



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E PRODUÇÃO ANIMAL NA  
AMAZÔNIA  
MESTRADO EM SAÚDE E PRODUÇÃO ANIMAL NA AMAZÔNIA**

**THYAGO HABNER DE SOUZA PEREIRA**

**AVALIAÇÃO ULTRASSONOGRÁFICA DO DESENVOLVIMENTO ÓSSEO FETAL  
DE CAITITU (*Pecari tajacu*, Artiodactyla, Tayassuidae)**

**BELÉM  
2019**

**THYAGO HABNER DE SOUZA PEREIRA**

**AVALIAÇÃO ULTRASSONOGRÁFICA DO DESENVOLVIMENTO ÓSSEO FETAL  
DE CAITITU (*Pecari tajacu*, Artiodactyla, Tayassuidae)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia, como requisito do Programa de Pós-graduação em Saúde e Produção Animal na Amazônia, área de concentração Relação saúde e meio ambiente na Amazônia, para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Frederico Ozanan Barros Monteiro.

Co-orientador: Prof. Dr. Pedro Ginés Mayor Aparicio.

**BELÉM  
2019**

**THYAGO HABNER DE SOUZA PEREIRA**

**AVALIAÇÃO ULTRASSONOGRÁFICA DO DESENVOLVIMENTO ÓSSEO FETAL  
DE CAITITU (*Pecari tajacu*, Artiodactyla, Tayassuidae)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia, como parte das exigências do curso de Mestrado em Saúde e Produção Animal na Amazônia: área de concentração relação saúde e meio ambiente na Amazônia, para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Frederico Ozanan Barros Monteiro

Co-orientador: Prof. Dr. Pedro Ginés Mayor Aparicio

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Frederico Ozanan Barros Monteiro - Orientador  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA - UFRA

---

Prof. Dr. Carlos López Plana – 1º Examinador  
UNIVERSIDADE AUTÔNOMA DE BARCELONA - UAB

---

Prof. Dr. Alexandre Rodrigues Silva - 2º Examinador  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO – UFERSA

---

Prof. Dr. Leandro Nassar Coutinho - 3º Examinador  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA - UFRA

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por ser tão misericordioso e bondoso, por toda graça concedida, e porque dele, por meio dele e para ele são todas as coisas;

Aos meus pais Esmael Galdino e Gilvanês Pereira, pelo seu imenso amor, por ter me ensinado a amar, respeitar e ter compaixão pelos animais, e por ser o maior exemplo de determinação e superação que eu tenho;

Aos meus orientadores, Frederico Ozanan (Fred) e Pedro Mayor, pelo compromisso na orientação, por ser um grande exemplo de docente, por todo apoio, incentivo e paciência;

Aos professores Carlos López (Universidade Autônoma de Barcelona), Leandro Nassar Coutinho (Universidade Federal Rural da Amazônia) e Alexandre Rodrigues Silva (Universidade Federal Rural do Semi-Árido) pela disponibilidade e contribuição no aprimoramento deste trabalho;

Aos meus amigos e companheiros de laboratório Gessiane Pereira (Gessy), Sandy Matos, Max Campos, Kalel Barros, Mayse Roane, Fernanda Pereira, Ana Paula de Lima, Jéssica Sábio, que me disponibilizaram bons momentos e auxiliaram em todos os momentos;

Ao Programa de Pós-Graduação de Saúde e Produção Animal e ao CNPq pela oportunidade e bolsa concedida;

Ao Rafael Andrade e Anaís Favero por iniciarem o trabalho e se disponibilizarem na execução deste projeto;

Aos caçadores de Boa Esperança – Peru, que ofereceram gratuitamente o material para o estudo;

Aos animais que foram utilizados e que contribuíram no avanço da compreensão da fisiologia reprodutiva e de desenvolvimento intrauterino da espécie.

## LISTA DE FIGURAS

**Fig. 1.** Avaliação do esqueleto axial de feto de caititu (*Pecari tajacu*). (A) Imagem ultrassonográfica do crânio, no plano de exame talâmico, mostrando a cisterna ambiente (ac) na seção posterior da cabeça. O diâmetro biparietal (BPD), obtido posicionando-se o feixe sonoro na superfície externa do osso parietal proximal até a porção interna distal, diâmetro occipitofrontal (OFD) obtido, perpendicularmente ao BPD. A circunferência da cabeça (HC) foi obtida no mesmo exame por um traçado ao redor da margem externa do contorno hiperecogênico na borda do crânio fetal; (B) Porção Cervical; (C) Toraco-lombar e (D) Sacral da coluna vertebral.

**Fig. 2.** Avaliação ultrassonográfica do membro torácico de feto de caititu (*Pecari tajacu*). Mensuração dos parâmetros da escápula (A); úmero (B); rádio (C); ulna (D); ossos do carpo (\*) e metacarpo (E); falanges (P - proximal, M - média e D - distal) (F). Porção ossificada/diáfise (linha contínua), comprimento total (linha pontilhada), largura ( ] ).

**Fig. 3.** Avaliação ultrassonográfica do membro pélvico de feto de caititu (*Pecari tajacu*). Mensuração dos ossos da pelve: (A) ílio; (B) ísquio; (C) pubis; (D) fêmur; (E) tíbia (t) e fíbula (f); (F) Ossos do tarso [calcânio (c) e talus (t)]; (G) Metatarso; (H) Falanges (P - proximal, M- média e D- distal). Porção ossificada/diáfise (linha contínua), comprimento total (linha pontilhada), largura ( ] ).

**Fig. 4.** Relação entre idade gestacional e comprimento total dorsal (TDL) e comprimento crânio-caudal (CRL) em 83 embriões/fetos de caititu (*Pecari tajacu*). A linha vermelha representa o padrão linear de crescimento esperado para CRL ( $y = 0.135x$ ) e TDL ( $y = 0.187x$ ) e a linha verde o modelo não-linear.

**Fig. 5.** Curvas de probabilidades para ossificação do esqueleto axial (A) e apendicular do membro torácico (B) e pélvico (C) em 53 embriões/fetos de caititu (*Pecari tajacu*).

**Fig. 6.** Relação entre o comprimento total dorsal (TDL) e as medidas do crânio em 53 embriões/fetos de caititu (*Pecari tajacu*). (A) Diâmetro biparietal; (B) Diâmetro occipitofrontal; (C) Circunferência craniana. A linha verde representa o modelo não linear que

melhor destaca o padrão de crescimento ósseo, enquanto a linha vermelha representa o padrão linear.

**Fig. 7.** Relação entre o comprimento total dorsal (TDL) e as medidas ósseas em 53 embriões/fetos de caititu (*Pecari tajacu*). (A) Comprimento total, (B) porção ossificada e (C) largura da escápula; (D) Comprimento total, (E) diáfise, (F) largura, (G) epífise proximal e (H) epífise distal do úmero; (I) Comprimento total, (J) diáfise, (K) largura, (L) epífise proximal, (M) epífise distal do rádio; (N) Comprimento total, (O) diáfise, (P) largura, (Q) epífise proximal e (R) epífise distal da ulna. A linha verde representa o modelo não linear que melhor destaca o padrão de crescimento ósseo, enquanto a linha vermelha representa o padrão linear,  $p < 0.01$ .

**Fig. 8.** Relação entre o comprimento total dorsal (TDL) e as medidas ósseas em 53 embriões/fetos de caititu (*Pecari tajacu*). (A) Comprimento total, (B) largura do metacarpo; (C) comprimento total, (D) largura da falange proximal; (E) Comprimento total, (F) largura da falange média, (G) Comprimento total, (H) largura da falange distal do membro torácico. A linha verde representa o modelo não linear que melhor destaca o padrão de crescimento ósseo, enquanto a linha vermelha representa o padrão linear,  $p < 0.01$ .

**Fig. 9.** Relação entre o comprimento total dorsal (TDL) e as medidas ósseas em 53 embriões/fetos de caititu (*Pecari tajacu*). (A) Comprimento total, (B) porção ossificada, (C) largura do ílio; (D) Comprimento total, (E) porção ossificada, (F) largura do ísquio; (G) Comprimento total, (H) largura do púbis. A linha verde representa o modelo não linear que melhor destaca o padrão de crescimento ósseo, enquanto a linha vermelha representa o padrão linear,  $p < 0.01$ .

**Fig. 10.** Relação entre o comprimento total dorsal (TDL) e as medidas ósseas em 53 embriões/fetos de caititu (*Pecari tajacu*). (A) Comprimento da diáfise femoral, (B) tibial e (C) fibular, (D) comprimento total do fêmur (E) e tíbia; (F) largura do fêmur (G) e tíbia, (H) epífise proximal do fêmur (I) e da tíbia, (J) epífise distal do fêmur e (K) da tíbia. A linha

verde representa o modelo não linear que melhor destaca o padrão de crescimento ósseo, enquanto a linha vermelha representa o padrão linear,  $p < 0.01$ .

**Fig. 11.** Relação entre o comprimento total dorsal (TDL) e as medidas ósseas em 53 embriões/fetos de caititu (*Pecari tajacu*). (**A**) Comprimento total, (**B**) largura do metatarso; (**C**) Comprimento total, (**D**) largura do calcâneo; (**E**) Comprimento total, (**F**) largura do tálus; (**G**) Comprimento total, (**H**) largura da falange proximal; (**I**) Comprimento total, (**J**) largura da falange média; (**K**) Comprimento total, (**L**) largura da falange distal do membro pélvico. A linha verde representa o modelo não linear que melhor destaca o padrão de crescimento ósseo, enquanto a linha vermelha representa o padrão linear,  $p < 0.01$ .

## SUMÁRIO

<b>1 CONTEXTUALIZAÇÃO .....</b>	<b>9</b>
<b>1.1 O Caititu (<i>Pecari tajacu</i>) .....</b>	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
<b>1.2 A ultrassonografia fetal .....</b>	<b>14</b>
<b>1.3 Desenvolvimento ósseo .....</b>	<b>16</b>
<b>1.4 OBJETIVOS.....</b>	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
1.4.1 Objetivo geral.....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
1.4.2 Objetivos específicos.....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
<b>1.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
<b>2. ARTIGO .....</b>	<b>28</b>
<b>RESUMO .....</b>	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
<b>1. Introdução .....</b>	<b>28</b>
<b>2. Material e Métodos .....</b>	<b>32</b>
<b>3. Resultados.....</b>	<b>36</b>
<b>4. Discussão.....</b>	<b>39</b>
<b>5. Referências .....</b>	<b>42</b>
<b>TABELAS .....</b>	<b>47</b>
<b>FIGURAS .....</b>	<b>10</b>
<b>ANEXO.....</b>	<b>22</b>



## 1 CONTEXTUALIZAÇÃO

A Floresta Amazônica se destaca por ser a maior floresta tropical do mundo e por apresentar grande diversidade de espécies e ecossistemas, além de participar na regulação do clima global e regional. No entanto, grande parte das áreas permanecem inexploradas, muitas espécies são desconhecidas e diversos estudos sobre a biologia, ecologia e sustentabilidade da fauna ainda são incipientes (BOUBLI & HRBEK, 2012). Por sua biodiversidade e potencial socioeconômico, a Amazônia constantemente é tema de discussões sobre conservação da fauna e flora e uso de recursos naturais, minimizando ações destrutivas e não sustentáveis (FRAZIER, 2017). Os principais fatores responsáveis pela degradação da floresta e ameaça para as espécies locais são o desmatamento, efeitos de borda, incêndios, fragmentação dos habitats e a exploração direta dos recursos naturais mediante a pesca, caça e corte de madeira (LAURANCE & PERES, 2006; BARLOW, 2016).

No Brasil, a prática de caça é proibida pela legislação, exceto por situações particulares. A caça de subsistência é uma delas, visto que a fauna nativa é uma fonte relevante da dieta proteica dos povos e comunidades tradicionais sendo intensivamente utilizada na alimentação (REDFORD, 1992). A outra é a caça controlada, como ferramenta para barrar espécies exóticas invasoras. Sendo assim, a lei de crimes ambientais brasileira (9.605/98), estabelece que a caça não é crime quando, praticada para saciar a fome, proteger lavouras e/ou rebanhos; ou quando o animal é considerado nocivo. Embora o ato de caça seja bastante praticado, ainda é pouco conhecida a extensão dos impactos negativos causados sobre a população de vertebrados (BODMER, 1996; PERES, 1996; ALVARD et al., 1997). Um efeito imediato da pressão de caça é a diminuição das populações de ungulados, dentre eles os tiaiçuídeos *Tayassu pecari* e *Pecari tajacu*, afetando sua abundância e biomassa, mesmo quando realizada exclusivamente para consumo (REDFORD, 1992; PERES, 2000).

