
549
- 550 MOURA, D. S. et al. Aspectos morfológicos da cérvice de ovelhas, v. 31, p. 33–38,
551 2011.
552
- 553 MURDOCH, William J. et al. Ovarian responses to undernutrition in pregnant ewes,
554 USA. **Reproductive Biology and Endocrinology**, v. 1, p. 1–8, 2003. DOI:
555 10.1186/1477-7827-1-6.
556
- 557 NESTOR, C. C. et al. Evidence of a role for kisspeptin and neurokinin B in puberty of
558 female sheep. **Endocrinology**, v. 153, n. 6, p. 2756–2765, 2012. DOI:
559 10.1210/en.2011-2009.
560
- 561 NESTOR, C. C. et al. Regulation of GnRH pulsatility in ewes. **Reproduction**, v. 156,
562 n. 3, p. R83–R99, 2018. DOI: 10.1530/REP-18-0127.
563
- 564 PEREIRA, G. R. et al. Relationship of post-weaning growth and age at puberty in
565 crossbred beef heifers. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 46, n. 5, p. 413–420,
566 2017. DOI: 10.1590/S1806-92902017000500007.
567
- 568 PETROVIC, M. et al. Some important factors affecting fertility in sheep.
569 **Biotechnology in Animal Husbandry** *Biotehnologija u stocarstvu*, v. 28, n. 3, p.
570 517–528, 2012. DOI: 10.2298/bah1203517p.
571

- 572 PRALONG, F. P. Insulin and NPY pathways and the control of GnRH function and
573 puberty onset. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 324, n. 1–2, p. 82–86,
574 2010. DOI: 10.1016/j.mce.2010.01.037.
- 575
576 PREZOTTO, L. D. et al. Nutritionally induced tanycytic plasticity in the hypothalamus
577 of adult ewes. *Domestic animal endocrinology*, v. 72, p. 106438, 2020. DOI:
578 10.1016/j.domaniend.2020.106438. Disponível em:
579 <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2020.106438>.
- 580
581 RABIEE, A. R.; LEAN, I. J. Uptake of glucose and cholesterol by the ovary of sheep
582 and cattle and the influence of arterial LH concentrations. **Animal Reproduction
583 Science**, , v. 64, n. 3–4, p. 199–209, 2000. DOI: 10.1016/S0378-4320(00)00208-6.
- 584
585 RAWLINGS, N. C.; BARTLEWSKI, P. M. **Clinical Reproductive Physiology of
586 Ewes**. Second Ed. ed.: Elsevier Inc., 2006. DOI: 10.1016/B978-072169323-1.50090-
587 8. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-7216-9323-1.50090-8>.
- 588
589 REGO, F. C. de A. **Saúde e produção de ovinos**. 2019.
- 590
591 RICHARDS, J. A. S. et al. Ovarian follicular theca cell recruitment, differentiation, and
592 impact on fertility: 2017 update. **Endocrine Reviews**, v. 39, n. 1, p. 1–20, 2017. DOI:
593 10.1210/er.2017-00164.
- 594
595 RODRIGUES, P. de A. et al. Annual characteristics of estrous activity in wool and
596 hair ewe lambs under subtropical conditions. **Scientia Agricola**, , v. 64, n. 5, p. 468–
597 475, 2007. DOI: 10.1590/S0103-90162007000500003.
- 598
599 ROSANOVA, C.; SILVA SOBRINHO, A. G.; GONZAGA NETO, S. A raça dorper e
600 sua caracterização produtiva e reprodutiva. **Veterinária Notícias**, , v. 11, n. 1, p.
601 127–135, 2005.
- 602
603 ROSALES NIETO, C. A. R. et al. Relationships among Puberty, Muscle and Fat, and
604 Liveweight Gain during Mating in Young Female Sheep. **Reproduction in Domestic
605 Animals**, , v. 50, n. 4, p. 637–642, 2015. DOI: 10.1111/rda.12542.
- 606
607 ROSALES NIETO, C. A. R. et al. Selection for superior growth advances the onset of
608 puberty and increases reproductive performance in ewe lambs. **Animal**, v. 7, n. 6, p.
609 990–997, 2013. DOI: 10.1017/S1751731113000074.
- 610
611 ROSALES NIETO, C. A.R; THOMPSON, A. N.; MARTIN, G. B. A new perspective on
612 managing the onset of puberty and early reproductive performance in ewe lambs: A
613 review. **Animal Production Science**, , v. 50, n. 11, p. 1967–1975, 2018. DOI:
614 10.1071/AN17787.
- 615
616 ROSALES-NIETO, C. A. et al. Preconceptional diet manipulation and fetus number
617 can influence placenta endocrine function in sheep. **Domestic Animal
618 Endocrinology**, v. 74, n. October, p. 106577, 2021. DOI:
619 10.1016/j.domaniend.2020.106577. Disponível em:
620 <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2020.106577>.
- 621

- 622 SALLES, M. G. F.; ARAÚJO, A. A. Corpo lúteo cíclico e gestacional: revisão. **Rev.**
623 **Bras. Reprod. Animal**, v. 34, n. 3, p. 185–194, 2010.
624
- 625 SCARAMUZZI, R. J. et al. A review of the effects of supplementary nutrition in the
626 ewe on the concentrations of reproductive and metabolic hormones and the
627 mechanisms that regulate folliculogenesis and ovulation rate. **Reproduction**
628 **Nutrition Development**, v. 46, n. 4, p. 339–354, 2006. DOI: 10.1051/rnd:2006016.
629
- 630 SCHLAFER, D. H.; FOSTER, R. A. **Female Genital System**. Sixth Edit ed.: Elsevier
631 Inc., 2016. v. 3 DOI: 10.1016/B978-0-7020-5319-1.00015-3. Disponível em:
632 <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-7020-5319-1.00015-3>.
633
- 634 SILVA, F. M. B. et al. Estratégias para antecipação da puberdade em novilhas *Bos*
635 *taurus indicus* pré-púberes. **Pubvet**, v. 12, n. 12, p. 1–13, 2018. DOI:
636 10.31533/pubvet.v12n12a225.1-13.
637
- 638 SMITH, J. T.; CLARKE, L. J. Seasonal breeding as a neuroendocrine model for
639 puberty in sheep. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 324, n. 1–2, p. 102–
640 109, 2010. DOI: 10.1016/j.mce.2010.03.007. Disponível em:
641 <http://dx.doi.org/10.1016/j.mce.2010.03.007>.
642
- 643 SOSA, C. et al. Effect of undernutrition on uterine progesterone and oestrogen
644 receptors and on endocrine profiles during the ovine oestrous cycle. **Reproduction,**
645 **Fertility and Development**, v. 18, p. 447–458, 2006.
646
- 647 SOSA, C. et al. Undernutrition reduces the oviductal mRNA expression of
648 progesterone and oestrogen receptors in sheep. **Veterinary Journal**, v. 175, n. 3, p.
649 413–415, 2008. DOI: 10.1016/j.tvjl.2007.01.018.
650
- 651 SOSA, C. et al. Effect of plane of nutrition on endometrial sex steroid receptor
652 expression in ewes. **Animal Reproduction Science**, v. 84, n. 3–4, p. 337–348,
653 2004. DOI: 10.1016/j.anireprosci.2003.12.011.
654
- 655 STOCCO, C.; TELLERIA, C.; GIBORI, G. The molecular control of corpus luteum
656 formation, function, and regression. **Endocrine Reviews**, v. 28, n. 1, p. 117–149,
657 2007. DOI: 10.1210/er.2006-0022.
658
- 659 TSIPLAKOU, E. et al. Effect of under- and overfeeding on sheep and goat milk and
660 plasma enzymes activities related to oxidation. **Journal of Animal Physiology and**
661 **Animal Nutrition**, v. 102, n. 1, p. e288–e298, 2018. DOI: 10.1111/jpn.12741.
662
- 663 SZLIS, M.; WÓJCIK-GŁADYSZ, A.; PRZYBYŁ, B. J. Central obestatin administration
664 affect the LH and FSH secretory activity in peripubertal sheep. **Theriogenology**, v.
665 145, p. 10–17, 2020. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2020.01.032.
666
- 667 VARELA, L.; HORVATH, T. L. Leptin and insulin pathways in POMC and AgRP
668 neurons that modulate energy balance and glucose homeostasis. **EMBO Reports**, v.
669 13, n. 12, p. 1079–1086, 2012. DOI: 10.1038/embor.2012.174. Disponível em:
670 <http://dx.doi.org/10.1038/embor.2012.174>.
671

672 VIÑALES, C. et al. The use of a “first-wave” model to study the effect of nutrition on
673 ovarian follicular dynamics and ovulation rate in the sheep. **Reproduction**, v. 140, n.
674 6, p. 865–874, 2010. DOI: 10.1530/REP-10-0196.

675
676 YOKUS, B.; ÇAKIR, D. U.; KANAY, Z.; GULTEN, T.; UYSAL, E. Effects of seasonal
677 and physiological variations on the serum chemistry, vitamins and thyroid hormone
678 concentrations in sheep. **Journal of Veterinary Medicine Series A: Physiology
679 Pathology Clinical Medicine**, v. 53, n. 6, p. 271–276, 2006. DOI: 10.1111/j.1439-
680 0442.2006.00831.x.

681

682

683

684

685

686

687

688

689

690

691

692

693

694

695

696

697

1 **2 ARTIGO CIENTÍFICO NAS NORMAS DA REVISTA THERIOGENOLOGY**

2
3 **O manejo nutricional nos meses que antecedem a puberdade influencia a biologia re-**
4 **produtiva estrutural e funcional de borregas?**

5
6
7 Gabriela Azenha Milani Soriano^a, Marilice Zundt^a, Thainá Sallum Bacco Manssur^a, Lilian
8 Francisco Arantes de Souza^b, Leonardo de Oliveira Mendes^a, Ines Cristina Giometti^a, Claudia
9 Maria Bertan Membrive^c, Caliê Castilho^{a*}

10
11 ^a Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente (UNOESTE), SP, Brasil

12 ^b Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Recife, PE, Brasil

13 ^c Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológi-
14 cas, Dracena

15
16
17 * Autor correspondente: Rodovia Raposo Tavares, Km 572 - Bairro Limoeiro

18 Presidente Prudente, SP- Brasil- CEP:19067-175. Tel.: +55 18 32292077; Fax: +55 18
19 3229-2080.

20 E-mail: calie@unoeste.br (C. Castilho)

21

22

23

24

RESUMO

25

26 Este estudo objetivou avaliar se o nível nutricional fornecido para borregas na peripuberdade
27 tem influência sobre as concentrações circulantes (plasma e soro) de colesterol, triglicerídeos,
28 ureia, progesterona, pesos e dimensões de ovários e útero, população de folículos antrais, nú-
29 mero e qualidade de oócitos, dimensão fractal e porcentagem de colágeno do CL. Foram utili-
30 zadas 25 borregas (7/8 Dorper), com 15 a 25 Kg, 6 e 7 meses de idade, distribuídas de forma
31 inteiramente casualizada para compor os grupos: Controle (G-C, 100-110% da exigência de
32 consumo do NRC, n=8), Subalimentado (G-Sub, 70-80% da exigência de consumo do NRC,
33 n=8) e Superalimentado (G-Super, 140% da exigência de consumo do NRC, n=9). Ao atingir
34 o peso corporal de 32 a 35 Kg, ou seja, 6 a 8 meses após o início do tratamento nutricional, as
35 borregas tiveram as ovulações sincronizadas por protocolo hormonal com CIDR®. Oito dias
36 após a retirada do CIDR®, as borregas foram abatidas e o aparelho reprodutor foi removido
37 para pesagem, morfometria e processamento das amostras para posterior análise da dimensão
38 fractal do CL pelo método de *box-counting* e análise do percentual da área do colágeno em
39 lâminas de secções histológicas de CLs corados com *Picrosirius Red*. Os dados foram anali-
40 sados com o programa SAS, considerando o nível de significância de 5% ($p=0,05$). As borre-
41 gas do G-Super apresentaram maior peso final ($p=0,0002$) e ganho de peso ($p=0,0006$) que as
42 do G-C e G-Sub, mas o número de anéis cervicais ($p<0,05$) e o peso do útero ($p=0,01$) foram
43 maiores no G-Sub. As concentrações de colesterol, triglicerídeos e ureia oscilaram ($p<0,05$)
44 no G-C, G-Super e G-Sub durante o manejo nutricional. As análises de dimensão fractal nos
45 CLs demonstraram que no G-Sub houve aumento estrutural ($p=0,0013$) comparado ao G-C e
46 G-Super, no entanto sem alteração na distribuição ou dimensão fractal do colágeno. Concluí-
47 mos que a subalimentação nos meses que antecedem a puberdade causou diferenças anatômi-
48 cas e estruturais, como aumento do peso do útero, do número de anéis cervicais e da dimensão
49 fractal de CLs, além de modulações nas concentrações de metabólitos sanguíneos.