É importante ressaltar que a qualidade do habitat, disponibilidade de alimento e densidade de sítios de reprodução podem ser mais limitantes ao crescimento das populações que a pressão de caça (PERES, 2000). Autores descrevem que há condições em que, a extração de indivíduos é inferior à taxa de crescimento populacional demonstrando que a prática pode não causar uma redução significativa de algumas espécies exploradas (ALVARD et al., 1997; CONSTANTINO et al., 2016). Nesse caso, uma estratégia útil para a conservação é garantir a estabilidade da biodiversidade dos ecossistemas extraíndo os recursos naturais dentro dos limites do potencial reprodutivo de cada espécie, sem a necessidade de proibir a caça, o que garante a segurança alimentar da comunidade tradicional.

No entanto, para a maioria dos mamíferos amazônicos, aspectos sobre a biologia reprodutiva seguem sendo pouco estudadas, principalmente devido restrições financeiras e dificuldades na logística de obtenção de material para estudo, resultando em amostragens pequenas (EL BIZRI et al., 2017; MAYOR et al., 2017). Uma alternativa proveitosa e confiável para obtenção de dados sobre a biologia reprodutiva e desenvolvimento intrauterino é o uso do trato reprodutivo de fêmeas capturadas para fins de subsistência, oriundo de animais caçados por comunidades tradicionais locais (MAYOR et al., 2017).

A utilização de material que seria descartado para estudos de biometria e desenvolvimento intrauterino são fundamentais para maior compreensão das relações filogenéticas e fisiológicas relevantes para o aprimoramento do diagnóstico clínico da reprodução de espécies silvestres e seu manejo *ex situ* e *in situ*, estimando a capacidade de resposta das mesmas aos impactos antrópicos (MAYOR et al, 2017; DE ANDRADE et al., 2018).

### **1.1 O Caititu (*Pecari tajacu*)**

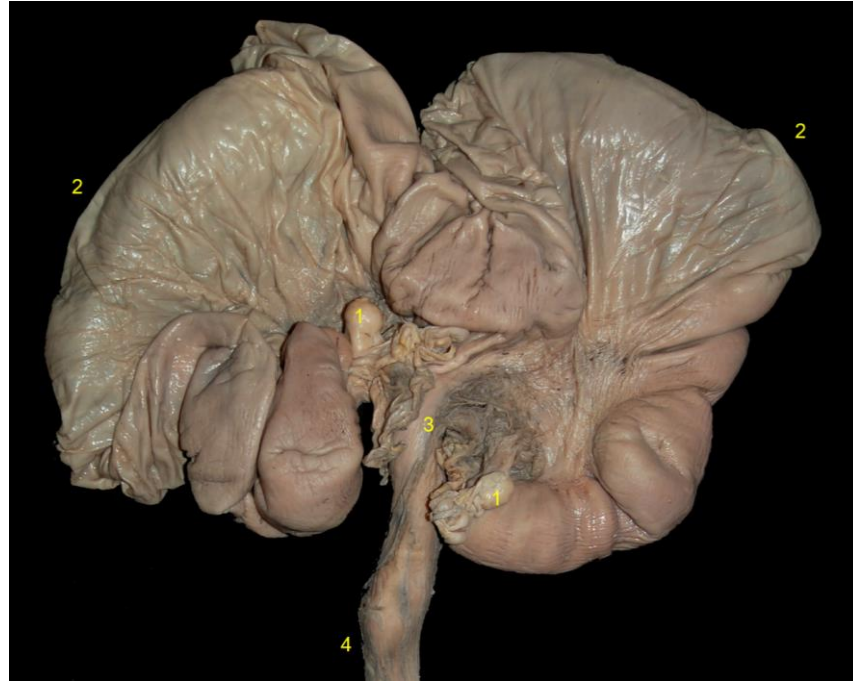
O caititu (*Pecari tajacu*) é um mamífero ungulado que pertence à ordem Artiodactyla e à família Tayassuidae juntamente com o Queixada (*Tayassu pecari*) e o Taguá (*Catagonus wagneri*). Entre os ungulados, é uma das espécies com maiores distribuições geográficas na América, com ocorrência no sul dos Estados Unidos, América Central, leste dos Andes, noroeste do Peru, norte da Argentina e Paraguai (SOWLS, 1997). No Brasil, o caititu está presente por todos os biomas e ocupa diversos habitats, desde florestas tropicais úmidas, savanas, regiões semi-áridas e desertos, resistindo em áreas sob impacto antrópico exceto ambientes extremamente alterados (SOWLS, 1997; TIEPOLO & TOMAS, 2011). Por apresentar tolerância a ambientes modificados, o caititu pode ser considerado indicador da qualidade ambiental e sua ausência representa grau elevado de perturbação do habitat (MAZZOLLI, 2006). Além disso, possui papel ecológico na manutenção dos ecossistemas como predador e dispersor de sementes (BODMER, 1991; DESBIEZ & KEUROGHLIAN, 2009).

Os caititus são robustos, com comprimento total variando entre 80 a 100 cm, altura de 30 a 50 cm e peso em torno de 14 a 30 kg (NOWAK, 1991; BODMER & SOWLS, 1996; DEBIEZ et al., 2009). Possui pelos longos e ásperos e pelagem marrom ou negra com uma faixa branca com aspecto de colar que se estende desde o dorso até os ombros. A cabeça é longa, triangular e relativamente grande, os olhos e orelhas são pequenos e o focinho alongado (SOWLS, 1984; BODMER & SOWLS, 1993). O corpo de formato compacto e

cilíndrico e as patas curtas permitem a movimentação ágil entre a vegetação. No dorso apresenta crina erétil constituída por cerdas resistentes e de coloração mais escura que se estende às ancas e uma glândula próxima à cauda (TIEPOLO & TOMAS, 2011; MORALES et al., 2015).

A espécie tem atividade tanto diurna quanto noturna e vive em grupos médios de 15 indivíduos em ambientes florestais ou áreas abertas (SOWLS, 1984; TIEPOLO & TOMAS, 2011). Os grupos são formados por animais jovens e adultos, de ambos os sexos e apresentam comportamento de coesão, dominância hierárquica e colaboração mútua para defesa. A coesão é mantida por vocalizações, contato físico e sinais olfativos liberados por glândulas, a dominância hierárquica está relacionada ao tamanho, sendo os animais dominantes maiores e mais pesados (BISSONETTE, 1982). Diferentemente dos queixadas que viajam longas distâncias, os caititus não se distanciam do seu local de nascimento (SOWLS, 1997). São considerados animais onívoros por apresentarem uma alimentação diversificada em folhas, sementes, frutas, raízes, tubérculos e invertebrados (DEUSTSCH & PUGLIA, 1998; SOWLS, 1997).

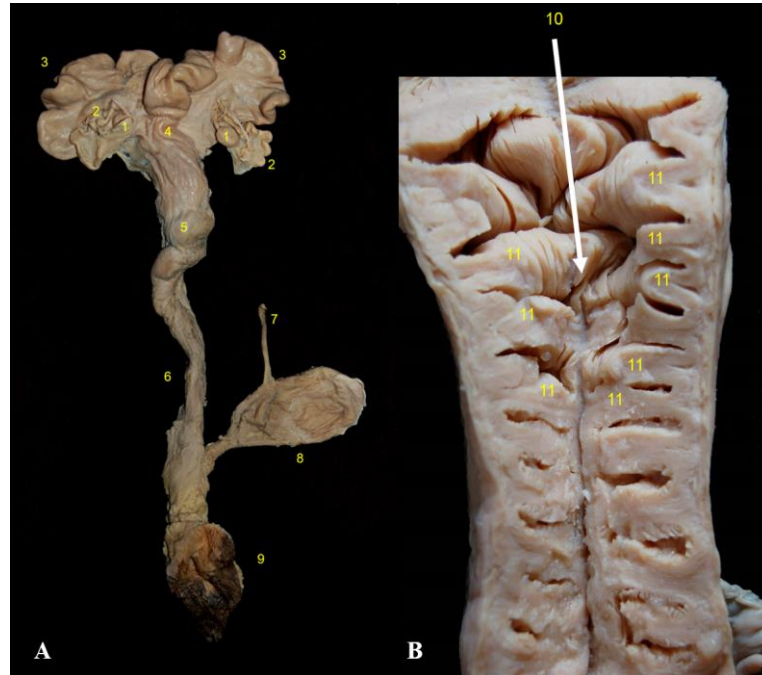
As fêmeas possuem ovários ovalados posicionados sob a quarta vértebra lombar e envolvidos parcialmente pela bolsa ovárica, que é mais desenvolvida cranialmente. As tubas uterinas são finas, tortuosas e alongadas e se curvam craniocaudalmente sobre os ovários. O útero apresenta dois cornos uterinos curtos, grossos e flexuosos que estão voltados ventralmente em formato de hélice e de tamanho menor que o da porca doméstica (GARCIA et al., 2009, MAYOR et al., 2004) (Figura 1 e 2). A cérvix é longa e com projeções circulares para o interior do canal e conformando o lúmen em um aspecto espiralado (Figura 3). A placenta é classificada como epiteliocorial, difusa e adecídua com saco alantocoriônico fusiforme e presença de interdigitações difusas e auréolas distribuídas longitudinalmente no córion (SANTOS et al., 2000, 2006).



**Figura 1.** Vista dorsal dos órgãos genitais de fêmea gestante de caititu (*Pecari tajacu*). Ovários (1), Cornos uterinos (2), Corpo uterino (3), Cérvix (4). Fonte: Adaptado do Atlas de Anatomia Veterinária UAB-UFRA (<https://www.anatomia veterinaria-uab-ufra.com/>).



**Figura 2.** Placenta do tipo epiteliocorial, difusa e adecídua com vasos do córion espalhados por toda superfície placentária. Presença de um feto de caititu (*Pecari tajacu*). Fonte: Adaptado do Atlas de Anatomia Veterinária UAB-UFRA (<https://www.anatomia veterinaria-uab-ufra.com/>).



**Figura 3.** (A) Vista dorsal dos órgãos genitais de fêmea de caititu (*Pecari tajacu*). (B) Corte longitudinal demonstrando a presença de pregas na mucosa da cérvix uterina. Ovários (1), Tuba uterina (2), Corno uterino (3), Corpo uterino (4), Cérvix (5), Vagina (6), Ureter (7), Bexiga urinária (8), Vulva (9), Canal cervical e (10) Projeções cervicais. Fonte: Adaptado do Atlas de Anatomia Veterinária UAB-UFRA (<https://www.anatomia veterinaria-uab-ufra.com/>).

Com relação aos aspectos reprodutivos, as fêmeas são poliétricas não-estacionais com a possibilidade de reproduzir e gerar filhotes durante o ano todo e sem época preferencial. A atividade reprodutiva inicia a partir dos 8 meses de idade e o ciclo estral dura em média de 22 a 28 dias (MAUGET et al., 2007; MAYOR et al., 2007; GARCIA et al., 2009). A idade aproximada do primeiro parto em fêmeas de vida livre é de 16 a 24 meses (LOCHMILLER & HELLGREN, 1992). O intervalo médio da gestação é de 138 dias (MAYOR et al., 2005), no entanto, a média apresentou uma variação em diversos estudos (Tabela 1) sendo poucos dias mais curta que na queixada, a qual apresenta média de 155 a 160 dias (SOWLS, 1984) e mais longa que na porca doméstica, com 114 dias de gestação.

**Tabela 1.** Duração média da gestação em caititu (*Pecari tajacu*) descrita em diversos estudos.

Duração média da gestação (em dias)	Referências
138,3 ± 5,3	Mayor et al. (2005)
140 – 150	Guimarães et al. (2006)
144,7 (141 – 145)	Sowls (1997)
144 – 148	Nowak (1991)
145	Tiepolo & Tomas (2011)
146 – 149	Da Silva et al. (2002)

O tamanho médio da ninhada varia de um a quatro filhotes, com maior ocorrência de partos duplos (SOWLS, 1997; GARCIA et al., 2009). Alguns autores descrevem que o tamanho da ninhada em cativeiro é de  $1,85 \pm 0,43$  filhotes por parto (MAYOR et al., 2007). Os filhotes possuem pelos mais avermelhados e uma faixa marrom dorsal, nascem com aproximadamente 604 gramas e são desmamados em torno de dois meses. O primeiro estro pós-parto ocorre entre quatro a 16 dias após o desmame com taxa de concepção de 67% (SOWLS, 1984, 1997; MAYOR, 2006). A presença de estro pós-parto com possibilidade de nova gestação é um fator positivo, pois proporciona maior produtividade e rápida reposição populacional do grupo. A proporção média de partos por ano é de 1,4 a 1,8 partos em fêmeas de vida livre (GOTTDENKER & BODMER, 1998) e de 1,6 em fêmeas de cativeiro (NOGUEIRA-FILHO & LAVORENTI, 1997).

O caititu é uma das espécies amazônicas mais caçadas devido a apreciação de sua carne altamente palatável e do couro de qualidade utilizado para fabricação de acessórios de luxo (BONAUDO et al., 2002; NOGUEIRA-FILHO & NOGUEIRA, 2004; SANTOS et al., 2009). Essa demanda é suprida mediante a caça predatória e ilegal realizada em diversos países da América do Sul, inclusive o Brasil (NOGUEIRA-FILHO & LAVORENTI, 1997). Além disso, a espécie também é visada para a caça esportiva na Amazônia (PERES, 1996), o que reduz a população disponível em vida livre.

Segundo a União Internacional para a Conservação da Natureza - IUCN (GONGORA et al., 2013), o *P. tajacu* ainda apresenta estado de conservação considerado menos preocupante “Least concern” (LC) na escala de risco de extinção. Os fatores que justificam essa classificação são a sua ampla distribuição nos diversos biomas brasileiros e a maior capacidade de reposição da população livre. No entanto, a espécie apresentou um declínio em biomas, tais como a Caatinga e a Mata Atlântica (GONGORA et al., 2013), e dessa forma, faz-se necessário avaliar os impactos da caça e da destruição dos habitats por serem as principais ameaças para a conservação da espécie (REDFORD, 1992; PERES, 1996; SOWLS, 1997). Para Nogueira-filho & Lavorenti (1997), a manutenção do habitat natural e a criação em cativeiro são medidas que permitem a exploração racional da espécie. A implantação de criatórios comerciais também gera rendas aos produtores rurais das regiões com suporte insuficiente das necessidades domésticas (SANTOS et al., 2009).

Em cativeiro, a espécie demonstra aptidão para reprodução (SILVA, 2002; GUIMARÃES et al., 2004, 2006; MAYOR et al., 2007), adaptabilidade para arraçamento balanceado (ALBUQUERQUE et al., 2004) e bom desempenho zootécnico (ALBUQUERQUE et al., 2008). Para obtenção de resultados positivos na conservação ou

melhoramento genético é importante compreender que o manejo de animais silvestres requer o conhecimento dos habitats, da fisiologia reprodutiva e de desenvolvimento intrauterino, alimentação e das respostas denso-dependentes na dinâmica das populações e suas respostas à sobrecaça (GOTELLI, 1995, BODMER et al., 1997). A criação de caititu em cativeiro é uma alternativa para implementar programas de conservação (MMA, 2001), garantir a segurança alimentar das comunidades locais, além de ampliar o conhecimento para o sucesso reprodutivo em cativeiro, criando assim, populações autossustentáveis.

## **1.2 A ultrassonografia fetal**

A ultrassonografia é um método de diagnóstico comumente usada na medicina veterinária. A técnica é baseada na formação e propagação de ondas sonoras de alta frequência que penetram os tecidos gerando imagens bidimensionais em escala de cinza, de acordo com as diferenças nas densidades dos tecidos observados. Assim, os líquidos por não refletirem ondas sonoras aparecem na cor preta (anecoico), tecidos de densidade intermediária são visualizados em variados tons de cinza (hipoecoico) e os tecidos densos são observados na cor branca devido à alta reflexão do som (hiperecoico). Para a realização da técnica é necessário o uso de um transdutor que origina e emite ondas sonoras em unidades de frequência que equivale a um milhão de hertz (Megahertz - MHz), a partir de cristais com propriedades piezoelétricas (FELICIANO et al., 2013).

Uma das áreas de maior aplicabilidade da ultrassonografia na medicina veterinária é a reprodução animal. Em comparação a outros métodos, a técnica possui uma maior acurácia na detecção da maturação sexual permitindo a avaliação do trato reprodutivo e identificação de alterações clínicas. O exame ultrassonográfico também é muito preciso para diagnóstico precoce de gestação, predição da época de parto e estimativa da idade fetal, sendo uma técnica segura para a mãe e o feto (REECE et al., 1990). Além disso, é indolor, não ionizante, não invasiva e relativamente barata como rotina no acompanhamento da gestação (MAYOR et al., 2005; PATRE et al., 2015).

A avaliação da idade gestacional dos fetos é útil para a clínica, manejo prenatal ou para fins científicos. Muitos parâmetros de avaliação fetal são utilizados para prever a idade gestacional correta em diversos mamíferos, tais como o diâmetro biparietal (DBP), a circunferência craniana (CC), torácica (CT) e abdominal (CA). Nos casos em que não é possível mensurar o DBP, os comprimentos umeral e femoral permitem uma estimativa confiável da idade fetal em espécies domésticas. Por esse motivo, a mensuração dos ossos longos é cada vez mais utilizada para estimar a idade gestacional aumentando a acurácia do

exame pela avaliação de diversos parâmetros (PATRE et al., 2015). Outro fator observado é a importância da fetometria ultrassonográfica na avaliação do desenvolvimento fetal e sua viabilidade. O retardo no crescimento fetal contribui para o aumento do risco de sobrevivência pré-parto, o que reforça a importância da ultrassonografia no acompanhamento da viabilidade gestacional e diagnóstico precoce de anomalias anatômicas fetais congênitas ou hereditárias (OGATA, 1999).

Diversos trabalhos sobre diagnóstico gestacional, detecção da idade gestacional e fetometria ultrassonográfica foram realizados em diferentes espécies domésticas, dentre elas, bovinos (KÄHN, 1989; RAJAMAHENDRAN, 1994; OGATA et al., 1999; WOLF & GABALDI, 2002; MENEZES et al., 2011; ANDRADE et al., 2017), bubalinos (ALI & FAHMY, 2008), ovinos (GREENWOOD et al., 2002), caprinos (LEE, 2005; LÉGA, 2007) e suínos (KAUFFOLD & ALTHOUSE, 2006; WILLIAMS et al., 2008), demonstrando o interesse por estudos sobre ultrassonografia ginecológica e obstétrica em diversas espécies. A realização de pesquisas científicas em fetometria ultrassonográfica auxilia na identificação dos parâmetros mais confiáveis para a estimativa da idade gestacional.

No final da década de 90 houve um aumento do uso da ultrassonografia na clínica e manejo reprodutivo de animais silvestres na América do Sul (AUGUSTO, 2001). Por exemplo, esse autor relata a aplicação da técnica em diversas espécies selvagens, com finalidade de avaliar fluido uterino, diagnosticar precocemente a gestação e morte fetal, monitorar o desenvolvimento fetal e auxiliar em programas de reprodução assistida. Além disso, destaca-se também o crescimento do desenvolvimento de biotécnicas reprodutivas responsáveis por otimizar o desempenho zootécnico em animais silvestres, inclusive o caititu (SILVA et al., 2012), mediante protocolos de sincronização de estro (PEIXOTO et al., 2017), monitoramento e controle do ciclo estral (SILVA et al., 2017) e cultivo de germoplasma feminino (SILVA et al., 2012).

Com o aumento do interesse pela conservação de espécies endêmicas com risco de extinção e da compreensão dos mecanismos reprodutivos de espécies precociais e altriciais, trabalhos sobre ultrassonografia obstétrica foram realizados para elucidar aspectos da biologia reprodutiva de ungulados, entre eles os cervídeos e taitaçuídeos (BINGHAM, 1990; MAYOR et al., 2005). Assim, a técnica é útil para avaliar aspectos reprodutivos de animais ameaçados, atuando como ferramenta valiosa para o manejo dessas espécies em cativeiro e em vida livre.



### 1.3 Desenvolvimento ósseo

O osso é um órgão que possui inervação e vascularização sanguínea e linfática e de grande importância para a locomoção, proteção de órgãos vitais, síntese de células sanguíneas e reserva de minerais, principalmente o cálcio e fósforo (SEIFERT & WARTKINS, 1997; DYCE et al., 2010). O esqueleto é derivado de células do mesoderma e da crista neural. O desenvolvimento ósseo do embrião ocorre por três linhagens distintas. Os somitos originam os ossos do esqueleto axial mediante a porção denominada esclerótomo, a placa somática do mesoderma lateral gera o esqueleto apendicular enquanto a crista neural ectodérmica e o mesoderma cefálico formam o arco branquial, cartilagens e ossos craniofaciais (GILBERT, 2000; SINOWATZ, 2010).

As células ósseas derivadas da linha de células osteoprogenitoras são os osteoblastos, osteoclastos e osteócitos. Os osteoblastos são responsáveis pela síntese da matriz orgânica e revestem a maioria das superfícies ósseas. Os osteoclastos são células gigantes multinucleadas derivadas dos macrófagos que realizam a reabsorção óssea. Os osteócitos são osteoblastos maduros localizados em lacunas na matriz mineralizada que participam da nutrição e manutenção local (BANKS, 1992; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2010).

O tecido ósseo é formado por uma matriz extracelular altamente organizada de proteínas sintetizadas principalmente por osteoblastos e composta por uma porção orgânica e inorgânica. A porção orgânica é constituída principalmente por colágeno do tipo I e proteoglicanos, ambos responsáveis por conferir maleabilidade sem perda da dureza. As fibras de colágeno estão dispostas de maneira ordenada o que garante resistência à pressão e compressão e formam lacunas úteis para a mineralização óssea. A porção inorgânica, que é importante pela resistência a deformação, apresenta sais de fosfato e cálcio na forma de cristais de hidroxiapatita (MOTA et al., 2008; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2010). O processo de mineralização é auxiliado por proteínas não colagenosas derivadas dos osteoblastos: a osteocalcina que estimula a atividade dos osteoblastos e a osteonectina que facilita a mineralização das fibras de colágeno (OLSEN et al., 2000).

Os ossos são revestidos externamente por uma membrana denominada de perióstio e internamente pelo endóstio. Macroscopicamente podem ser diferenciados em cortical e esponjoso. O osso cortical ou compacto é denso e compõe a maior porção do osso, a matriz de colágeno forma lamelas concêntricas ao redor de um canal vascular central, constituindo os canais de Havers. Os canais centrais comunicam-se entre si e com a medula óssea mediante os canais de Volkmann. O osso esponjoso ou trabecular é poroso e possui trabéculas preenchidas

por medula óssea vermelha, onde há produção de células sanguíneas (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2010).

Nos ossos longos, a diáfise é composta em sua maior porção por osso compacto (80%) e com uma pequena porção de osso esponjoso, que constitui 20% da massa óssea. O oposto ocorre nas epífises, que são formadas por osso esponjoso delimitado por uma delgada camada compacta. Os ossos curtos possuem um centro esponjoso envolto por osso compacto e os ossos achatados apresentam duas camadas de osso compacto, uma interna e outra externa, separadas por osso esponjoso, denominado díploie (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2010).

A formação dos ossos, ou osteogênese, envolve dois processos para transformação de tecido mesenquimal preexistente em tecido ósseo. A transformação do tecido mesenquimal diretamente em osso é denominado de ossificação intramembranosa, enquanto que a diferenciação das células mesenquimais em células cartilaginosas, que serão substituídas posteriormente por tecido ósseo, é conhecido por ossificação endocondral (OLSEN et al., 2000; DYCE et al., 2010).