50 **Palavras-chave:** Puberdade; Dimensão Fractal; Corpo lúteo; Colágeno; Matriz Extracelular;
51 Ovinos.

52

53 **1 INTRODUÇÃO**

54

55 O conhecimento sobre o impacto da nutrição na reprodução de ovinos é primordial
56 para avaliar as alterações nas características reprodutivas da espécie [1]. A relação entre o
57 desempenho funcional do sistema reprodutivo e a síntese de energia pelo organismo estão
58 associados, especialmente em fêmeas, cujos processos reprodutivos exigem aumento do me-
59 tabolismo energético [2], isto é, o fornecimento de uma nutrição adequada contribui com o
60 aumento na taxa de ganho de peso, aumento do escore de condição corporal e, consequente-
61 mente, na antecipação da puberdade [3,4].

62 A puberdade é um processo fisiológico que requer a maturação do sistema neuroendó-
63 crino reprodutivo e a nutrição é um dos fatores principais que controlam o momento da pu-
64 berdade [5]. Um manejo alimentar adequado reflete no desempenho produtivo e reprodutivo
65 de ovinos [6].

66 A nutrição pode impactar a funcionalidade do corpo lúteo (CL), como demonstrado
67 em ovelhas superalimentadas (200% da exigência de consumo do NRC) não prenhes, que
68 apresentaram aumento na concentração sérica de progesterona (P4), na vascularização, na
69 expressão de fatores angiogênicos e na proliferação celular [7–9]. Por outro lado, o consumo
70 insuficiente de nutrientes pode afetar os processos reprodutivos em diferentes níveis, como a
71 inibição da foliculogênese, irregularidades no desenvolvimento do oócito e embrião, diminui-
72 ção da síntese e das concentrações circulantes de P4 inclusive no útero e interrupção do reco-
73 nhecimento materno da prenhez [10,11].

74 Desse modo, a identificação e quantificação de irregularidades morfológicas nos ór-
75 gãos reprodutivos e, especificamente, as alterações histofisiológicas nos CLs de borregas sob
76 deficiência nutricional no período que antecede a puberdade, nos possibilita avaliar as modifi-
77 cações ocorridas no processo de peripuberdade relacionadas ao estado nutricional do ani-
78 mal. Neste contexto, uma análise mais completa das estruturas celulares através da dimensão
79 fractal pode ser uma ferramenta fundamental para quantificação da desorganização celular e
80 tecidual, assim como no perfil de distribuição do colágeno em CLs [12,13].

81 Por essas razões, hipotetizamos que a subalimentação durante a peripuberdade de bor-
82 regas afeta alguns parâmetros, como ganho de peso diário, as concentrações circulantes de
83 colesterol, triglicerídeos, ureia, progesterona, além dos pesos e dimensões de ovários e útero,
84 população de folículos antrais, número e qualidade de oócitos, dimensão fractal e porcenta-
85 gem de colágeno do CL, comprometendo a estrutura e funcionalidade do sistema reprodutivo.
86 Assim, nosso estudo teve o objetivo de avaliar o impacto do sistema alimentar nos meses que
87 antecedem a puberdade sobre a biologia reprodutiva de borregas.

88

89 **2 MATERIAL E MÉTODOS**

90

91 **2.1 Manejo nutricional**

92

93 Este experimento foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais - CEUA (nú-
94 mero de protocolo: 4610), foi realizado no município de Presidente Prudente, São Paulo, Bra-
95 sil (latitude de 22° 07 norte e longitude 51 ° 23') e teve duração total de 8 meses (abril a no-
96 vembro).

97 Foram utilizadas 25 borregas (7/8 Dorper) sadias, $22,2 \pm 5,0$ Kg, com idades entre 6 e
98 7 meses, provenientes do mesmo rebanho de matrizes e nascidas de partos sincronizados após

99 Inseminação artificial em tempo fixo (IATF) com sêmen do mesmo reprodutor. Inicialmente
100 as borregas foram pesadas e a coleta de fezes para exame de OPG (contagem de ovos por
101 gramas de fezes) foi realizada, o qual foi repetida mensalmente. A seguir, as borregas foram
102 separadas de forma inteiramente casualizada em três grupos experimentais: Grupo controle
103 (G-C, 100-110% da exigência de consumo do NRC; n= 8), Grupo subalimentado (G-Sub, 70-
104 80% da exigência de consumo do NRC; n= 8) e Grupo superalimentado (G-Super, 140% da
105 exigência de consumo do NRC; n= 9), (Fig. 1).

106 Os animais do G-Sub foram mantidos a pasto (*Panicum maximum* cv. Tanzânia), com
107 acesso a água e sal mineral *ad libitum* [14]. O grupo controle (n=8) permaneceu a pasto (*Pa-*
108 *nicum maximum* cv. Tanzânia), porém recebeu 1,5% do peso vivo de ração comercial®
109 (FORT OVINOS 16, FORTSAL®) para ovinos contendo: proteína bruta mínima (160 g/kg);
110 NDT estimado (720 g/kg); extrato etéreo mínimo (33 g/kg); fibra bruta máxima (62 g/kg);
111 FDA máximo (70 g/kg); material mineral máximo (50 g/kg); cálcio máximo (18 g/kg); cálcio
112 mínimo (17 g/kg) e fósforo mínimo (8000 mg/kg). As borregas do G-C e G-Sub foram manti-
113 das em módulo de pastejo rotacionado [15], totalizando área 0,8 hectares, subdivididos em 4
114 piquetes de aproximadamente 2.000 m², onde permaneceram por 9 dias em cada piquete com
115 período de descanso do capim de 27 dias e área de pastagem de 22 m² por borrega.

116 As borregas do G-Super (n=9) permaneceram confinadas durante o período experi-
117 mental, recebendo dieta total na proporção volumoso/concentrado de 20:80, em cocho indivi-
118 dual, com acesso a água e sal mineral (quelatado) *ad libitum*. Foi oferecido como volumoso
119 feno de Tifton e o concentrado da ração comercial, contendo 16% de PB e 72% de NDT, vi-
120 sando ganho de peso diário de 200 g/dia [16]. As borregas receberam 4% do peso vivo da
121 dieta total (feno + ração) [17,18]. As borregas do G-C e G-Super foram alimentadas duas ve-
122 zes ao dia, às oito horas da manhã e quatro horas da tarde, durante o experimento, sendo pe-
123 sadas a cada 15 dias para o ajuste da dieta em função do peso vivo. Um animal do grupo con-

124 trole morreu durante o experimento por verminose causada pelo parasita *Haemon-*
125 *chus contortus*.

126

127 **2.2 Análise bromatológica**

128

129 Foi realizada a análise bromatológica da pastagem (Tabela 2) a cada 21 dias para avalia-
130 ção do valor nutricional e determinação dos teores de matéria seca, matéria mineral e proteína
131 bruta, segundo as metodologias descritas por Silva e Queiroz (2002) [19]. Os teores de fibra
132 em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) foram obtidos pelo método de
133 Van Soest [20].

134

135 **2.3 Sincronização do ciclo estral**

136

137 As borregas foram sincronizadas ao atingir o peso corporal médio de 35 kg, o peso de
138 encarneamento para a raça independente do padrão genético para a precocidade. As borregas
139 do G-Sub que não atingiram o peso de encarneamento até 8 meses após início dos experi-
140 mentos foram abatidas com o peso médio de $37,5 \pm 3,4$ kg em razão da alteração da estação do
141 ano, sendo todos os abates realizados no verão. A sincronização foi realizada pela inserção de
142 um dispositivo vaginal de liberação de 1,9 g de progesterona (Easy-Breed CIDR®, Pfizer,
143 Brasil) por 12 dias. No dia da retirada do implante, foram administrados por via intramuscu-
144 lar, 0,075 mg de cloprostenol (Veteglan®, HertapeCalier, Brasil) e 300 UI de gonadotrofina
145 coriônica equina (eCG, Novormon®, MSD Saúde Animal, Brasil). Após a remoção do CIDR,
146 foi introduzido um rufião no piquete (1/1) e permaneceu durante 72 horas para marcação e
147 detecção do cio [21] (Fig. 1).

148

149

150 2.4 Abate

151

152 Os abates das borregas foram realizados sempre 8 dias após a retirada do CIDR, ou se-
 153 ja, aproximadamente seis dias após a provável ovulação [22], conforme metodologia proposta
 154 por Gomide (2006) , induzindo a insensibilidade instantânea e a seguir foi realizada a sangria,
 155 pela secção das veias jugulares e as artérias carótidas [23].

156 Foram realizados 4 abates num intervalo de 70 dias. O primeiro abate ocorreu 61 dias
 157 após a divisão dos grupos de acordo com o manejo nutricional, sendo abatidas 6 borregas (1
 158 do G-C, 1 do G-Sub e 4 do G-Super) pesando em média $45,11 \pm 2,77$ kg de peso vivo. O se-
 159 gundo abate foi realizado 10 dias após o primeiro, sendo abatidas 6 borregas (2 do G-C e 4 do
 160 G-Super) com peso vivo médio de $47,60 \pm 2,11$ kg. Após 18 dias do segundo abate, foi reali-
 161 zado o terceiro abate com 03 borregas do G-C e 01 borrega do G-Sub e G-Super pesando em
 162 média $38,61 \pm 2,53$ kg de peso vivo. O quarto abate ocorreu após 42 dias do terceiro abate,
 163 com 02 borrega do G-C e 06 borregas do G-Sub pesando em média $35,24 \pm 0,17$ kg (Fig. 2).

164

165

166

167

168

169

170

171

172

173

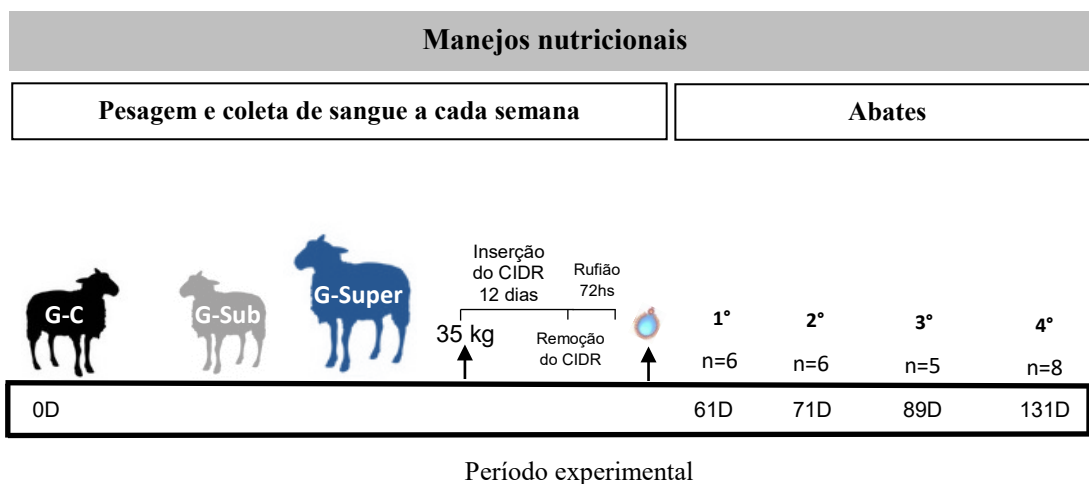


Figura 1. Desenho experimental do estudo: após alcançar o peso médio de 35 kg durante os manejos nutricionais, as borregas foram submetidas ao protocolo de IATF e posteriormente foram abatidas.