A ossificação intramembranosa ocorre em ossos achatados principalmente os do crânio. As células mesenquimais derivadas da crista neural ou do mesoderma cefálico se proliferam no interior das membranas do tecido conjuntivo, os centros de ossificação primária (LARSEN, 1997). Proteínas morfogenéticas ósseas (BMPs) ativam o fator de transcrição CBFA1 (*core binding factor alpha 1*) das células mesenquimais promovendo a sua diferenciação em osteoblastos que secretam uma matriz não-calcificada formada por colágeno e proteoglicanos denominada osteoide, que é capaz de se ligar ao fosfato de cálcio. Vários centros de ossificação se desenvolvem no interior do tecido conjuntivo formando espícula ósseas que se unem com espículas vizinhas originando o tecido esponjoso, que permite a penetração de vasos sanguíneos e a formação da medula óssea. Durante a calcificação da matriz osteoide é possível que osteoblastos fiquem aprisionados originando os osteócitos (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2010).

A ossificação endocondral ocorre nos ossos esfenoídes do crânio, na coluna vertebral, pelve, membros e nas costelas e pode ser dividida em cinco estágios. Primeiro, as células mesenquimais são estimuladas por fatores parácrinos para expressarem Pax1 e Scleraxis responsáveis pela formação das células cartilaginosas. No segundo estágio, as células se diferenciam em condrócitos e são responsáveis pelo início da formação da matriz cartilaginosa. Durante o terceiro estágio, os condrócitos se condensam e proliferam rapidamente originando um molde de cartilagem hialina no formato do futuro osso. No quarto estágio, os condrócitos se tornam hipertrofiados e promovem o início de mineralização e

redução da matriz cartilaginosa na região central da cartilagem denominada de colar ósseo. Por último, com a morte dos condrócitos, ocorre a invasão das cavidades calcificadas por células mesenquimatosas indiferenciadas vindas do tecido conjuntivo adjacente mediante os capilares sanguíneos, que penetram o colar ósseo. Essas células se diferenciam em condroclastos, que degradam a matriz calcificada e em osteoblastos, que depositam camada de osso primário sobre a cartilagem calcificada formando espículas ósseas. Futuramente as espículas ósseas são remodeladas por ação dos osteoclastos e osteoblastos (BANKS, 1992; OLSEN et al., 2000; DYCE et al., 2010).

Os núcleos de ossificação secundários surgem posteriormente nas epífises gerando cavidades que serão preenchidas com medula óssea. Após mineralização, a cartilagem permanece na região articular e na placa epifisária, que liga a epífise à diáfise e permite o crescimento ósseo após o nascimento até a puberdade (FLETCHER & WEBER, 2004; MOORE & PERSAUD, 2004; SADLER, 2004). A cartilagem epifisária pode ser dividida histologicamente em cinco zonas: 1- a zona de repouso com condrócitos sem atividade proliferativa; 2- a zona de proliferação onde os condrócitos se dividem rapidamente e formam colunas de células empilhadas; 3- zona de cartilagem hipertrófica com condrócitos aumentados de tamanho e em início de apoptose; 4- zona de cartilagem ossificada que apresenta início de matriz mineralizada e condrócitos mortos; e 5- a zona de ossificação com presença de osteoblastos e tecido ósseo (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2010).

Todos os ossos do esqueleto apendicular iniciam como um modelo cartilaginoso que se transformam em osso verdadeiro mediante a ossificação endocondral posteriormente durante o desenvolvimento fetal. O mesoderma é responsável pelo controle morfogênético do desenvolvimento dos membros com o epitélio da crista ectodérmica apical realizando uma função estimulatória para esse processo. O desenvolvimento dos membros anteriores e posteriores é semelhante, sendo que a morfogênese dos membros anteriores inicia 1 a 2 dias antes dos membros posteriores (SINOWATZ, 2010).

## **1.4 Objetivos**

### **1.4.1 Objetivo geral**

Descrever o desenvolvimento gestacional do esqueleto axial e apendicular de fetos de caititus (*Pecari tajacu*).

### 1.4.2 Objetivos específicos

I) Relacionar a biometria dos componentes mineralizados (diáfises) e não mineralizados (epífises) dos ossos em desenvolvimento com o comprimento fetal;

II) Verificar o aparecimento dos núcleos de ossificação secundários dos ossos longos e seus respectivos diâmetros relacionando com o comprimento total fetal;

III) Discutir o grau de precocidade da espécie e a capacidade motora pós-parto com dados da literatura para outras espécies.

### 1.5 Referências bibliográficas

ALBUQUERQUE, N. I.; GUIMARAES, D. A.; LE PENDU, Y.; SILVA, J. V. Criação intensiva de caititus (*Tayassu tajacu*): Experiência na Amazônia Brasileira. In: CONGRESO INTERNACIONAL SOBRE MANEJO DE FAUNA SILVESTRE EM LA AMAZÔNIA Y LATINOAMERICA, 6., 2004, Iquitos. **Resumos...** Iquitos: WCS, DICE, UNAP, p.21-22, 2004.

ALBUQUERQUE, N. I.; GUIMARÃES, D. A.; LE PENDU, Y.; SILVA, J. V.; DIAS, H. L. T. Sistema de produção do caititu (*Tayassu tajacu*), resultados de pesquisa em sistema intensivo. In: ENCONTRO INTERNACIONAL DA PECUÁRIA DA AMAZÔNIA, 1, 2008, Belém. **Anais...** Belém: FAEPA; Instituto Frutal; SEBRAE-PA, 2008.

ALI, A., & FAHMY, S. Ultrasonographic fetometry and determination of fetal sex in buffaloes (*Bubalus bubalis*). **Animal Reproduction Science**, v. 106(1-2), p. 90-99, 2008.

ALVARD, M. S.; ROBINSON, J. G.; REDFORD, K. H.; KAPLAN, H. The Sustainability of Subsistence Hunting in the Neotropics. **Conservation Biology**, v. 11. p. 977-982, 1997.

ANDRADE, R. B.; SILVA, V. C. F.; SILVA, A. F.; CALDAS, S. A.; COSTA, O. M.; ABIDU-FIGUEIREDO, M.; PALHANO, H. B. Avaliação embrionária e fetal por ultrassonografia em fêmeas bovinas leiteiras mestiças submetidas à inseminação artificial ou inseminação artificial em tempo fixo. **Brazilian Journal of Veterinary Medicine**, v. 39, p.7-19, 2017.

AUGUSTO, A. Q. Ultrasonography in South America wild animals. In: FOWLER, M. E.; CUBAS, Z. S. *Biology, Medicine, and Surgery of South American Wild Animals*. Iowa: Iowa State University Press, p.464-474, 2001.

BANKS, W. J. Tecidos de sustentação: osso. In: BANKS, W. J. *Histologia veterinária aplicada*. 2ed. São Paulo: Manole; p 137-66, 1992.

BARLOW, J.; LENNOX, G. D.; FERREIRA, J.; BERENGUER, E.; LEES, A. C.; MACNALLY, R.; OLIVEIRA, V. H. F. Anthropogenic disturbance in tropical forests can double biodiversity loss from deforestation. **Nature**. v. 535, p.144–147, 2016.

BISSONETTE, J. A. *Ecology and social behavior of the collared peccary in Big Bend Nacional Park*. 1982. Washington, DC: U.S. National Parks Services, 1982.

BODMER, R. E. Strategies of seed dispersal and seed predation in amazonian ungulates. **Biotropica**, v. 23. p. 255-261, 1991.

BODMER, R. E.; AQUINO, R.; PUERTAS, P.; REYES, C.; FANG, T.; GOTTDENKER, N. Manejo y Uso Sustentable de Pecaries en la Amazonia Peruana. Occasional Paper of the IUCN Species Survival Commission No. 18. IUCN-Sur, Quito, Ecuador, 1997.

BODMER, R. E.; SOWLS, L. K. *Tayassu tajacu*. In: W. L. R. OLIVER (Ed.). *Pigs, peccaries and hippos: status survey and conservation action plan*. Gland Switzerland. IUCN, 56p. 1996.

BODMER, R. E.; SOWLS, L. K. El pecari de collar (*Tayassu tajacu*). In: OLIVER, W. L. R. (ed.). Plan de acción y evaluación actual de los pecaríes. Pigs, peccaries, and hippos: Status survey and conservation action plan. Gland Switzerland. IUCN, p5-15, 1993.

BONAUDO, T.; LE PENDU, Y.; ALBUQUERQUE, N. I. Caça de animais silvestres na Rodovia Transamazônica. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DA IUFRO MANEJO INTEGRADO DE FLORESTAS ÚMIDAS NEOTROPICAIS POR INDÚSTRIAS E COMUNIDADES, 2002, Belém. **Resumo expandido...** Belém: CIFOR, Embrapa Amazônia Oriental, 2002.

BOUBLI, J. P.; HRBEK, T. Introdução a Biodiversidade Amazônica. In: Marcon, J. L.; Menin, M.; Araújo, M. G. P; Hrbek, T. (Org.). Biodiversidade Amazônica: caracterização, ecologia e conservação. 1ed. Manaus, AM: EDUA, v. 1, p. 11-17, 2012.

CONSTANTINO, P. A. L. Deforestation and hunting effects on wildlife across Amazonian indigenous lands. **Ecology and Society**. v.21(2). 2016.

DA SILVA, J. V.; CARDOSO, D.; GUIMARÃES, D. A.; ALBUQUERQUE, N.; LE PENDU, Y.; OHASHI, O. Biologia reproductiva de fêmeas de caititu (*Tayassu tajacu*) criadas em cativeiro na Amazonia. **Revista Brasileira Reprodução Animal**. Suplemento. n.5, p.180–182, 2002.

DE ANDRADE R. D. S.; MONTEIRO, F. O. B.; EL BIZRI, H.R.; PANTOJA, L.; BODMER, R.; VALSECCHI, J.; MAYOR, P. Embryonic and fetal development of the white-lipped peccary (*Tayassu pecari*). *Theriogenology*. v.119. p.163-174, 2018.

DESBIEZ, A. L. J.; KEUROGHLIAN, A. Can bite force be used as a basis for niche separation between native peccaries and introduced feral pigs in the Brazilian Pantanal? **Mammalia**, v. 73. p.369-372, 2009.

DEUSTSCH, L. A.; PUGLIA, L. R. R. Os animais silvestres: Produção e manejo. Rio de Janeiro: Globo, p.69-72, 1988.

DYCE, K. M.; SACK, W. O.; WENSING, C. J. G. Tratado de anatomia veterinária. 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.

EL BIZRI, H. R.; *et al.* Embryonic and fetal morphology in the lowland paca (*Cuniculus paca*): A precocial hystricomorph rodent. **Theriogenology**, v. 104. p. 7-17, 2017.

FELICIANO, M. A. R.; OLIVEIRA, M. E. F.; VICENTE, W. R. R. Ultrassonografia na reprodução animal. 1ª ed. São Paulo, 2013.

FLETCHER T. F.; WEBER A. F. Veterinary developmental anatomy. 1ª ed. Minnesota, 76p, 2004.

FRAZIER, J. Sustainable use of wildlife: The view from archaeozoology. **Journal for Nature Conservation**. v.15. p.163-173, 2007.

GARCIA, A. R.; KAHWAGE, P. R.; OHASHI, O. M. Aspectos reprodutivos de caititus (*Tayassu tajacu*). **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.33(2), p.71-81, 2009.

GILBERT, S. F. Developmental Biology. 6th edition. Sunderland (MA): Sinauer Associates; 2000.

GONGORA, J.; REYNA-HURTADO, R.; BECK, H.; TABER A., ALTRICHTER, and KEUROGHLIAN, A. *Pecari tajacu*. IUCN Red List of Threatened Species. IUCN, 2013.

GOTELLI, N. J. A primer of ecology. Sunderland: Sinauer, 1995.

GOTTDENKER, N. L.; BODMER, R. E. Reproduction and productivity of white-lipped and collared peccaries in the Peruvian Amazon. **Journal of Zoology**, n. 245. p.423-430, 1998.

GREENWOOD, P. L.; SLEPETIS, R. M.; MCPHEE, M. J.; BELL, A. W. Prediction of stage of pregnancy in prolific sheep using ultrasound measurement of fetal bones. **Reproduction, Fertility, and Development**, v. 14(1-2), p.7-13, 2002.