174

175 Figura 2. Número de borregas de cada grupo por abate (1º - 4º abates) realizados após o período (D) de manejo
176 nutricional.

177

178 **2.5 Dosagem do perfil bioquímico e progesterona plasmática**

179

180 Após a pesagem das borregas, o sangue para as dosagens bioquímicas foi coletado em
181 média a cada 7 dias durante o manejo nutricional, totalizando 9 coletas. As coletas foram rea-
182 lizadas no período matutino, antes do fornecimento do concentrado, através da venopunção
183 jugular em tubos de ensaio Vacutainer (Becton Dickinson, USA) isentos de anticoagulante
184 (EDTA). Foram quantificados nas amostras de soro os níveis de colesterol total pelo método
185 enzimático do CHODPAP (Kovalent®), triglicerídeos pelo método enzimático do GPO-PAP
186 (Kovalent®) e a ureia pelo método enzimático da urease-GLDH (Kovalent®) [24]. Para as
187 dosagens plasmáticas de progesterona, foram coletadas amostras de sangue no momento do
188 abate através da venopunção jugular em tubos de ensaio Vacutainer (Becton Dickinson, USA)
189 com EDTA. As amostras de sangue foram mantidas em gelo por um período máximo de 2
190 horas e posteriormente foram centrifugadas a 2500 X g por 15 minutos para obtenção do
191 plasma. Foi utilizado o Kit de radioimunoensaio em fase sólida (Coat-a-count® - Diagnostic

192 Products Corporation, Los Angeles, CA, USA) e um contador gama Vitek, modelo Kineti
193 Count 48. Os resultados obtidos através da contagem foram transformados em unidades de
194 medida característica do respectivo hormônio, com base nas amostras padrões por intermédio
195 de um programa computacional em Gwbasic.

196

197 **2.6 Morfometria do sistema reprodutor**

198

199 Após o abate, o aparelho reprodutor foi localizado e isolado para o processamento das
200 amostras. Os ovários e corpos lúteos foram medidos com paquímetro e pesados em balanças
201 de alta precisão, uma vez que a presença de CL e sua localização foi considerada como um
202 indicativo da ocorrência de ovulação. A seguir todos os folículos antrais na superfície foram
203 contados e aspirados, os complexos *cumulus* oócitos (COC) foram contados e classificados
204 como: Grau I, mais de três camadas de células do *cumulus* compactas; Grau II, pelo menos
205 uma camada de células do *cumulus*; Grau III, desnudo; e Grau IV, atrésico, com células *cu-*
206 *mulus* escuras e sinais de degeneração citoplasmática [25]. O útero foi pesado e medido o
207 comprimento, largura e diâmetro do corno, ipsilateral e contralateral, assim como as medidas
208 e quantidades de anéis da cervix, ambos foram medidos com auxílio de um fio de náilon e
209 uma régua calibrada [26,27].

210

211 **2.7 Análise da dimensão fractal**

212

213 Para auxiliar na avaliação e quantificação das alterações teciduais dos CLs, foi utiliza-
214 do a análise de dimensão fractal por ser um método útil de detecção de mudanças morfológi-
215 cas e executa medidas quantitativas funcionais [12]. A partir disso, os CLs das 25 borregas
216 foram fixados em solução metacarn por 2 horas e após, foram lavados e mantidos em etanol

217 70%. Em seguida, os tecidos foram desidratados em etanol graduado e incluídos em paraplast
218 (Oxford, LabWare, USA). Foram realizados cortes seriados de 5 μm de espessura em micró-
219 tomo rotativo e os fragmentos dos CLs foram analisados histologicamente pela coloração he-
220 matoxilina e eosina (HE) e foram fotografados (10 campos histológicos/secção, aumento de
221 40X). A dimensão fractal foi estimada pelo método de box-counting, que considerou a análise
222 em duas dimensões, permitindo a quantificação da distribuição de pixels. A análise de dimen-
223 são fractal se baseou na relação entre a resolução e a escala avaliada para definir um resultado
224 quantitativo através do gráfico log-log de $N(r)$ em função de $1/r$, considerando o ajuste por
225 regressão linear entre 0 e 2 para não distinguir diferentes texturas de imagens, uma binarizada
226 e outra em níveis de cinza através da utilização do software Image J (Instituto Nacional de
227 Saúde, Estados Unidos – NIH) [12].

228

229 **2.8 Análise da distribuição de colágeno**

230

231 As secções histológicas (5 μm) dos CLs das 25 borregas foram coradas com *Picrosi-*
232 *rius Red* (PSR) para análise do volume relativo de colágeno. A captura de imagens das lâmi-
233 nas foi realizada através do fotomicroscópio Zeiss Axiophot 2 (Zeiss Jenaval, Jena, Alema-
234 nha), sendo fotografados 10 campos histológicos/secção em aumento de 40X. Para a análise
235 da distribuição de colágeno foi utilizado o programa Image J, seguindo as instruções do sof-
236 tware, após aplicação de filtro nas imagens dos cortes histológicos dos CLs [12]. O processo
237 de quantificação do colágeno está exemplificado na Figura 10.

238

239

240

241

242 2.9 Análise estatística

243

244 Os dados foram submetidos a análise de normalidade pelo teste de Cramer von Mises e a
245 análise de homogeneidade de variância por meio do teste de Levene a 5% de significância
246 ($p < 0,05$).

247 ANOVA seguido do Teste de Tukey foram utilizados para análise de morfometria do
248 sistema reprodutivo, ganho de peso, dosagem do perfil bioquímico, concentração de progesterona e área do colágeno. Para os dados não paramétricos, número de anéis cervicais, número
249 de oócitos, dimensão fractal dos CLs e dimensão fractal do colágeno, utilizou-se o teste de
250 Kruskal Wallis seguido do teste Student Newman Keuls. As análises foram realizadas no programa SAS (Statistical Analysis System, Cary, North Carolina, 1999) e os valores demonstrados em média e desvio padrão, considerando 5% ($p < 0,05$) como nível de significância.

254

255 3. Resultados

256

257 O manejo nutricional na peripuberdade influenciou no peso das borregas. O G-Super
258 apresentou maior peso final ($p = 0,0002$) e ganho de peso ($p = 0,0006$) entre os períodos de abril a agosto e abril a setembro comparado ao G-C e G-Sub. Não houve diferença ($p > 0,05$) no
259 ganho de peso das borregas dos 3 grupos no início do experimento (Tabela 1).

261

262 Tabela 1. Dados do ganho de peso de borregas durante o período experimental ($n = 8$ /grupo). Os dados apresentados em valores médios e respectivos desvios padrão (\pm), seguidos por letras maiúsculas distintas e em negrito nas colunas em cada variável, diferem entre si pelo teste ANOVA seguido do Teste Tukey ($p < 0,05$). O asterisco dos gráficos representa diferença entre os grupos ($p < 0,05$).

266

267

268

Grupos	Abril/Maio	Abril/Junho	Abril/Julho	Abril/Agosto	Abril/Setembro
G-C	3,81±1,19	5,29±1,66	6,37±1,85	6,29±2,76^B	10,23±3,67^B
G-Sub	4,78±1,34	6,35±1,59	7,00±1,48	4,64±2,52^B	5,54±2,29^C
G-Super	4,54±1,07	7,14±1,55	8,69±2,25	11,50±2,46^A	17,40±2,47^A

269

270 O manejo nutricional das borregas G-Super, influenciou na elevação da concentração
 271 de colesterol no dia 09 (Agosto) em comparação ao G-C e G-Sub. No dia 38 (setembro), o
 272 colesterol diminuiu no G-Super em comparação ao G-C. O G-Sub apresentou aumento de
 273 colesterol no dia 59 (setembro) comparado as borregas do G-C e G-Super (Fig. 3).

274 No dia 0, 14 (julho, agosto) e 66 (outubro), as concentrações de triglicerídeos se eleva-
 275 ram no G-C em comparação ao G-Sub e G-Super. Os valores de triglicerídeos foram maiores
 276 no G-Sub no dia 45 (setembro) e 52 (setembro) em comparação ao G-Super (Fig. 3).

277 O G-C e G-Super apresentaram aumento das concentrações de ureia nos dias 0 (julho),
 278 10 (agosto), 38, 45 (setembro) e 66 (outubro) em comparação as borregas do G-Sub. No dia
 279 10 (agosto) e 59 (setembro), ocorreu um aumento de ureia no G-Super e diminuiu no G-C e
 280 G-Sub. No dia 52 (setembro), as concentrações de ureia se elevaram no G-C em comparação
 281 as concentrações do G-Super e G-Sub que diminuíram (Fig. 3).

282

283

284

285

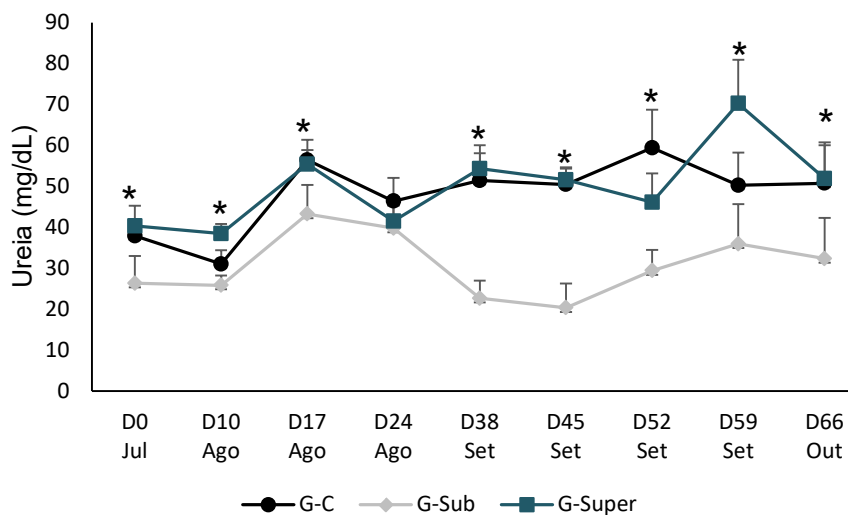
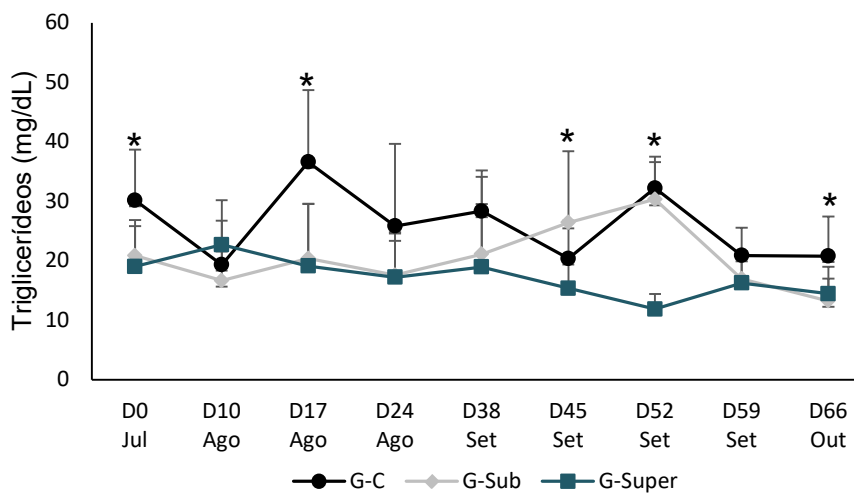
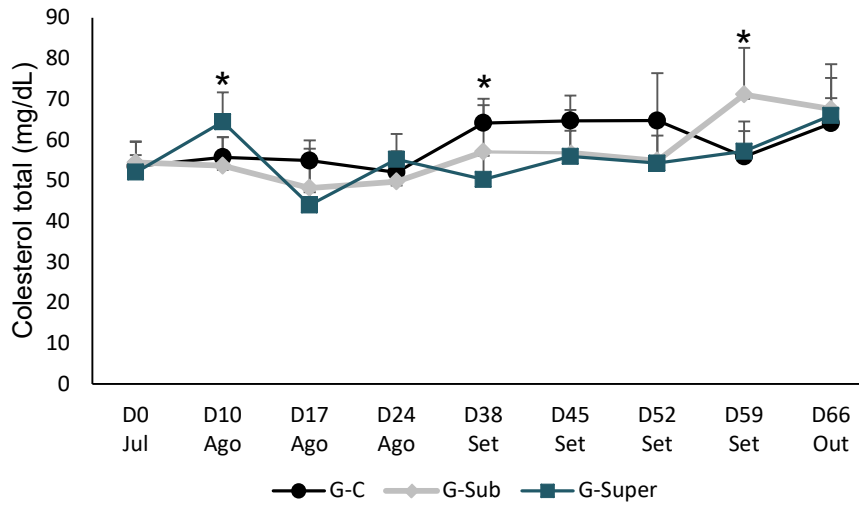
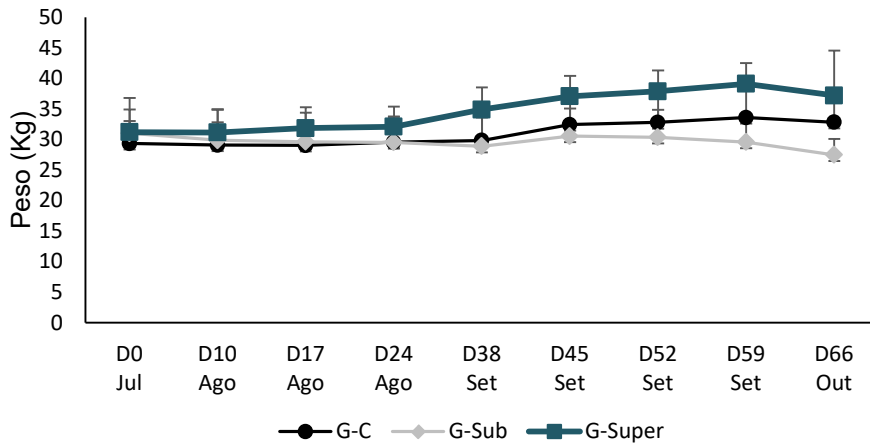
286