GUIMARAES, D. A.; SILVA, J. V.; MAYOR, P.; LE PENDU, Y.; ALBUQUERQUE, N. I.; NOGUEIRA FILHO, S. L. G. Reproductive biology of female collared peccaries (*Tayassu tajacu*) raised in captivity in Amazon region. In: SYMPOSIUM SUR L'UTILISATION DE LA FAUNE SAUVAGE, 6., 2004, Paris. **Resumenes...** Paris, 2004. p.136-137.

GUIMARÃES, D. A., ALBUQUERQUE, N. I. D., LE PENDU, Y., SILVA, J. V. D.; DIAS, H. L. T. Manejo reprodutivo e produtivo do caititu (*Tayassu tajacu*) em cativeiro. In: **Revista de Ciências Agrárias**, n°43, jun. / jul., 2006.

JUNQUEIRA L. C.; CARNEIRO J. *Histologia básica*. 12<sup>a</sup> ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, p.132-148, 2010.

KÄHN, W. Sonographic fetometry in the bovine. **Theriogenology**, v.31 (5), p.1105-1121, 1989.

KAUFFOLD, J.; ALTHOUSE, G. C. An update on the use of B-mode ultrasonography in female pig reproduction. **Theriogenology**, Stoneham, v.67, p. 901- 911, 2007.

LARSEN W. J. Human embryology. 2a ed. Churchill Livingstone, Hong Kong, 512p, 1997.

LAURANCE, W. F.; PERES, C. A. Emerging threats to tropical forests. The University of Chicago Press, Chicago, Illinois, 2006.

LEE, Y.; LEE, O.; CHO, J.; SHIN, H.; CHOI, Y.; SHIM, Y.; CHOI, W.; SHIN, H.; LEE, D.; LEE, G.; SHIN, S. Ultrasonic measurement of fetal parameters for estimation of gestational

age in Korean black goats. **The Journal of Veterinary Medical Science**, v. 67(5), p. 497-502, 2005.

LÉGA, E.; TONIOLLO, G. H.; OLIVEIRA, J. A.; RESENDE, K. T.; RODRIGUES, V. Determinação da idade fetal por meio da técnica ultra-sonográfica de fetometria e de morfologia fetal em cabras. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59(4), p. 851-856, 2007.

LOCHMILLER, R. L.; HELLGREN, E. C. Reproduction in collared peccaries. In *Reproductive biology of South American vertebrates*: p.313-322. New York: Springer, 1992.

MAUGET, R., FEER, F., HENRY, O., DUBOST, G. Hormonal and behavioral monitoring of ovarian cycles in peccaries. In: *International Symposium on Physiology and Ethology of Wild and Zoo Animals*, 1, 1996, **Proceedings supplement II**. Berlin: Leibniz Institute for Zoo and Wildlife Research, p.145-149; 1997.

MAYOR, P., GUIMARÃES, D. A. A., LE PENDU, Y., DA SILVA, J., JORI, F., LOPEZ-BEJAR, M. Reproductive performance of captive collared peccaries (*Tayassu tajacu*) in the eastern Amazon. **Animal Reproduction Science**, v.102, p.88-97, 2007.

MAYOR, P.; GUIMARÃES, D. A. A.; LOPEZ-GATIUS, F.; LOPEZ-BEJAR, M. First postpartum estrus and pregnancy en the female collared peccary (*Tayassu tajacu*) from the Amazon. **Theriogenology**, v.66, p.2001-2007, 2006.

MAYOR, P., LOPEZ-GATIUS, F., LOPEZ-BEJAR, M. Ultrasonography within the reproductive management of collared peccary (*Tayassu tajacu*). **Theriogenology**, v.63, p.1832-1843, 2005.

MAYOR, P.; EL BIZRI, H.; BODMER, R.; BOWLER, M. Assessment of mammal reproduction for hunting sustainability through community-based sampling of species in the wild, *Conservation Biology*, v. 31 (4), 2017.

MAZZOLLI, M. Persistência e riqueza de mamíferos focais em sistemas agropecuários no planalto meridional brasileiro. Tese (Doutorado em Ecologia). Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 105p, 2006.



MENEZES, M. C.; LÉGA, E.; COELHO, L. A. F. Utilização da ultrassonografia por via transretal em vacas da raça girolando para acompanhamento do desenvolvimento embrionário e/ ou fetal 26 a 181 dias de gestação. **Nucleus Animalium**, v.3, p. 37-60, 2011.

MMA. Avaliação e identificação de ações prioritárias para a conservação, utilização sustentável e repartição dos benefícios da biodiversidade da Amazônia brasileira. Brasília: **MMA**, 2001.

MOORE K. L. & PERSAUD T. V. N. *Embriologia clínica*. 6a ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, p.609, 2004.

MORALES, J. C. G.; GUADARRAMA, V. M. F.; BLASIO, A. L. *et al.* Regionalización histológica de la glándula dorsal del pecarí de collar (*Artiodactyla*, *Tayassuidae*: *Pecari tajacu*). **Ciencia Ergo-sum**, v.22, p.225-232, 2015.

MOTA, N. L.; CASTRO JÚNIOR, A. F.; CASTRO, B. K.; SILVEIRA NETO, L. L.; AARESTRUP, B. J. V. Embriologia e histofisiologia do tecido ósseo: revisão de literatura e bases histofisiológicas das principais doenças ósseas metabólicas. **Boletim do Centro de Biologia da Reprodução**, Juiz de Fora, v. 27, n. 1/2, p. 27-32, 2008.

NOGUEIRA-FILHO, S. G. & NOGUEIRA, S. S. Captive breeding programs as an alternative for wildlife conservation in Brazil. In: SILVINS, K. M., BODMER, R. e FRAGOSO, J. M. V. (Eds.) **People and nature: wildlife conservation in South and Central America**, Columbia University Press, 2004. Cap. 11, p. 171-190.

NOGUEIRA FILHO, S. L. G., LAVORENTI, A. O manejo do caititu (*Tayassu tajacu*) e do queixada (*Tayassu peccary*) em cativeiro. In: Manejo e conservação de vida silvestre no Brasil. Belém, PA: Brasília, DF: Sociedade Civil Mamirauá, p.106-115, 1997.

NOWAK, R. M. Order Artiodactyla. In: NOWAK, R. M. *Walker's mammals of the world* 5.ed. Baltimore: John Hopkins University Press, p.1334-1347, 1991.

OLSEN, B. R.; REGINATO, A. M.; WANG, W. Bone development. *Annual Review of Cell and Development Biology*. v.16. p.191–220, 2000.

OGATA, Y.; NAKAO, T.; TAKAHASHI, K.; ABE, H.; MISAWA, T.; URUSHIYAMA, Y.; SAKAI, J. Intrauterine growth retardation as a cause of perinatal mortality in Japanese black beef calves. **Zentralblatt fur Veterinarmedizin. Reihe A**, v.46 (6), p.327-334, 1999.

PATRE, V.; ARYAN, A. K.; SAHU, P. Ultrasonographic evaluation of fetal humerus length for assessment of gestational age and its comparison with other conventional parameters. **International Journal of Scientific Study**. v.3 (7). p.58-64, 2015.

PERES, C. A. Population status of white-lipped *Tayassu pecari* and collared peccaries *T. tajacu* in hunted and unhunted Amazonian forests. . **Biological Conservation**, v.77 p.115-123. 1996.

PERES, C.A. Effects of subsistence hunting on vertebrate community structure in amazonian forests. **Conservation Biology**, v. 14. p. 240-253, 2000.

RAJAMAHENDRAN, R.; AMBROSE D. J.; BURTON B. Clinical and research applications of real-time ultrasonography in bovine reproduction: a review. **Canadian Veterinary Journal**, v. 35(9), p. 563-572, 1994.

REDFORD, K. H. The empty forest. **Bioscience**, 42: 412-422, 1992.

REECE, E. A.; ASSIMAKOPOULOS, E.; ZHENG, X. Z.; HAGAY, Z.; HOBBS, J. C. The safety of obstetric ultrasonography: concern for the fetus. **Obstetrics and Gynecology**, v. 76(1), p.139-146, 1990.

SADLER, T. W. *Langman embriologia médica*. 9. ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 347p., 2004.

SANTOS, D. O.; MENDES, A.; NOGUEIRA, S. S. D. C.; NOGUEIRA FILHO, S. L. G. Criação comercial de caititus (*Pecari tajacu*): uma alternativa para o agronegócio. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.10, p.1-10, 2009.

SANTOS, T. C.; DANTZER, V.; JONES, C. J. P.; OLIVEIRA, M. F.; MIGLINO, M. A. Macroscopic and microscopic aspects of collared peccary and white-lipped peccary placenta. **Placenta**, v.27, p.244-257, 2006.

SANTOS, T. C.; MIGLINO, M. A.; MACHADO, G. V.; SOUZA, W. M. Morfologia dos ovários, tubas uterinas e útero em catetos (*Tayassu tajacu*, Linnaeus, 1758) e queixadas (*Tayassu pecari*, Link 1795). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.37, n.3, 2000.

SEIFERT, M. F.; WATKINS, B. A. Role of dietary lipid and antioxidants in bone metabolism. **Nutrition Research**, v.17. p. 1209-1228, 1997.

SILVA, A. R.; CAMPOS, L. B.; MAIA, K. M.; BORGES, A. A. Biotécnicas reprodutivas aplicadas à reprodução de catetos (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758): uma estratégia experimental. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 41, p. 110-115, 2017.

SILVA, A. R.; SOUZA, A. L. P.; SANTOS, E. A. A.; LIMA, G. L.; PEIXOTO, G. C. X.; SOUSA, P. C.; CASTELO, T. S. Formação de bancos de germoplasma e sua contribuição para a conservação de espécies silvestres no Brasil. **Ciência Animal**, v.22, p.219- 234, 2012.

SINOWATZ, F. Musculo-skeletal system. In: HYTTEL, P.; SINOWATZ, F.; VEJLSTED, M. (ed.) Domestic Animal Embryology, Saunders Elsevier, Edinburgh, UK, 2010.

SOWLS, L. K. Javelines and other peccaries: Their biology, management and use. 2.ed. Tucson: Texas A&M University Press, 324p., 1997.

SOWLS, L. K. The peccaries. Tucson: The University of Arizona Press, 150p., 1984.

TIEPOLO, L. M.; TOMAS, W. M. Ordem Artiodactyla. In: REIS, N. R. dos; PERACCHI, A. L.; PEDRO, W. A; LIMA, I. P. (eds.). Mamíferos do Brasil. 2 ed. p. 293-313. Londrina: Eduel, 2006.

WILLIAMS, S. I.; PIÑEYRO, P.; DE LA SOTA, R. L. Accuracy of pregnancy diagnosis in swine by ultrasonography. **Canadian Veterinary Journal**, Ottawa, v.49, p. 269-273, 2008.

WOLF, A.; GABALDI, S. H. Ultra-sonographic accompaniment of gestation in large animals—part II. **Revista Ciências Agrárias e da Saúde**, v. 2, p.84-89, 2002.

## 2. ARTIGO

Artigo formatado em português de acordo com as normas da revista *Theriogenology* (**Anexo**

1)

**Avaliação ultrassonográfica do desenvolvimento ósseo fetal de caititu (*Pecari tajacu*,**

*Artiodactyla, Tayassuidae)*

**Ultrasound evaluation of fetal bone development in the collared peccary (*Pecari tajacu*,**

*Artiodactyla, Tayassuidae)*

Thyago Habner de Souza Pereira<sup>a</sup>, Frederico Ozanan Barros Monteiro<sup>a\*</sup>, Gessiane Pereira da Silva<sup>a</sup>, Sandy Estefany Rodrigues de Matos<sup>a</sup>, Rafael dos Santos de Andrade<sup>a</sup>, Hani Rocha El Bizri<sup>b, c, d, e</sup>, Leandro Nassar Coutinho<sup>a</sup>, Carlos López Plana<sup>f</sup>, Pedro Mayor<sup>a, c, f, g</sup>

<sup>a</sup> *Federal Rural University of the Amazon (UFRA), Postgraduate Program in Animal Health and Production in Amazonia (PPGSPAA), Belém, PA, Brazil.*

<sup>b</sup> *Mamirauá Sustainable Development Institute (IDSM), Tefé, AM, Brazil.*

<sup>c</sup> *ComFauna, Comunidad de Manejo de Fauna Silvestre en la Amazonía y en Latinoamérica, 332 Malecon Tarapaca, Iquitos, Peru.*

<sup>d</sup> *Rede de Pesquisa para Estudos sobre Diversidade, Conservação e Uso da Fauna na Amazônia (REDEFAUNA), Manaus, Amazonas – Brasil.*

<sup>e</sup> *School of Science and the Environment, Manchester Metropolitan University. Oxford Road, M15 6BH, Manchester – United Kingdom.*

<sup>f</sup> *Universitat Autònoma de Barcelona (UAB), Departament de Sanitat i d'Anatomia Animals, Facultat de Veterinària, Barcelona, Spain.*

<sup>g</sup> *Museo de Culturas Indígenas Amazónicas, Iquitos, Loreto, Perú.*

**Resumo:** A ultrassonografia tem se apresentado como ferramenta útil para o estudo do desenvolvimento fetal e permite avaliar as diferentes estratégias adotadas por espécies precociais e altriciais para maximizem a sobrevivência após o nascimento. O propósito do estudo foi avaliar o desenvolvimento ósseo gestacional do caititu (*Pecari tajacu*), relacionar com estratégias adaptativas da espécie e as consequências em sua história de vida. Inicialmente mensurou-se o comprimento total dorsal (TDL) e a massa corporal de sete embriões e 46 fetos oriundos de caça de subsistência. Em seguida, realizou-se o exame ultrassonográfico para identificação de mineralização óssea e mensuração dos ossos do esqueleto axial e apendicular. Os ossos do crânio (occipitais, frontal e parietais) foram os primeiros a mineralizarem, sendo observados em fetos com TDL  $\geq 5.3$  cm (35% do período gestacional). A coluna cervical, torácica, lombar e sacral foi observada juntamente com as costelas em fetos com TDL  $\geq 5.8$  cm enquanto a porção coccígea foi mineralizada em fetos com TDL  $\geq 8.1$  cm. Os primeiros ossos do esqueleto apendicular foram identificados em fetos com TDL  $\geq 5.7$  cm (36% do período gestacional), no qual foi possível observar mineralização na diáfise do úmero e do fêmur. Observou-se mineralização da escápula, rádio, ulna, ílio, ísquio, tíbia e fíbula em fetos com TDL  $\geq 5.8$  cm e do metacarpo e metatarso em fetos com TDL  $\geq 9.7$  cm. As falanges proximais, médias e distais dos membros torácico e pélvico foram identificadas em fetos com TDL  $\geq 13$  cm, seguidos do púbis e o calcâneo em TDL  $\geq 13.1$  cm e o talus com TDL  $\geq 17.8$  cm. Os últimos ossos a se mineralizarem foram os ossos do carpo e porção distal do tarso com TDL  $\geq 22.8$  cm (79% do período gestacional). Com relação aos núcleos de ossificação das epífises, o núcleo distal do fêmur foi o primeiro a ser visualizado, surgindo em fetos a partir de 20 cm de TDL (72% do período gestacional), seguido pelo núcleo proximal do rádio em fetos a partir de 22.4 cm e nas epífises distais do rádio e úmero a partir de 22.8 cm de TDL. Em fetos com 24.1 cm de TDL foi possível observar os núcleos proximais e distais da tíbia. Por último, observou-se o núcleo proximal do úmero e das falanges proximais dos membros torácico e pélvico e núcleo distal da ulna, metacarpo, fíbula, metatarso em fetos com TDL  $\geq 29.3$  cm (95% do tempo de gestação). Os demais núcleos de ossificação secundários não foram identificados nos fetos estudados. Com bases nos resultados obtidos, o presente estudo fornece dados relacionados ao desenvolvimento ósseo intrauterino de caititu e auxilia no monitoramento da gestação e estimativa da idade gestacional.

**Palavras-chave:** biometria óssea, desenvolvimento fetal, obstetrícia, precocialidade.

**Abstract:** Ultrasonography has been presented as a useful tool for the study of fetal development and allows to evaluate the different strategies adopted by early and altricial species to maximize survival after birth. The purpose of the study was to evaluate the gestational bone development of the caititu (*Pecari tajacu*), to relate with adaptive strategies of the species and the consequences on its life history. Initially, the total dorsal length (TDL) and body mass of seven embryos and 46 subsistence hunting fetuses were measured. Then, the ultrasound examination was performed to identify bone mineralization and measurement of axial and appendicular skeleton bones. The skull bones (occipital, frontal and parietal) were the first to mineralize, being observed in fetuses with TDL  $\geq 5.3$  cm (35% of gestational period). The cervical, thoracic, lumbar and sacral spine was observed together with the ribs in fetuses with TDL  $\geq 5.8$  cm while the coccygeal portion was mineralized in fetuses with TDL  $\geq 8.1$  cm. The first bones of the appendicular skeleton were identified in fetuses with TDL  $\geq 5.7$  cm (36% of gestational period), in which it was possible to observe mineralization in the humeral and femur diaphysis. Mineralization of the scapula, radius, ulna, ilium, ischium, tibia and fibula was observed in fetuses with TDL  $\geq 5.8$  cm and metacarpal and metatarsal in fetuses with TDL  $\geq 9.7$  cm. The proximal, middle and distal phalanges of the thoracic and pelvic limbs were identified in fetuses with TDL  $\geq 13$  cm, followed by the pubis and calcaneal TDL  $\geq 13.1$  cm and the talus with TDL  $\geq 17.8$  cm. The last bones to mineralize were the carpal and distal tarsal bones with TDL  $\geq 22.8$  cm (79% of gestational period). Regarding epiphyseal ossification nuclei, the distal femoral nucleus was the first to be seen, appearing in fetuses from 20 cm TDL (72% of gestational period), followed by the proximal radius nucleus in fetuses from 22.4 cm and distal epiphyses of the radius and humerus from 22.8 cm TDL. In fetuses with 24.1 cm TDL it was possible to observe the proximal and distal tibial nuclei. Finally, the proximal humeral nucleus and proximal phalanges of the thoracic and pelvic limbs and distal nucleus of the ulna, metacarpal, fibula, metatarsus in TDL  $\geq 29.3$  cm (95% of gestation time) were observed. The other secondary ossification nuclei were not identified in the studied fetuses. Based on the results obtained, this study provides data related to intrauterine bone development of collared peccary and assists in monitoring pregnancy and estimating gestational age.

**Keywords:** **biometry of bone, fetal development, obstetrics, precocity.**

## 1. Introdução

O caititu (*Pecari tajacu*) é um mamífero ungulado pertencente à ordem Artiodactyla e família Tayassuidae juntamente com a queixada (*Tayassu pecari*) e o taguá (*Catagonus wagneri*). Desses ungulados é o que apresenta a maior distribuição geográfica, com ocorrência no sul dos Estados Unidos, América Central, leste dos Andes, noroeste do Peru, norte da Argentina, Paraguai e Brasil (Sowls, 1997; Tiepolo & Tomas, 2006). Apesar de sua ampla distribuição, o caititu é uma das espécies amazônicas mais caçadas devido a apreciação de sua carne altamente palatável e do couro de qualidade utilizado para fabricação de acessórios de luxo (Nogueira-Filho & Nogueira, 2004).

Com relação aos aspectos reprodutivos, as fêmeas são poliétricas não-sazonais, ou seja, com a possibilidade de reproduzir e gerar filhotes durante o ano todo e sem época preferencial. O intervalo médio da gestação é de  $138.3 \pm 5.3$  dias (Mayor et al. 2005), e o tamanho médio da ninhada varia de um a quatro filhotes, com maior ocorrência de partos duplos (Sowls, 1997; Garcia et al. 2009). A proporção média de partos por ano é de 1.4 a 1.8 partos em fêmeas de vida livre (Gottdenker & Bodmer, 1998) e de 1.6 em fêmea de cativeiro (Nogueira Filho & Lavorenti, 1997).

Para obtenção de resultados positivos na conservação ou melhoramento genético é importante compreender que o manejo de animais silvestres requer o conhecimento do habitat e da fisiologia reprodutiva (Sowls, 1997; Gotelli, 1995). Estudos recentes, realizados em herbívoros ungulados, tais como queixadas (Andrade et al. 2018), veados (Mayor et al. 2019a) e caititu (Mayor et al. 2019b), demonstraram a precocidade dessas espécies no desenvolvimento intra-uterino, mediante avaliação dos órgãos torácicos e abdominais.

Assim, avaliar o crescimento fetal auxilia no entendimento e na comparação das estratégias adotadas por diferentes espécies para otimizar as taxas de sobrevivência materna e dos filhotes (Derrickson, 1992; Clancy et al. 2001; Francioli et al. 2011).

A ultrassonografia mostrou-se útil para avaliar o aspecto reprodutivo de caititus criados em cativeiro, atuando como ferramenta valiosa para o manejo reprodutivo dessa espécie (Mayor et al. 2005). Dessa forma, é importante obter informações relacionadas à gestação para compreender o processo fisiológico do crescimento intrauterino. Entretanto, estudos anteriores não avaliaram a relação da precocidade e o desenvolvimento ósseo fetal e a atuação do sistema musculoesquelético na compreensão da história de vida dessa espécie. Nesse contexto, objetivou-se descrever o desenvolvimento gestacional do esqueleto axial e apendicular de fetos de caititus (*Pecari tajacu*), visando gerar conhecimento para fisiologia gestacional de espécies precociais.

## **2. Material e Métodos**

### **Aspectos éticos**

A pesquisa foi autorizada pelo Comitê de Ética para Experimentação em Vida Selvagem da Direção Geral de Fauna e Flora Silvestre do Peru (Licença 0229-2011-DGFFS-DGEFFS), pelo Instituto Chico Mendes para Conservação da Biodiversidade do Brasil (Licença SISBIO Nº 29092) e pelo Comitê de Ética em Pesquisas com Animais da Universidade Federal Rural da Amazônia (CEUA/UFRA protocolo 008/2016). As amostras biológicas foram enviadas para UFRA, Belém, Pará, Brasil sob licença de exportação CITES/IBAMA (No 14BR015991/DF).

### **Local e coleta de material**

O material biológico foi coletado na região da Floresta Amazônica próxima ao rio Yavarí-Mirín (RYM, S 04°19.53; W 71°57.33), que está localizado no nordeste da Amazônia Peruana, sendo uma área contínua de 107,000 ha, onde predomina floresta de terra firme. A comunidade indígena é composta por 307 habitantes e se mantém principalmente com agricultura familiar e caça e pesca de subsistência.



De 2002 a 2015, caçadores locais capturaram e doaram voluntariamente trato reprodutivo de 53 fêmeas de caititu. Os caçadores foram treinados para remover todos os órgãos abdominais e pélvicos com a região perineal e armazenar em solução de formaldeído 4% tamponado (v/v) (Mayor et al. 2017). Todas as amostras coletadas foram oriundas de caça de subsistência e nenhum animal foi capturado para fins desse estudo.

Os úteros foram dissecados e os embriões e fetos foram coletados para avaliação comprimento total dorsal (TDL), do comprimento crânio caudal (CRL) e da massa corporal. O TDL foi obtido por fita métrica (0.1 mm de precisão) percorrendo totalmente o dorso do animal. O CRL foi mensurado por paquímetro (com capacidade total de 300 mm) posicionado entre os olhos e o início da cauda, enquanto a massa corporal foi obtida em balança digital (0.1 g de precisão). O estágio gestacional dos embriões e fetos foram determinados de acordo com o Comitê Internacional de Nomenclatura Embriológica Veterinária (2017).

### **Avaliação ultrassonográfica**

Os exames ultrassonográficos em modo B foram realizados utilizando o aparelho My Lab<sup>TM</sup> 30Vetgold (Esaote, Genova, Itália) equipado com transdutor linear multifrequencial (10-18 MHz). Nos casos de partos gemelares, optou-se por selecionar apenas um filhote por fêmea e, dessa forma, foram examinados 7 embriões e 46 fetos. Os espécimes foram posicionados em um recipiente contendo água e com transdutor mantendo contato direto com a superfície fetal para obtenção das imagens. Um vídeo apresentando o exame ultrassonográfico está disponível como material suplementar.