287

288

289

290



320 Figura 3. Dados de peso corporal, concentrações de colesterol total, triglicerídeos e ureia (mg/dL) durante o
 321 período experimental (n=8/grupo). Os dados estão apresentados em valores médios e respectivos desvios padrão
 322 pelo teste ANOVA seguido do Teste Tukey ($p<0,05$). O asterisco dos gráficos representa diferença entre os
 323 grupos ($p<0,05$).

324

325 O número de anéis cervicais foi maior ($p<0,05$) nas borregas do G-Sub e menor nas
 326 do G-Super em comparação ao G-C. O peso do útero foi maior ($p=0,01$) nas boregas do G-
 327 Sub em comparação ao G-C e G-Super. O peso do ovário direito ($p=0,23$) e esquerdo
 328 ($p=0,36$), do CL direito ($p=0,73$) e esquerdo ($p=0,87$) e o número de folículos antrais ($p>0,05$)
 329 não diferiu entre os grupos, assim como os diferentes manejos nutricionais na peripuberdade
 330 não afetaram ($p=0,3039$) as concentrações plasmáticas de P4 (ng/mL), de aproximadamente 6
 331 dias, da ovulação induzida pelo protocolo hormonal (Fig. 4 e tabela 2).

332

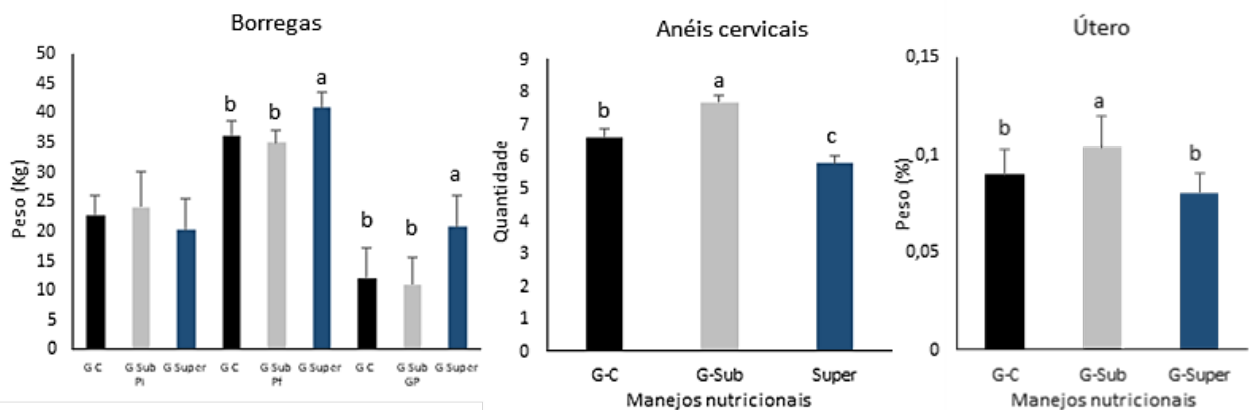
333

334

335

336

337



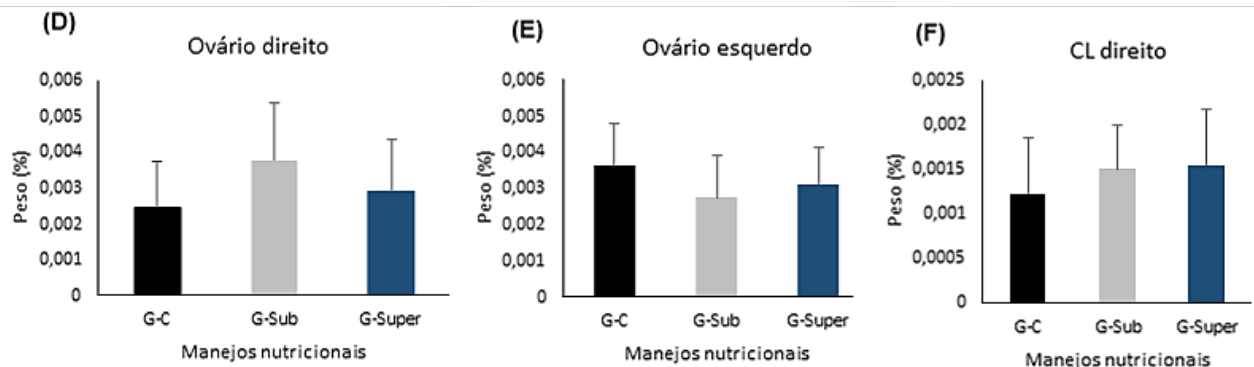
338

339

340

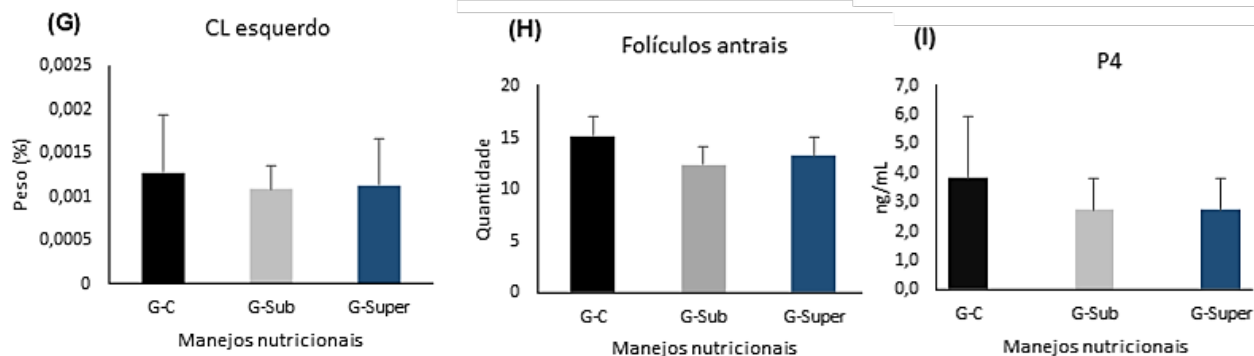
341

342



343

344



345 Figura 4. Mensurações de peso corporal e do sistema reprodutor de borregas submetidas a diferentes manejos
 346 nutricionais na peripuberdade (n=6/grupo): (A) Pesos do animal: (Pi) Peso inicial, (Pf) Peso final e (GP) Ganho
 347 de peso, (B) Anéis cervicais, (C) Útero, (D-E) Ovário direito e esquerdo, (F-G) Corpos lúteos direito e esquerdo,
 348 (H) foliculos antrais (I) concentração de P4 (ng/mL) obtida 8 dias após a retirada do CIDR. Os dados foram
 349 apresentados em média \pm desvio padrão. Os grupos com letras minúsculas distintas, diferem entre si ($p < 0,05$).

350

351 Tabela 2. Análise do número de oócitos de borregas submetidas a diferentes manejos nutricionais pelo teste de
 352 Kruskal Wallis seguido do teste Student Newman Keuls.

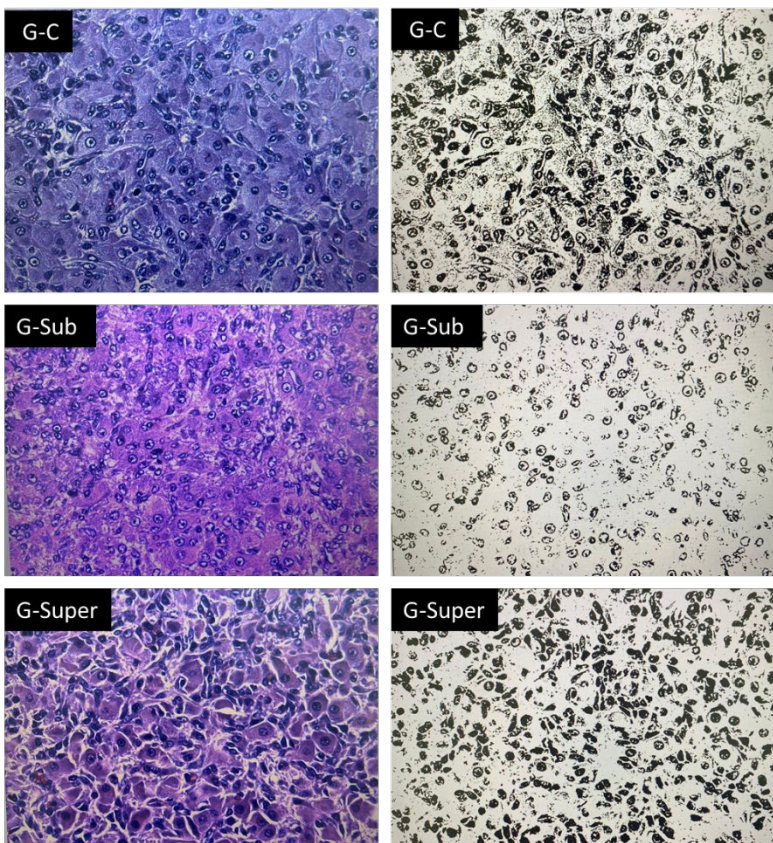
Grupos	Grau I	Grau II	Grau III	Grau IV	Grau V	Total de oócitos
G-C (n=8)	7	10	52	6	2	77
G-Sub (n=7)	2	4	28	1	3	38
G-Super (n=9)	6	13	47	3	4	73
Valor de p ($p < 0,05$)	0,78	0,54	0,62	0,46	0,47	0,19

353

354 A dimensão fractal aumentou ($p=0,0013$) nos CLs das borregas do G-Sub em compa-
 355 ração ao G-C e G-Super (Fig. 5).

356

(A)



357

358

359

360

361

362

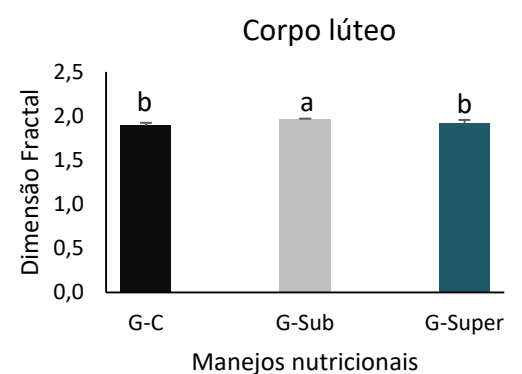
363

364

365

366

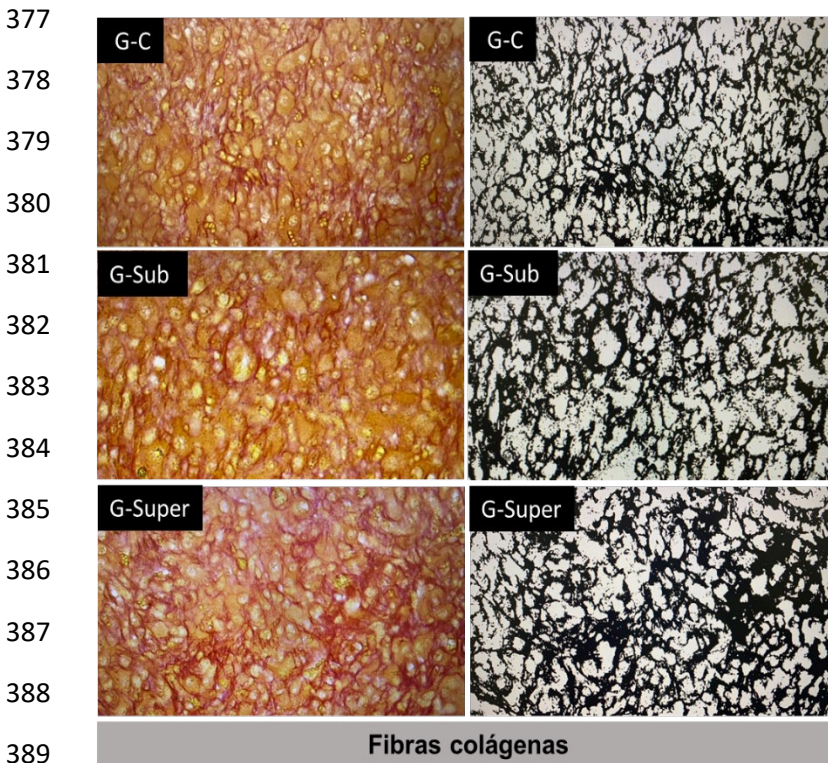
(B)



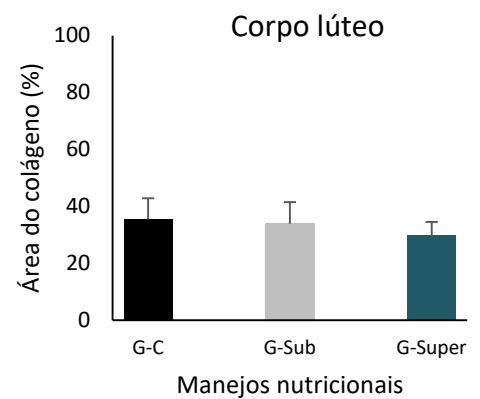
367 Figura 5. Dimensão fractal de CLs de borregas na peripuberdade submetidas diferentes manejos nutricionais,
 368 n=6/grupo. (A) Secção histológica (5 µm) de CLs de borregas do G-C, G-Sub e G-Super após análise da dimesão
 369 fractal: imagem original da coloração HE aumentada 40 × e imagem original binarizada com o *software* Image J.
 370 (B) Análise da dimensão fractal das secções histológicas dos corpos lúteos mostrados quantitativamente entre 0 e
 371 2. Os dados são apresentados como média ± desvios padrão: letras diferentes indicam diferença significativa
 372 (p<0,05).

373 O percentual de área do colágeno e a dimensão fractal do colágeno no CL, não apre-
 374 sentaram influência dos diferentes níveis de nutrição fornecidos na peripuberdade das borre-
 375 gas (Fig. 6 e Fig. 7).

376 (A)



(B)



390 Figura 6. Percentual da área do colágeno de CLs de borregas na peripuberdade submetidas diferentes manejos
 391 nutricionais, n=6/grupo. (A) Secção histológica (5 µm) de CLs dos grupos G-C, G-Sub e G-Super após análise
 392 da área de colágeno: imagem original da coloração PSR aumentada 40 X e imagem original observada com luz
 393 polarizada do componente preto obtida após a separação de cores com o *software* Image J usando o *plug-in*
 394 *Threshold Colour* (o colágeno é evidenciado na cor preto/cinza escuro). (B) Análise quantitativa das secções
 395 histológicas dos corpos lúteos de borregas após medição da área do colágeno (colágeno total).

396

397

398

399

400

401

402

403

404

405

406

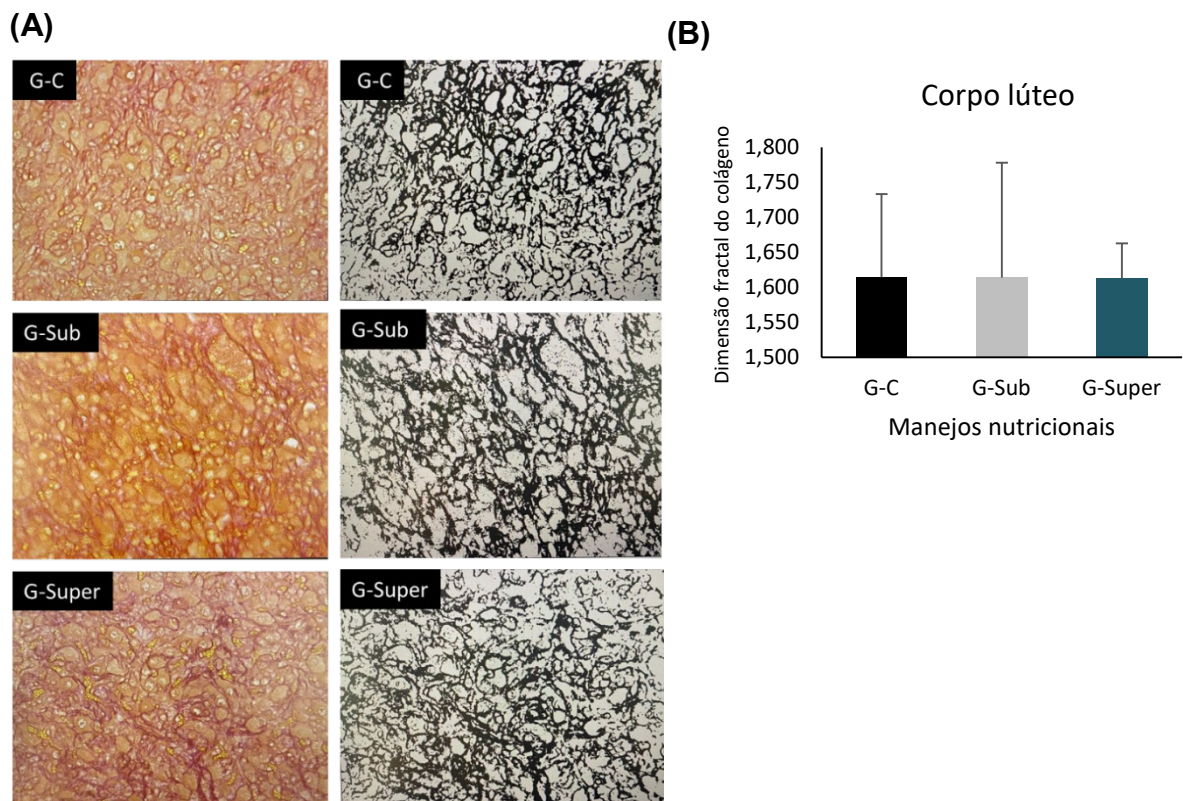
407

408

409

410

411



412

413

414

415

416

417

418

419

420

421

422

423

424

425

425

Figura 7. Dimensão fractal do colágeno de CLs de borregas submetidas a diferentes manejos nutricionais, n=6/grupo. (A) Secção histológica (5 µm) de CLs dos grupos G-C, G-Sub e G-Super após análise da dimensão fractal do colágeno: imagem original da coloração PSR aumentada 40 × e imagem original observada com luz polarizada do componente preto obtida após a separação de cores com o *software* Image J usando o *plug-in* *Threshold Colour* (o colágeno é evidenciado na cor preto/cinza escuro). (B) Análise quantitativa das secções histológicas dos corpos lúteos de borregas sob diferentes manejos nutricionais após dimensão fractal do colágeno.

A qualidade da pastagem foi estimada pela análise bromatológica e os parâmetros avaliados estão apresentados na tabela 3.

426

427 Tabela 3. Composição químico-bromatológica da *Panicum maximum* cv. Tanzânia coletada a cada 21 dias. Da-

Coletas	MS (%)	EE (%)	MM (%)	PB (%)	NDT (%)	FDN (%)	FDA (%)	Hemicelulose (%)
1	22,03	2,13	10,88	8,68	57,01	74,97	40,94	34,03
2	24,01	0,99	11,29	6,42	53,74	75,96	45,14	30,82
3	32,64	0,86	11,99	3,85	48,97	76,50	51,26	25,25
4	37,24	1,17	10,28	8,60	51,43	75,69	48,11	27,58
5	45,63	1,00	9,62	6,06	44,68	80,67	56,77	23,90
6	49,78	1,65	9,83	8,09	49,96	80,01	50,00	30,01
7	47,85	1,34	7,79	7,47	48,26	80,96	52,17	28,78
8	28,22	1,08	9,60	8,97	46,25	83,28	54,76	31,60
9	20,07	2,09	12,24	11,92	49,29	77,36	50,85	26,51
10	27,05	1,31	11,31	10,30	53,01	80,73	46,07	34,66

428 dos apresentados em valores médios.

429

430

431 MS=Matéria Seca, EE=Extrato Etéreo, MM=Matéria Mineral, PB=Proteína Bruta, NDT= Nutrientes Digestivos
432 Totais, FDN= Fibra de Detergente Neutra, FDA= Fibra de Detergente Ácida.

433

434

435 **4. Discussão**

436 Embora a subalimentação na peripuberdade atrase para adquirir o peso de encarna-
437 mento e afete a estrutura do CL como hipotetizamos inicialmente, não houve efeito negativo
438 na morfometria do sistema reprodutor, ao contrário, nas borregas subalimentação houve au-
439 mento no número de anéis cervicais e no peso do útero. Este parece ser o primeiro estudo que
440 utilizou o método de dimensão fractal e evidenciou que a subalimentação na peripuberdade
441 aumenta a dimensão fractal de CLs de ovelhas.

442 O manejo nutricional na peripuberdade influenciou o peso final e ganho de peso, sendo
443 evidenciado maiores valores no grupo superalimentado. Houve alterações nas concentrações
444 de colesterol, no entanto as concentrações de triglicerídeos foram menores nas ovelhas suba-

445 limentadas e superalimentadas em comparação aos animais controle. O manejo nutricional
446 afetou as concentrações de ureia, verificando maiores valores em ovelhas superalimentadas.

447 Os nossos achados sobre o aumento do número de anéis cervicais e peso do útero em
448 ovelhas subalimentadas na peripuberdade, indicam que fatores extrínsecos causados pela des-
449 nutrição gerem efeitos intrínsecos na anatomia cervical, ou seja, no número, diâmetro interno
450 e distribuição dos anéis cervicais [28]. Assim como evidenciado em ovelhas com histórico de
451 alta condição corporal, as quais se tornaram desnutridas, os animais apresentaram aumento na
452 expressão do receptor de GH (GHR) e uma tendência a proteína 5 de ligação ao fator de cres-
453 cimento semelhante à insulina (IGFBP5), visto que são candidatos a mediar as alterações nu-
454 tricionais na função uterina, sugerindo um mecanismo compensatório contra fatores ambien-
455 tais adversos em animais que tenham maior reserva corporal [29].