Avaliou-se o crânio em corte sagital na altura da linha do tálamo para mensuração do diâmetro biparietal (BPD), diâmetro occipito-frontal (OFD) e circunferência craniana (HC). O transdutor foi posicionado na superfície externa do osso parietal proximal e o OFD foi obtido perpendicularmente ao BPD respeitando as margens dos ossos frontal e occipital. A HC foi

mensurada por um traçado em torno da borda hiperecogênica do crânio (**Fig. 1**). A coluna vertebral foi dividida em cinco porções (cervical, torácica, lombar, sacral e coccígea) e foi examinada mediante identificação da ossificação da cabeça vertebral em corte longitudinal dorsal, enquanto as costelas foram identificadas com o transdutor posicionado em posição longitudinal ao tórax dos fetos.

### **Fig. 1**

Realizou-se o exame do membro torácico, iniciando pela região proximal do membro, com o transdutor sobre a espinha da escápula em corte longitudinal. Avaliou-se a porção ossificada, comprimento total (área mineralizada e não mineralizada) e largura na extremidade distal do osso em contato com a articulação escapulo-umeral. Em seguida, avaliou-se sucessivamente o úmero, o rádio e a ulna mantendo o eixo do transdutor o mais próximo possível de um ângulo reto com a estrutura óssea, observando-se as epífises cartilaginosas. Foram mensurados a região hiperecoica (diáfise), região hipoecoica das extremidades proximal e distal (epífises), largura e os núcleos de ossificação. A região do carpo foi avaliada considerando a presença ou ausência dos ossos, contabilizando as estruturas identificadas. Por último, avaliou-se a região ossificada do metacarpo e das falanges (proximal, média e distal) (**Fig. 2**).

### **Fig. 2**

O exame do membro pélvico foi conduzido de forma semelhante ao realizado no membro torácico, avaliando comprimento total, porção mineralizada e largura do ílio e ísquio, mensurada na extremidade em contato com o acetábulo. O exame do fêmur, tíbia e fíbula foi semelhante ao do úmero (**Fig. 3**). Além disso, verificou-se a mineralização dos ossos do carpo/tarso, sendo mensurados apenas o calcâneo e o talus. Com relação ao metacarpo, metatarso e falanges, obteve-se o comprimento e largura das diáfises.

### **Fig. 3**

Para a identificação dos núcleos de ossificação secundários, orientou-se o transdutor no sentido do maior eixo da diáfise no plano longitudinal, evitando-se secções oblíquas. Os núcleos foram mensurados obtendo-se o maior diâmetro possível mesmo em cortes sagitais longitudinais, diferenciando-os de material ecogênico da sinóvia ou segmentos de ossos adjacentes na articulação, posicionados perifericamente nas epífises.

### **Análise dos dados**

A idade gestacional (GA) foi estimada utilizando a fórmula proposta por Huggett & Widdas (1951),  ${}^3\sqrt{W} = a(t - t_0)$ , onde  $W$  equivale ao peso fetal a termo,  $a$  é a velocidade de crescimento fetal específica,  $t$  é a idade fetal em dias e  $t_0$  é o ponto de intercepção no eixo da idade. De acordo com esses autores,  $t_0$  corresponde a 20% do período gestacional (GP) em espécies com gestação entre 100 a 400 dias. Para uso da fórmula, foi considerado o período gestacional de 138 dias (Mayor et al. 2005), e o peso médio ao nascimento de 668g, após realizar a média dos valores encontrados em diversos estudos (Garcia et al. 2005; Mayor et al. 2005; Da Silva et al. 2002; Pinheiro, 2001; Nogueira Filho & Lavoreti, 1997; Nogueira, 1991; SOWLS, 1984).

As regressões logísticas que modelam a relação entre o comprimento total dorsal (TDL) e as medidas biométricas foram executadas usando o software CurveExpert 2.6 (©Copyright 2017, Daniel G. Hyams), que definiu as funções que melhor se ajustaram aos dados, considerando a origem como o dia zero de desenvolvimento fetal. Foram aplicadas regressões logísticas para estimar a probabilidade de ocorrência de mineralização de cada osso e dos núcleos secundários de ossificação em relação ao TDL utilizando o software Statistica 8.0 (StatSoft Inc., Tulsa, USA). Relações com  $P < 0.05$  foram considerados significativos. Além disso, relações alométricas entre o comprimento e a largura dos ossos longos (úmero, rádio, fêmur e tíbia) foram avaliadas em comparação ao desenvolvimento gestacional.

### 3. Resultados

A média do TDL dos embriões e fetos avaliados foi de  $14.93 \pm 8.86$  cm (variação entre 1.54 e 32.8 cm), do CRL foi de  $10.75 \pm 6.32$  cm (variação entre 1.54 e 24.1 cm) e da massa corporal foi  $174.04 \pm 199.99$ g (variação entre 0.59 e 745g). A fórmula de crescimento da idade fetal foi  $\sqrt[3]{W} = 0.079 (t - 27.6)$ , sendo 0.079 o valor de crescimento fetal específica da espécie e 27.6 equivalente a 20% do período de gestação. A idade apresentou forte associação positiva com o TDL ( $r^2 = 0.95$ ;  $p < 0.01$ ) e CRL ( $r^2 = 0.97$ ;  $p < 0.01$ ) (**Fig. 4**).

#### Fig. 4

### Ossificação do esqueleto axial

Os gráficos das curvas de probabilidades da ossificação do esqueleto axial e apendicular e as equações de probabilidade podem ser observados na Figura 5 e Tabela 1, respectivamente. Não foi observado início da mineralização dos ossos em embriões, sendo possível visualizar no crânio (occipitais, frontal e parietais) em fetos a partir de 5.3 cm de TDL (48 dias de gestação, 35% GP). A partir de 5.8 cm (50 dias, 36% GP) foi identificado mineralização da coluna vertebral na porção cervical, torácica, lombar e sacral, juntamente das costelas. No esqueleto axial, a última estrutura a ser mineralizada foi a porção coccígea da coluna que teve início em fetos com  $TDL \geq 8.1$  (58 dias, 42% GP) (**Fig. 5A**).

Fetos com  $TDL \geq 8.7$  cm (60 dias, 43% GP) apresentaram 100% de probabilidade de mineralização do crânio. A partir de  $TDL \geq 9.8$  cm (64 dias, 46% GP), os fetos apresentaram 100% de probabilidade de mineralização das porções cervical, torácica, lombar, sacral e costelas enquanto que a probabilidade de 100% de mineralização da porção coccígea foi observada com  $TDL \geq 11.8$  cm (71 dias, 51% GP).

#### Fig. 5

#### Tabela 1

### **Ossificação do esqueleto apendicular**

Com relação aos ossos do esqueleto apendicular (**Fig. 5B e 5C**), os primeiros ossos foram identificados em fetos a partir de 5.7 cm de TDL (50 dias de gestação, 36% GP), no qual foi possível observar mineralização no membro torácico (úmero) e no membro pélvico (fêmur). Posteriormente, observa-se a mineralização da escápula, rádio, ulna, ílio, ísquio, tibia e fíbula em fetos com 5.8 cm de TDL (50 dias de gestação, 36% GP).

O metacarpo e o metatarso foram visualizados em fetos com 9.7 cm de TDL (64 dias, 46% GP). As falanges proximais, médias e distais dos membros torácico e pélvico estavam mineralizadas em fetos com TDL  $\geq 13$  cm (75 dias, 54% GP). Em seguida, o púbis e o calcâneo apresentaram mineralização a partir de 13.1 cm (76 dias, 55% GP).

Os últimos ossos a se mineralizarem foram identificados no terço final da gestação, no qual se observou mineralização do talus em fetos com TDL  $\geq 17.8$  cm (91 dias, 66% GP) e nos ossos do carpo e na porção distal do tarso a partir de TDL  $\geq 22.8$  cm (109 dias, 79% GP). Não foi observada mineralização na patela.

Fetos com TDL  $\geq 9.8$  cm (64 dias, 46% GP) apresentaram 100% de probabilidade de mineralização dos ossos do membro torácico (escápula, úmero, rádio, ulna) enquanto os ossos do membro pélvico (ílio, púbis, ísquio, fêmur, tibia e fíbula) apresentam a mesma probabilidade de mineralização em fetos a partir de 14.4 cm de TDL (80 dias, 58% GP). A mineralização dos ossos longos iniciou na região central da diáfise.

### **Núcleos de ossificação secundários**

As curvas de probabilidade de ossificação dos núcleos secundários e as equações de probabilidade estão dispostas na Figura 6 e Tabela 2, respectivamente. Os núcleos de ossificação das epífises foram visualizados em fetos a partir de 20 cm de TDL. O núcleo da epífise distal do fêmur foi o primeiro a ser observado em fetos com TDL  $\geq 20$  cm (99 dias de

gestação, 72% GP). As epífises proximais do rádio apresentam início do núcleo de ossificação a partir de 22.4 cm (107 dias, 77% GP) e nas epífises distais foram observadas a partir de 22.8 cm de TDL (109 dias de gestação, 79% GP), juntamente com os núcleos distais do úmero. Em fetos com 24.1 cm de TDL (113 dias de gestação, 82% GP), foi possível observar os núcleos proximais e distais da tíbia. Por último, observou-se os núcleos proximais do úmero e das falanges proximais do membro torácico e pélvico e núcleos distais da ulna, metacarpo, fíbula, metatarso em fetos com TDL  $\geq$  29.3 cm (131 dias de gestação, 95% GP). Nenhum dos fetos estudados apresentou início de mineralização dos demais núcleos de ossificação epifisários.

**Fig. 6**

**Tabela 2**

**Medidas ósseas e a idade gestacional**

Todas as relações entre as medidas biométricas e o TDL foram significativas com altos coeficientes de determinação ( $r^2 > 0.85$ ;  $p < 0.01$ ). As medidas cranianas apresentaram fortes relações com o TDL, com o OFD apresentando o maior coeficiente de determinação ( $r^2 = 0.98$ ). Com relação ao esqueleto apendicular, a relação mais forte do comprimento total dos ossos com o TDL foi observada com o úmero ( $r^2 = 0.99$ ), enquanto que a associação entre as diáfises e TDL foram maiores na escápula, rádio, ulna, ílio, fêmur e tíbia ( $r^2 = 0.98$ ). Na relação entre TDL e largura dos ossos longos, o fêmur apresentou a maior relação ( $r^2 = 0.97$ ) seguido pelo úmero e rádio ( $r^2 = 0.96$  e  $0.94$ , respectivamente). As relações entre as medidas biométricas e o TDL de todos os ossos estudados podem ser observadas nas Figuras 7 a 12.

**Figs. 7-12.**

#### 4. Discussão

Os resultados observados revelam importantes características reprodutivas e etapas do desenvolvimento ósseo fetal em caititu que contribuem no manejo reprodutivo da espécie tanto em cativeiro quanto em vida livre, sendo útil para desenvolver práticas na avaliação ultrassonográfica do crescimento intrauterino. Além disso, o presente estudo demonstra a eficiência no uso da ultrassonografia para avaliar os esqueletos axial e apendicular relacionando-os com o comprimento corporal. Assim como observado em outros ungulados, o caititu apresenta características de alta precocialidade, com a formação de neonatos mais pesados e com avançado desenvolvimento musculoesquelético apropriado para a sobrevivência pós-natal, independência locomotora e menor dependência do cuidado materno (Derrickson, 1992; Grand, 1992).

Com base na fórmula proposta por Huggett e Widdas (1951), a velocidade de crescimento fetal específica observada em caititu ( $a=0.075$ ) é maior que a observada em espécies altriciais, tais como *Lagothrix poeppigii* ( $a=0.042$ ) (Andrade et al., 2018b). No entanto, é menor que a observada em *Tayassu pecari* ( $a=0.084$ ) (Andrade et al., 2018a), *Sus domesticus* ( $a=0.104$ ), *Bos taurus* ( $a=0.145$ ), *Ovis aries* ( $a=0.147$ ) (Huggett & Widdas, 1951), e relativamente semelhante a de *Mazama americana* ( $a=0.072$ ) (Mayor et al., 2019) e *Cuniculus paca* ( $a=0.077$ ) (El bizri et al., 2017). A presença de menor velocidade de crescimento em caititus pode ser visualizada no surgimento de menores núcleos de ossificação secundários e ausência dos núcleos secundários da epífise distal da ulna, epífise proximal do fêmur e de ossificação da patela, estrutura que foi observada no terço final de fetos de queixada (Matos, dados não publicados).