456 As ovelhas tratadas em regime de subalimentação mostraram um aumento nas concen-
457 trações séricas de colesterol, como demonstrado em ovelhas mestiças em um estudo que ava-
458 liou a desnutrição pré e pós-acasalamento [30]. A subalimentação pode provocar alterações de
459 curto prazo no metabolismo energético (maior colesterol), de forma que a mobilização do
460 tecido adiposo como resposta imediata ao déficit nutricional gere mudanças nas concentrações
461 séricas do colesterol [31].

462 Durante o manejo nutricional, as concentrações séricas de triglicerídeos foram afetadas
463 pela subalimentação e superalimentação, visto que diminuíram em comparação ao controle,
464 isto indica que as condições metabólicas podem refletir diretamente em mudanças nas con-
465 centrações de metabólitos no sangue, como triglicerídeos, colesterol e ureia [30,32]. Além
466 disso, a diminuição de triglicerídeos nesses grupos, sugere que o estado nutricional do animal
467 subalimentado e superalimentado, depende de menos recursos lipídicos para o armazenamento
468 de energia do que ovelhas em dieta adequada [33].

469 As concentrações de ureia não foram afetadas pela subalimentação, assim como foi ava-
470 liado em um estudo com ovelhas subnutridas [30], apenas foi evidenciado o aumento nas con-
471 concentrações de ureia nos grupos controle e superalimentados, assim como maior ganho de peso
472 e peso final nos animais superalimentados. Os dados corroboram outro estudo de ovinos, onde
473 os níveis plasmáticos de ureia foram positivamente relacionados ao aumento da suplementa-
474 ção de proteína [34], ainda que as concentrações de ureia no sangue sofram alterações transi-
475 tórias.

476 As concentrações de P4, do CL induzido, não apresentaram diferença em função do ma-
477 nejo nutricional. Em outro estudo que avaliou a progesterona sérica em ovelhas sob diferentes
478 manejos nutricionais, o grupo com alta ingestão nutricional apresentou menor concentração
479 de progesterona comparado ao grupo de ovelhas que tiveram baixo consumo de nutrientes
480 [35]. Da mesma forma, o nosso resultado mostra que o manejo nutricional não afetou as con-
481 concentrações de P4, assim como não foi capaz de influenciar no peso dos corpos lúteos e no
482 número de folículos antrais e isto sugere que quando o suprimento de nutrientes é limitado ou
483 quando a demanda por ração é alta, as borregas utilizam suas reservas corporais na tentativa
484 de atender às suas necessidades e não acarretar efeitos negativos à reprodução [36].

485 No grupo subalimentado houve aumento na dimensão fractal do CL, isto sugere um efei-
486 to compensatório, que promoveu mudanças morfológicas e possivelmente funcionais [12]. As
487 análises de geometria fractal são realizadas por um método matemático usado para medir a
488 complexidade em fenômenos naturais [37], isto é, identifica mudanças estruturais através da
489 dimensão fractal, o que permite a quantificação e caracterização de estruturas irregulares em
490 tecidos [38–41]. Os dados apresentados mostram que este método foi adequado para avaliar
491 as mudanças estruturais ocorridas nos CLs de ovelhas subalimentadas, assim como para ou-
492 tros estudos, como na avaliação das alterações teciduais ocorridas durante desenvolvimento
493 luteínico de vacas [12], na identificação da redução de vascularização na região uteroplacentá-

494 ria em ovelhas com toxemia da prenhez subclínica [42], na distinção de células cancerígenas
495 cervicais humanas [43] e de tumores ovarianos [44].

496 Em bovinos, a análise de dimensão fractal mostrou que remodelação da MEC (matriz
497 extra celular) durante o desenvolvimento ovariano fetal, está relacionada com as alterações na
498 quantidade e distribuição das fibras de colágeno [45]. O conteúdo e a distribuição do colágeno
499 são modificados no ovário por alterações na MEC, em vista dos eventos de remodelação do
500 tecido que ocorrem na transição do folículo para um corpo lúteo e durante a regressão do cor-
501 po lúteo [46].

502 Entretanto, não foi observado no presente estudo modificações na área do colágeno dos
503 CLs obtidos das borregas submetidas aos diferentes manejos nutricionais na peripuberdade.
504 Adicionalmente, nosso estudo indica que o efeito da subalimentação e superalimentação não
505 foi capaz de influenciar na distribuição do colágeno e que as análises histomorfométricas não
506 se correlacionam as análises de dimensão fractal nos corpos lúteos [47].

507 Com base nos dados obtidos, os nossos resultados indicam que a dimensão fractal foi
508 um método eficaz para detectar sutis alterações estruturais em CLs de ovelhas Dorper subali-
509 mentadas, uma vez que não evidenciamos quaisquer modificações no peso dos ovários nos
510 grupos analisados. Além disso, as alterações dos metabólitos sanguíneos analisados durante o
511 manejo nutricional, indicam que a avaliação do *status* nutricional de rebanhos pode ser efeti-
512 vada pela determinação do perfil sérico de alguns constituintes sanguíneos [48], pois o nível
513 nutricional pode afetar a programação e expressão de vias metabólicas que capacitam os ovi-
514 nos a alcançarem seu potencial para produção e reprodução [49].

515 Para o produtor de ovinos, o desempenho da ovelha a pasto não é constante ao longo
516 do ano, o que justifica a busca de manejos nutricionais que sejam capazes de minimizar os
517 efeitos adversos da seca e que possibilitem maior eficiência no sistema de produção [50].
518 Contudo, o conhecimento dos efeitos provocados por manejos nutricionais de longo prazo em

519 ovinos criados em condições de produção é significativo para caracterizar as consequências
520 das modificações na dieta e sua interferência na reprodução, pois a influência da subalimenta-
521 ção na peripuberdade sobre o sistema reprodutivo de ovelhas, evidenciou um mecanismo
522 compensatório de manutenção das características reprodutivas nessa espécie e por isso os
523 efeitos a longo prazo precisam ser avaliados de acordo com a epigenética.

524

525 **5. Conclusão**

526 Nós concluímos que os diferentes manejos nutricionais nos meses que antecedem a puber-
527 dade, impactam a biologia reprodutiva e modificam a estrutura de tecidos reprodutivos.

528 A subalimentação na peripuberdade de borregas promove um mecanismo anatomofisioló-
529 gico compensatório no sistema reprodutivo, pelo aumento do útero e do número de anéis cer-
530 vicais, entretanto causa um aumento dos metabólicos sanguíneos, colesterol e triglicerídeos; e
531 diminuí a ureia.

532 Embora os diferentes manejos nutricionais nos meses que antecedem a puberdade não afe-
533 tam a morfometria do CL, a subalimentação modificou estruturalmente o CL pelo aumento da
534 dimensão fractal e é provável que essas alterações venham a impactar a reprodução de borre-
535 gas.

536

537 **Agradecimentos**

538 O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal
539 de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

540

541 **Conflito de interesses**

542 Nenhum dos autores tem conflito de interesses a declarar.

543

544 **Referências**

545

546 [1] Rekik, M, Lassoued, N, Salem, H. B, Mahouachi M. Interactions between nutrition and
547 reproduction in sheep and goats with particular reference to the use of alternative feed
548 sources. *Adv Nutr Feed Strateg to Improv Sheep Goat Options Mediterr*
549 *2007;383:375–83.*

550 [2] Szlis M, Wójcik-Gładysz A, Przybył BJ. Central obestatin administration affect the LH
551 and FSH secretory activity in peripubertal sheep. *Theriogenology* 2020;145:10–7.
552 <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.01.032>.

553 [3] Dantas A, Siqueira ER, Fernandes S, Oba E, Castilho AM, Meirelles PRL, et al.
554 Influence of feeding differentiation on the age at onset of puberty in Brazilian
555 Bergamasca dairy ewe lambs. *Arq Bras Med Vet e Zootec* 2016;68:22–8.
556 <https://doi.org/10.1590/1678-4162-8278>.

557 [4] Nieto CAR, Ferguson MB, Macleay CA, Briegel JR, Martin GB, Thompson AN.
558 Selection for superior growth advances the onset of puberty and increases reproductive
559 performance in ewe lambs. *Animal* 2013;7:990–7.
560 <https://doi.org/10.1017/S1751731113000074>.

561 [5] Cardoso RC, Alves BRC, Williams GL. Neuroendocrine signaling pathways and the
562 nutritional control of puberty in heifers. *Anim Reprod* 2018;15:868–78.
563 <https://doi.org/10.21451/1984-3143-AR2018-0013>.

564 [6] Khalifa EI, Ahmed ME, Hafez YH, El-Zolaky OA, Bahera KM, Abido AA. Age at
565 puberty and fertility of Rahmani sheep fed on biological inoculated corn silage. *Ann*
566 *Agric Sci* 2013;58:163–72. <https://doi.org/10.1016/j.aos.2013.07.003>.

567 [7] Diskin MG, Mackey DR, Roche JF, Sreenan JM. Effects of nutrition and metabolic
568 status on circulating hormones and ovarian follicle development in cattle. *Anim Reprod*
569 *Sci* 2003;78:345–70. [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(03\)00099-X](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(03)00099-X).

- 570 [8] Kaminski SL, Redmer DA, Bass CS, Keisler DH, Carlson LS, Vonnahme KA, et al.
571 The effects of diet and arginine treatment on serum metabolites and selected hormones
572 during the estrous cycle in sheep. *Theriogenology* 2015;83:808–16.
573 <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2014.11.017>.
- 574 [9] Bass CS, Redmer DA, Kaminski SL, Grazul-Bilska AT. Luteal function during the
575 estrous cycle in arginine-treated ewes fed different planes of nutrition. *Reproduction*
576 2017;153:253–65. <https://doi.org/10.1530/REP-16-0526>.
- 577 [10] Meikle A, Brun V de, Carriquiry M, Soca P, Sosa C, Adrien M de L, et al. Influences
578 of nutrition and metabolism on reproduction of the female ruminant. *Anim Reprod*
579 2018;15:899–911. <https://doi.org/10.21451/1984-3143-AR2018-0017>.
- 580 [11] Sosa C, Gonzalez-Bulnes A, Abecia JA, Forcada F, Meikle A. Short-term
581 undernutrition affects final development of ovulatory follicles in sheep synchronized
582 for ovulation. *Reprod Domest Anim* 2010;45:1033–8. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2009.01483.x>.
- 584 [12] Fávero PF, Vieira de Lima VA, Helena dos Santos P, Marques Andrade AP, Mendes
585 LO, Pacagnelli FL, et al. Differential fractal dimension is associated with extracellular
586 matrix remodeling in developing bovine corpus luteum. *Biochem Biophys Res*
587 *Commun* 2019;516:888–93. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2019.06.002>.
- 588 [13] Oliveira BM de, Moschini GA de L, Dias R de JD, Tenorio PR, Pacagnelli FL, Freitas
589 CEA de. Evaluation by fractal dimension of muscle regeneration after
590 photobiomodulation. *Fisioter Em Mov* 2020;33:1–8. <https://doi.org/10.1590/1980-5918.033.ao39>.
- 592 [14] Bianchini D, Carriel JM, Fontoura F, Rodrigues FDEC, Iz P. Viabilidade de doze
593 capins tropicais para criação de ovinos. *Bol Indústria Anim* 1999;56:163–77.
- 594 [15] Hegarty RS, Shands C, Marchant R, Hopkins DL, Ball AJ, Harden S. Effects of

- 595 available nutrition and sire breeding values for growth and muscling on the
596 development of crossbred lambs. 1: Growth and carcass characteristics. *Aust J Agric*
597 *Res* 2006;57:593–603. <https://doi.org/10.1071/AR04275>.
- 598 [16] NRC. National research council. 2007. <https://doi.org/https://doi.org/10.17226/11654>.
- 599 [17] Rogério MCP, Borges I, Neiva JNM, Rodriguez NM, Pimentel JCM, Martins GA, et
600 al. Nutritive value of pineapple by-product (*Ananas comosus* L.) in diets for sheep. 1.
601 Intake, apparent digestibility, energetic and nitrogenous balance. *Arq Bras Med Vet e*
602 *Zootec* 2007;59:773–81. <https://doi.org/10.1590/s0102-09352007000300032>.
- 603 [18] Parente HN, Machado TMM, Carvalho FC, Garcia R, Rogério MCP, Barros NNN, et
604 al. Desempenho produtivo de ovinos em confinamento alimentados com diferentes
605 dietas. *Arq Bras Med Vet e Zootec* 2009;61:460–6. [https://doi.org/10.1590/S0102-](https://doi.org/10.1590/S0102-09352009000200025)
606 [09352009000200025](https://doi.org/10.1590/S0102-09352009000200025).
- 607 [19] Silva DJ, Queiroz AC. *Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos*. Viçosa:
608 UFV, 2002.
- 609 [20] Souza GB de, Nogueira AR de A, Sumi LM, Batista LAR. Método alternativo para a
610 determinação de fibra em detergente neutro e detergente ácido. 1999.
- 611 [21] Silva RO da, de Oliveira RPM, Silva AF, de Oliveira FF, Rufino JPF, da Silva MLM.
612 Effect of different protocols for estrus synchronization on reproductive performance of
613 santa inês ewes under amazon environmental conditions. *Acta Sci - Anim Sci*
614 2020;43:1–7. <https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v43i1.48954>.
- 615 [22] Soriano GAM, de Ruediger FR, Zundt M, Gomes MA da CN, de Souza LFA, Giometti
616 IC, et al. Characterization of the LH peak after short and long fixed-time artificial
617 insemination protocols in sheep raised in the tropics. *Anim Sci J* 2018;89:1245–52.
618 <https://doi.org/10.1111/asj.13051>.
- 619 [23] Gomide LAM. *Tecnologia de abate e tipificação de carcaças*. UFV, 2006.

- 620 [24] Souza DF de , Monteiro ALG, Dittrich RL, Dos Santos Schmidt EM, Fernandes SR,
621 Beltrame OC. Dinâmica pré e pós-colostral de parâmetros bioquímicos em cordeiros.
622 Cienc Anim Bras 2014;15:313–21. <https://doi.org/10.1590/1809-6891v15i324807>.
- 623 [25] Ward FA, Lonergan P, Enright BP, Boland MP. Factors affecting recovery and quality
624 of oocytes for bovine embryo production in vitro using ovum pick-up technology
625 2000;54:433–46.
- 626 [26] Ferra J de C, Cieslak S, Filho RS, McManus C, Martins CF, Sereno JRB. Peso e idade
627 à puberdade e suas correlações com medidas morfométricas em cordeiras mestiças
628 Suffolk. Rev Bras Zootec 2010;39:134–41. [https://doi.org/10.1590/S1516-](https://doi.org/10.1590/S1516-35982010000100018)
629 35982010000100018.
- 630 [27] Cruz Júnior CA, McManus C, Jivago JLPR, Bernardi M, Lucci CM. Anatomical and
631 histological characterization of the cervix in Santa Inês hair ewes. Anim Reprod
632 2014;11:49–55.
- 633 [28] Fonseca JF da, Zambrini FN, Guimarães JD, Silva MR, Oliveira MEF, Brandão FZ, et
634 al. Combined treatment with oestradiol benzoate, d-cloprostenol and oxytocin permits
635 cervical dilation and nonsurgical embryo recovery in ewes. Reprod Domest Anim
636 2019;54:118–25. <https://doi.org/10.1111/rda.13318>.
- 637 [29] Fernández-Foren A, Sosa C, Abecia JA, Vázquez MI, Forcada F, Meikle A. Dietary
638 restriction in sheep: Uterine functionality in ewes with different body reserves during
639 early gestation. Theriogenology 2019;135:189–97.
640 <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.06.023>.
- 641 [30] Macías-Cruz U, Vicente-Pérez R, Correa-Calderón A, Mellado M, Meza-Herrera CA,
642 Avendaño-Reyes L. Undernutrition pre- and post-mating affects serum levels of
643 glucose, cholesterol and progesterone, but not the reproductive efficiency of crossbred
644 hair ewes synchronized for estrus. Livest Sci 2017;205:64–9.

- 645 <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2017.09.016>.
- 646 [31] Rumball CWH, Harding JE, Oliver MH, Bloomfield FH. Effects of twin pregnancy and
647 periconceptional undernutrition on maternal metabolism, fetal growth and glucose-
648 insulin axis function in ovine pregnancy. *J Physiol* 2008;586:1399–411.
649 <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2007.144071>.
- 650 [32] Sejian V, Bahadur S, Naqvi SMK. Effect of nutritional restriction on growth,
651 adaptation physiology and estrous responses in Malpura ewes. *Anim Biol*
652 2014;64:189–205. <https://doi.org/10.1163/15707563-00002438>.
- 653 [33] Pesántez-Pacheco JL, Heras-Molina A, Torres-Rovira L, Sanz-Fernández MV, García-
654 Contreras C, Vázquez-Gómez M, et al. Influence of maternal factors (Weight, body
655 condition, parity, and pregnancy rank) on plasma metabolites of dairy ewes and their
656 lambs. *Animals* 2019;9:1–19. <https://doi.org/10.3390/ani9040122>.
- 657 [34] Rodrigues M, Silva LM, da Silva CMG, Araújo AA, Nunes-Pinheiro DCS, Rondina D.
658 Reproductive and metabolic responses in ewes to dietary protein supplement during
659 mating period in dry season of Northeast Brazil. *Cienc Anim Bras* 2015;16:24–36.
660 <https://doi.org/10.1590/1089-6891v16i124613>.
- 661 [35] O’Callaghan D, Yaakub H, Hyttel P, Spicer L, Boland M. Effect of nutrition and
662 superovulation on oocyte morphology, follicular fluid composition and systemic
663 hormone concentrations in ewes. *Reproduction* 2004:303–13.
664 <https://doi.org/10.1530/reprod/118.2.303>.
- 665 [36] Kenyon PR, Maloney SK, Blache D. Review of sheep body condition score in relation
666 to production characteristics. *New Zeal J Agric Res* 2014;57:38–64.
667 <https://doi.org/10.1080/00288233.2013.857698>.
- 668 [37] Mandelbrot BB. *Fractals and the geometry of nature*. 1982.
- 669 [38] Arruda PFF de, Gatti M, Junior, Fernando Nestor FacioArruda JGF de, Moreira RD,

- 670 Murta LO, Arruda LF de, et al. Quantification of fractal dimension and Shannon's
671 entropy in histological diagnosis of prostate cancer. *BMC Clin Pathol* 2013;13.
672 <https://doi.org/10.1186/1472-6890-13-6>.
- 673 [39] Cross SS. Fractals in pathology. *J Pathol* 1997;182:1–8.
674 [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9896\(199705\)182:1<1::AID-PATH808>3.0.CO;2-](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9896(199705)182:1<1::AID-PATH808>3.0.CO;2-B)
675 B.
- 676 [40] Huynh HN, Pradana A, Chew LY. The complexity of sequences generated by the arc-
677 fractal system. *PLoS One* 2015;10:1–21. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0117365>.
- 678 [41] Oliveira MAB de, Brandi AC, Santos CA dos, Botelho PHH, Cortez JLL, de Godoy
679 MF, et al. Comparação da dimensão fractal e entropia de shannon em miócitos de ratos
680 submetidos à cardioplegia utilizando solução histidina-triptofano-cetogluturato e
681 histidina-triptofano com glutamato. *Brazilian J Cardiovasc Surg* 2014;29:156–62.
682 <https://doi.org/10.5935/1678-9741.20140052>.
- 683 [42] Kasimanickam RK. Subclinical pregnancy toxemia-induced gene expression changes
684 in ovine placenta and uterus. *Front Vet Sci* 2016;3:1–10.
685 <https://doi.org/10.3389/fvets.2016.00069>.
- 686 [43] Hernández Velázquez J de D, Mejía-Rosales S, Gama Goicochea A. Fractal properties
687 of biophysical models of pericellular brushes can be used to differentiate between
688 cancerous and normal cervical epithelial cells. *Colloids Surfaces B Biointerfaces*
689 2018;170:572–7. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2018.06.059>.
- 690 [44] Kikuchi A, Kozuma S, Sakamaki K, Saito M, Marumo G, Yasugi T, et al. Fractal
691 tumor growth of ovarian cancer: Sonographic evaluation. *Gynecol Oncol* 2002;87:295–
692 302. <https://doi.org/10.1006/gyno.2002.6842>.
- 693 [45] Franchi FF, Hernandes MP, Coelho Ferreira AL, Vieira de Lima VA, de Oliveira
694 Mendes L, Musa de Aquino A, et al. Fractal analysis and histomolecular phenotyping

- 695 provides insights into extracellular matrix remodeling in the developing bovine fetal
696 ovary. *Biochem Biophys Res Commun* 2020;523:823–8.
697 <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2020.01.025>.
- 698 [46] Irving-Rodgers HF, Roger J, Luck MR, Rodgers RJ. Extracellular matrix of the corpus
699 luteum. *Semin Reprod Med* 2006;24:242–50. <https://doi.org/10.1055/s-2006-948553>.
- 700 [47] de Molon RS, de Paula WN, Spin-Neto R, Verzola MHA, Tosoni GM, Comelli Lia
701 RC, et al. Correlation of fractal dimension with histomorphometry in maxillary sinus
702 lifting using autogenous bone graft. *Braz Dent J* 2015;26:11–8.
703 <https://doi.org/10.1590/0103-6440201300290>.
- 704 [48] Peixoto L, Osório M. Perfil metabólico protéico e energético na avaliação do
705 desempenho reprodutivo em ruminantes. *Rev Bras Agrociencia* 2007;13:299–304.
706 <https://doi.org/10.18539/cast.v13i3.1376>.
- 707 [49] Khanal P, Nielsen MO. Impacts of prenatal nutrition on animal production and
708 performance: A focus on growth and metabolic and endocrine function in sheep. *J*
709 *Anim Sci Biotechnol* 2017;8:1–14. <https://doi.org/10.1186/s40104-017-0205-1>.
- 710 [50] Fernandes LS, Difante GDS, Costa MG, Emerenciano Neto JV, Medeiros de Araújo
711 IM, Dantas JLS, et al. Pasture structure and sheep performance supplemented on
712 different tropical grasses in the dry season. *Rev Mex Ciencias Pecu* 2020;11:89–101.
713 <https://doi.org/10.22319/rmcp.v11i1.5083>.

714

715

716

717

718

719

ANEXO A - PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA E PESQUISA

UNOESTE - Universidade do Oeste Paulista

PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

PPG - Programa de Pesquisa de Pós-Graduação
PEIC - Programa Especial de Iniciação Científica

Parecer Final

Declaramos para os devidos fins que o Projeto de Pesquisa intitulado "EFEITO DA SUBNUTRIÇÃO NA BIOQUÍMICA SÉRICA DE OVELHAS PRÉ-PÚBERES", cadastrado na Coordenadoria de Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação (CPDI) sob o número nº 4393 e tendo como participante(s) GABRIELA AZENHA MILANI SORIANO (discente), MYLENA MACHADO GUABERTO (discente), MARILICE ZUNDT ASTOLPHI (docente), CALIE CASTILHO SILVESTRE (orientador responsável), foi avaliado e APR. COM RECOMENDAÇÃO pelo COMITÊ ASSESSOR DE PESQUISA INSTITUCIONAL (CAPI) e COMISSÃO DE ÉTICA USO DE ANIMAIS (CEUA) da Universidade do Oeste Paulista - UNOESTE de Presidente Prudente/SP.

Este Projeto de Pesquisa, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de Outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de Julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), tendo sido APR. COM RECOMENDAÇÃO em reunião realizada em 16/05/2018.

Vigência do projeto: 04/2018 a 01/2019.

ANIMAL VIVO

Espécie/Linhagem	Nº de Animais	Peso	Idade	Sexo	Origem
ovinos	20	20 quilos	90 dias	F	Centro Zootécnico

Presidente Prudente, 18 de Maio de 2018.

Prof. Dr. Jair Rodrigues Garcia Jr.
Coordenador Científico da CPDI

Prof. Ms. Adriana Falco de Brito
Coordenadora da CEUA - UNOESTE

Coordenadoria de Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação – CPDI – 18 3229-2079 – cpdi@unoeste.br
Comitê de Ética em Pesquisa – CEP – 18 3229-2079 – cep@unoeste.br
Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA – 183229-2079 – ceua@unoeste.br

valide este documento em www.unoeste.br/sgp informando o código de segurança 335a7f22b169a71317b5d8980b1b2c47

UNOESTE - Universidade do Oeste Paulista

PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

PEIC - Programa Especial de Iniciação Científica

Parecer Final

Declaramos para os devidos fins que o Projeto de Pesquisa intitulado "EFEITO DE DIFERENTES SISTEMAS DE PRODUÇÃO SOBRE A MORFOLOGIA DO CORPO LÚTEO FUNCIONAL DE OVELHAS", cadastrado na Coordenadoria de Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação (CPDI) sob o número nº 5952 e tendo como participante(s) GABRIELA AZENHA MILANI SORIANO (discente), RACHEL MELLO DA SILVA (discente), SUELEN APARECIDA FELICIO (discente), CALIE CASTILHO SILVESTRE (orientador responsável), foi avaliado e APROVADO pelo COMITÊ ASSESSOR DE PESQUISA INSTITUCIONAL (CAPI) e COMISSÃO DE ÉTICA USO DE ANIMAIS (CEUA) da Universidade do Oeste Paulista - UNOESTE de Presidente Prudente/SP.

Este Projeto de Pesquisa, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de Outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de Julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), tendo sido APROVADO em reunião realizada em 12/02/2020.

MATERIAL ARMAZENADO/DOADO

Protocolo(s)	Data Aprovação	Armazenado (local)	É doação	Detalhes armazenamento
4610	16/05/2018	UNOESTE	NÃO	as amostras de CLestão emblocados em parafina e os plasmas sanguíneos estão congelados a -20oC.
4610	16/05/2018	UNOESTE	NÃO	as amostras de CLestão emblocados em parafina e os plasmas sanguíneos estão congelados a -20oC.
4610	16/05/2018	UNOESTE	NÃO	as amostras de CLestão emblocados em parafina e os plasmas sanguíneos estão congelados a -20oC.
4610	16/05/2018	UNOESTE	NÃO	as amostras de CLestão emblocados em parafina e os plasmas sanguíneos estão congelados a -20oC.

Presidente Prudente, 13 de Fevereiro de 2020.

Prof. Dr. Jair Rodrigues Garcia Jr.
Coordenador Científico da CPDI

Prof. Ms. Adriana Falco de Brito
Coordenadora da CEUA - UNOESTE

Coordenadoria de Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação – CPDI – 18 3229-2079 – cpdi@unoeste.br
Comitê de Ética em Pesquisa – CEP – 18 3229-2079 – cep@unoeste.br
Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA – 183229-2079 – ceua@unoeste.br

valide este documento em www.unoeste.br/sgp informando o código de segurança **adf2e8c907d8922cb5596a245f06acd2**

ANEXO B – NORMAS DA REVISTA



THERIOGENOLOGY

An International Journal of Animal Reproduction

AUTHOR INFORMATION PACK

TABLE OF CONTENTS

• Description	p.1
• Audience	p.1
• Impact Factor	p.1
• Abstracting and Indexing	p.1
• Editorial Board	p.2
• Guide for Authors	p.3



ISSN: 0093-691X

DESCRIPTION

Theriogenology provides an international forum for researchers, clinicians, and industry professionals in **animal reproductive biology**. This acclaimed journal publishes articles on a wide range of topics in **reproductive and developmental biology**, of domestic mammal, avian, and aquatic species as well as wild species which are the object of veterinary care in research or conservation programs.

AUDIENCE

Individuals involved in animal reproduction biology.

IMPACT FACTOR

2019: 2.094 © Clarivate Analytics Journal Citation Reports 2020

ABSTRACTING AND INDEXING

Focus on: Veterinary Science and Medicine
 AGRICOLA
 CAB International
 Global Health (Index Veterinarius, Veterinary Bulletin)
 PubMed/Medline
 BIOSIS Citation Index
 Chemical Abstracts
 Current Contents - Agriculture, Biology & Environmental Sciences
 Elsevier BIOBASE
 Science Citation Index
 Derwent Biotechnology Abstracts
 Scopus

EDITORIAL BOARD

Editor-in-Chief

F. Gandolfi, University of Milan, Department of Agricultural and Environmental Sciences - Production, Landscape, Agroenergy, Milano, Italy

Associate Editors

L. Brito, Madison, WI, United States

M-A. Driancourt, Astek, Boulogne Billancourt, France

Editorial Board

J. F. Asturiano, Polytechnic University of Valencia, Valencia, Spain

C. Aurich, University of Veterinary Medicine Vienna, Wien, Austria

M.R. Bakst, USDA-ARS Beltsville Agricultural Research Center, Beltsville, Maryland, United States of America

I. Barrier Battut, National Professional School of Haras, Exmes, France

A. Blitek, Institute of Animal Reproduction and Food Research of the Polish Academy of Sciences, Department of Hormonal Action Mechanisms, Olsztyn, Poland

R. Boni, University of Basilicata, Potenza, Italy

S. Chastant, National Veterinary School Toulouse, Toulouse, France

P. Comizzoli, Smithsonian's National Zoo & Conservation Biology Institute, Washington, District of Columbia, United States of America

R.A. Dailey, West Virginia University, Morgantown, West Virginia, United States of America

S. Eghbalsaied, Islamic Azad University Isfahan Branch, Department of Animal Science, Isfahan, Iran

F.C. Gwazdauskas, Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, Virginia, United States of America

S. Hochi, Shinshu University - Ueda Campus, Ueda, Japan

R. Kasimanickam, Washington State University, Pullman, Washington, United States of America

K. Kikuchi, National Institute of Agrobiological Sciences, Tsukuba, Japan

A. K. McNeel, Zoetis Genetics, Kalamazoo, Michigan, United States of America

A. Menchaca, Institute of Animal Reproduction of Uruguay, Montevideo, Uruguay

S. Nagy, Pannon University Department of Animal Sciences, Keszthely, Hungary

C.E. Pope, Audubon Nature Institute, New Orleans, Louisiana, United States of America

V. H. Rao, Sri Venkateswara Veterinary University, Tirupati, India

J. Roca, University of Murcia, Department of Medicine and Animal Surgery, Murcia, Spain

M. Sharafi, Tarbiat Modares University, Department of Animal Science, Tehran, Iran

A. Snider, University of Nebraska-Lincoln, Lincoln, Nebraska, United States of America

N. Songsasen, Smithsonian Conservation Biology Institute, Front Royal, United States of America

L. Spicer, Oklahoma State University, Department of Animal and Food Sciences, Stillwater, Oklahoma, United States of America

R. Ungerfeld, University of the Republic, Department of Veterinary Biosciences, Montevideo, Uruguay

B. K. Whitlock, The University of Tennessee Knoxville Institute of Agriculture, Knoxville, Tennessee, United States of America

M. Yeste, University of Girona, Girona, Spain

GUIDE FOR AUTHORS

Introduction

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:

It is recommended that the manuscript should be submitted in Word document

- 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](#).

BEFORE YOU BEGIN

Ethics in publishing

Please see our information pages on [Ethics in publishing](#) and [Ethical guidelines for journal publication](#).

Studies in humans and animals

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. The manuscript should be in line with the [Recommendations for the Conduct, Reporting, Editing and Publication of Scholarly Work in Medical Journals](#) and aim for the inclusion of representative human populations (sex, age and ethnicity) as per those recommendations. The terms [sex and gender](#) should be used correctly.

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. The sex of animals must be indicated, and where appropriate, the influence (or association) of sex on the results of the study.

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 competing interests 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 anonymized) or the manuscript file (if single anonymized). 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, a published lecture or academic thesis, see '[Multiple, redundant or concurrent publication](#)' 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](#).

Preprints

Please note that [preprints](#) can be shared anywhere at any time, in line with Elsevier's [sharing policy](#). Sharing your preprints e.g. on a preprint server will not count as prior publication (see '[Multiple, redundant or concurrent publication](#)' for more information).

Use of inclusive language

Inclusive language acknowledges diversity, conveys respect to all people, is sensitive to differences, and promotes equal opportunities. Content should make no assumptions about the beliefs or commitments of any reader; contain nothing which might imply that one individual is superior to another on the grounds of age, gender, race, ethnicity, culture, sexual orientation, disability or health condition; and use inclusive language throughout. Authors should ensure that writing is free from bias, stereotypes, slang, reference to dominant culture and/or cultural assumptions. We advise to seek gender neutrality by using plural nouns ("clinicians, patients/clients") as default/wherever possible to avoid using "he, she," or "he/she." We recommend avoiding the use of descriptors that refer to personal attributes such as age, gender, race, ethnicity, culture, sexual orientation, disability or health condition unless they are relevant and valid. These guidelines are meant as a point of reference to help identify appropriate language but are by no means exhaustive or definitive.

Author contributions

For transparency, we encourage authors to submit an author statement file outlining their individual contributions to the paper using the relevant CRediT roles: Conceptualization; Data curation; Formal analysis; Funding acquisition; Investigation; Methodology; Project administration; Resources; Software; Supervision; Validation; Visualization; Roles/Writing - original draft; Writing - review & editing. Authorship statements should be formatted with the names of authors first and CRediT role(s) following. [More details and an example](#)

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 gold open access articles: Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'License Agreement' ([more information](#)). Permitted third party reuse of gold 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.

Open access

Please visit our [Open Access page](#) for more information.

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 Author Services.

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 <https://www.editorialmanager.com/therio/default.aspx>.

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*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.

Highlights

Highlights are optional yet highly encouraged for this journal, as they increase the discoverability of your article via search engines. They consist of a short collection of bullet points that capture the novel results of your research as well as new methods that were used during the study (if any). Please have a look at the examples here: [example Highlights](#).

Highlights should be submitted in a separate editable 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).

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.
- Ensure that color images are accessible to all, including those with impaired color vision.

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](#). Using citation 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. If you use reference management software, please ensure that you remove all field codes before submitting the electronic manuscript. [More information on how to remove field codes from different reference management software](#).

Users of Mendeley Desktop can easily install the reference style for this journal by clicking the following 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. <https://doi.org/10.1016/j.Sc.2010.00372>.

Reference to a journal publication with an article number:

[2] Van der Geer J, Hanraads JAJ, Lupton RA. The art of writing a scientific article. *Heliyon*. 2018;19:e00205. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2018.e00205>

Reference to a book:

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

Reference to a chapter in an edited book:

[4] 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:

[5] 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] [6] 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: <http://www.nlm.nih.gov/tsd/serials/lji.html>; List of serial title word abbreviations: <http://www.issn.org/2-22661-LTWA-online.php>; CAS (Chemical Abstracts Service): <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.

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. During the submission process, after uploading your manuscript, you will have the opportunity to upload your relevant datasets directly to *Mendeley Data*. 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 in Brief

You have the option of converting any or all parts of your supplementary or additional raw data into a data article published in *Data in Brief*. A data article is a new kind of article that ensures that your data are actively reviewed, curated, formatted, indexed, given a DOI and made publicly available to all upon publication (watch this [video](#) describing the benefits of publishing your data in *Data in Brief*). You are encouraged to submit your data article for *Data in Brief* as an additional item directly alongside the revised version of your manuscript. If your research article is accepted, your data article will automatically be transferred over to *Data in Brief* where it will be editorially reviewed, published

open access and linked to your research article on ScienceDirect. Please note an [open access fee](#) is payable for publication in *Data in Brief*. Full details can be found on the [Data in Brief website](#). Please use [this template](#) to write your *Data in Brief* data article.

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):

theriochart.jpgchart

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
 µL - 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
 r^2 - 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.

AFTER ACCEPTANCE

Online proof correction

To ensure a fast publication process of the article, we kindly ask authors to provide us with their proof corrections within two days. 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 [Author Services](#). Corresponding authors who have published their article gold 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.

AUTHOR INQUIRIES

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](#).

© Copyright 2018 Elsevier | <https://www.elsevier.com>