Na região Amazônica, os principais predadores naturais de caititus são grandes felinos (*Puma concolor* e *Panthera onca*) que preferem predarem animais mais jovens e com baixa capacidade de locomoção (Crawshaw & Quigley, 1991). Com o objetivo de promover o

aumento na taxa de sobrevivência de neonatos durante o período de ossificação e crescimento das epífises ósseas pós-natal, as fêmeas permanecem protegendo os filhotes juntamente com os demais componentes do grupo que demonstram receptividade aos animais mais jovens e comportamento cooperativo (Tiepolo & Tomas, 2011). Dessa forma, os filhotes e juvenis se desenvolvem precocemente, demandam menor energia materna que possui intervalos de partos mais curtos em comparação a espécies altriciais, entretanto, necessitam do cuidado parental nas primeiras semanas de vida durante o desenvolvimento dos núcleos epifisários e mineralização das superfícies ósseas nas regiões articulares.

A ultrassonografia é amplamente utilizada para mensuração do desenvolvimento fetal mediante avaliação do comprimento crânio-caudal (CRL) como ferramenta para estimativa da idade gestacional em muitas espécies domésticas (Kahn, 1989; Ogata et al., 1999; Menezes et al., 2011; Ali & Fahmy, 2008; Lee et al., 2005; Daneze et al., 2012). Assim como observado por Andrade e colaboradores (2018a), o TDL apresentou alta associação com o CRL e com a idade gestacional, atuando como método alternativo para avaliação do desenvolvimento fetal em *caititus* por não ser influenciado pelo posicionamento fetal.

Observou-se que a calcificação do esqueleto fetal é identificada primeiramente nos ossos do crânio, seguidos pelo início da mineralização da escápula, úmero e fêmur e ossificação da coluna vertebral e costelas. A mineralização do crânio de *caititus* ocorre a partir do 43º dia de gestação (31,4% do tempo de gestação), sendo possível realizar a mensuração do DBP, DOF e CC em fetos maiores que 5.3 cm. Esse resultado demonstra que a espécie apresenta mineralização mais tardia que porcos domésticos, no qual observa-se as estruturas ósseas cranianas a partir de 37 dias de gestação (25,7% do tempo de gestação) (Daneze et al., 2012). O DBP apresentou alta correlação com a idade gestacional e pode ser considerado um parâmetro fidedigno para estimativa da idade fetal devido a praticidade e viabilidade da mensuração, assim como observado por outros autores em suínos, caprinos, bovinos e



bubalinos (Daneze et al., 2012; Kahn, 1989; Menezes et al., 2011; Ali & Fahmy, 2008; Lee et al., 2005).

O desenvolvimento precoce da porção proximal do esqueleto apendicular torácico foi evidenciado pelo aparecimento da escápula e úmero mineralizados em fetos acima de 47° de gestação (34,05% do tempo de gestação). Assim como os demais ungulados, o caititu não possui clavícula e, devido sua ausência, necessita do desenvolvimento de uma potente musculatura para o suporte do peso torácico (Getty, 1986), o que pode justificar a mineralização precoce dessas estruturas em comparação aos demais ossos do esqueleto apendicular.

A mineralização da coluna, das costelas e dos demais ossos longos (rádio, ulna, tíbia e fíbula) ocorre a partir do 51° dia de gestação (36,95% do tempo de gestação). O desenvolvimento dessas estruturas ósseas no início do segundo terço de gestação é fundamental para o posicionamento e inserção dos músculos epaxiais e hipoxiais originados dos miótomos dos somitos (Gilbert, 2000; Sinowatz, 2010). Assim como observado em outros trabalhos, a diáfise dos ossos longos mostrou-se um parâmetro útil para estimativa da idade fetal, principalmente nos casos de gestações gemelares ou em fases avançadas do período gestacional no qual a mensuração do crânio ou do CRL apresenta dificuldades de execução (Daneze et al., 2012; Kahn, 1989; Ali & Fahmy, 2008).

A mineralização do metacarpo e o metatarso é observado a partir do 65° (47,10% do tempo de gestação), enquanto as falanges estão mineralizadas a partir do 84° (60,87% do tempo de gestação). O desenvolvimento precoce do metacarpo, metatarso e das falanges está relacionada ao fato de serem animais cursoriais unglígrados (Hildebrand, 1995). Dessa forma, por sustentarem o peso do corpo sobre os dedos e por necessitarem fugir de possíveis predadores, apresentam membros e falanges alongados e estreitos com capacidade de

sustentação pouco tempo após o nascimento, oferecendo aos neonatos independência na locomoção (Hildebrand, 1980; Varela, 1990).

Durante a mensuração ultrassonográfica, observou-se uma grande variação nas medidas dos núcleos secundários e por esse motivo, a idade gestacional é melhor estimada quanto a presença ou ausência de núcleos do que baseada nos valores encontrados, semelhante ao observado por Donne Jr. e colaboradores (2005). Os núcleos de ossificação secundários nas epífises dos ossos longos começaram a surgir no final do período gestacional iniciando na articulação femorotibiopatelar e úmero-radial (81,88% do tempo de gestação), seguido pela articulação cárpica, társica e metatarso-falangeana (86,95%, 89,13% e 99,27% do tempo de gestação, respectivamente). Um estudo relata que o fenótipo muscular é altamente correlacionado com o desenvolvimento das eminências ósseas, e apesar dos ossos apresentarem desenvolvimento independente do músculo, as estruturas secundárias dependem do desenvolvimento da musculatura (Huang, 2017), assim, o surgimento tardio dos núcleos secundários para formação das eminências ocorre posteriormente ao crescimento da musculatura e desenvolvimento do tendão de inserção.

Com bases nos resultados obtidos, o presente estudo demonstra a aplicabilidade da ultrassonografia como técnica para o estudo do desenvolvimento ósseo intrauterino e realização de biometria fetal para a estimativa da idade gestacional. Adicionalmente, observou-se que o *Pecari tajacu* apresenta características de uma espécie precocial com desenvolvimento de neonatos com esqueleto apto para sustentação e movimentação.

## 5. Referências

- [1] Sowls, LK. Javelines and other peccaries: Their biology, management and use. 2.ed. Tucson: Texas A&M University Press, 324p., 1997.

- [2] Tiepolo, LM; Tomas, WM. Ordem Artiodactyla. In: Reis, N. R. dos; Peracchi, A. L.; Pedro, W. A; Lima, I. P. (eds.). Mamíferos do Brasil. 2 ed. p. 293-313. Londrina: Eduel, 2006.
- [3] Garcia, AR.; Kahwage, PR; Ohashi, OM. Aspectos reprodutivos de caititus (Tayassu tajacu). Rev Bras Repr Anim, (2009), 33 (2):71-81.
- [4] Gottdenker, NL; Bodmer, RE. Reproducion and productivity of white-lipped and collared peccaries in the Peruvian Amazon. Jour Zoo, (1998), 245:423-430.
- [5] Nogueira Filho, SLG, Lavorenti, A. O manejo do caititu (Tayassu tajacu) e do queixada (Tayassu peccary) em cativeiro. In: Manejo e conservação de vida silvestre no Brasil. Belém, PA: Brasília, DF: Sociedade Civil Mimirauá, p.106-115, 1997.
- [6] Nogueira-Filho, SG. e Nogueira, SS. Captive breeding programs as an alternative for wildlife conservation in Brazil. In: Silvikins, KM, Bodmer, R. e Fragoso, JMV. (Eds.) People and nature: wildlife conservation in South and Central America, Columbia University Press, 2004. Cap. 11, p. 171-190.
- [7] Da Silva, JV; Cardoso, D; Guimarães, DA; Albuquerque, N; Le Péndu, Y; Ohashi, O. Biologia reproductiva de femeas de caititu (Tayassu tajacu) criadas em cativerio na Amazonia. Rev Bras Reprod Anim. Suplemento. (2002), 5:180–182.
- [8] Guimarães, DA, Albuquerque, NID, Le Pendu, Y, Silva, JVD; Dias, HLT. Manejo reprodutivo e produtivo do caititu (Tayassu tajacu) em cativeiro. In: Rev Ciênc Agr, (2006) 43:jun. / jul.
- [9] Albuquerque, NI; Guimaraes, DA; Le Pendu, Y; Silva, JV. Criação intensiva de caititus (Tayassu tajacu): Experiência na Amazônia Brasileira. In: Congreso Internacional Sobre Manejo De Fauna Silvestre Em La Amazônia Y Latinoamerica, 6., 2004, Iquitos. Resumos... Iquitos: WCS, DICE, UNAP, p.21-22, 2004.

- [10] Albuquerque, NI; Guimarães, DA; Le PENDU, Y; Silva, JV; Dias, HLT. Sistema de produção do caaitu (*Tayassu tajacu*), resultados de pesquisa em sistema intensivo. In: Encontro Internacional da Pecuária da Amazônia, 1. 2008, Belém. Anais... Belém: FAEPA; Instituto Frutal; SEBRAE-PA, 2008.
- [11] Gotelli, NJ. A primer of ecology. Sunderland: Sinauer, 1995.
- [12] De Andrade, RS, Monteiro, FOB, El Bizri, HR, Pantoja, L, Bodmer, R, Valsecchi, J, Mayor, P. Embryonic and fetal development of the white-lipped peccary (*Tayassu pecari*). *Theriogenology* 2018a, 119:163-174. Doi: 10.1016/j.theriogenology.2018.07.006.
- [13] Clancy B, Darlington RB, Finlay BL. Translating developmental time across mammalian species. *Neuroscience*, 2001 105(1):7-17.
- [14] Francioli ALR, Ambrósio CE, Oliveira MF, Morini AC, Favaron PO, Machado MRF et al. Os histricomorfos sul-americanos: uma análise comparativa do desenvolvimento embriológico. *Pesqui Vet Bras* 2011; 31(5):441-6.
- [15] Mayor, P, Lopez-Gatius, F, Lopez-Bejar, M. Ultrasonography within the reproductive management of collared peccary (*Tayassu tajacu*). *Theriogen* (2005), 63:1832-1843.
- [16] International Committee On Veterinary Embryological Nomenclature, Nomina embryologica veterinária, World Association of Veterinary anatomists (WAVA), Zurich, Ithaca, New York, 1994.
- [17] Huggett, A. G.; Widdas W.F. The relationship between mammalian foetal weight and conception age. *Jour Physio*, (1951), 114 (3):306-217.
- [18] Derrickson E. M. Comparative Reproductive Strategies of Altricial and Precocial Eutherian Mammals. *Funct Ecol*, 1992 6(1): 57-65.
- [19] Grand TL. Altricial and precocial mammals: a model of neural and muscular development. *Zoo Bio* 1992, 11:5-15.

- [20] Andrade RDS, Monteiro FOB, El Bizri HR, Vicente WRR, Guimarães DAA, Mayor P. Fetal development of the Poepig's woolly monkey (*Lagothrix poeppigii*). *Theriogenology* 2018b, 8(110): 34-43. doi: 10.1016/j.theriogenology.2017.12.022.
- [21] Pedro, P; Pereira, THS; De Andrade, RS; Benavent, EG; Monteiro, FOB; Bodmer, R; Valsecchi, J; El Bizri, HR. Embryonic and fetal development of the red brocket deer (*Mazama americana*). *Theriogenology* 2019; 134:53-64.
- [22] El Bizri HR, Monteiro FOB, Andrade RS, Valsecchi J, Guimarães DAA, Mayor P. Embryonic and fetal morphology in the lowland paca (*Cuniculus paca*): A precocial hystricomorph rodent. *Theriogenology* 2017; 104:7-17.
- [23] Matos SER., Bone development of fetues of White-lipped peccary (*Tayassu pecari*).  
Dados não publicados.
- [24] Crawshaw Jr., P.G., Quigley, H. Jaguar spacing, activity and habitat use in a seasonally flooded environment in Brazil. *J of Zool*, 1991 223, 357–370.
- [25] Kahn W. Sonographic fetometry in the bovine. *Theriogenology* 1989, 31 (5).
- [26] Ogata Y; Nakao T; Takahashi K; Abe, H; Misawa, T; Urushiyama, Y; Sakai, J. Intrauterine growth retardation as a cause of perinatal mortality in Japanese black beef calves. *Zent fur Vet Reihe*, 1999. 46 (6): 327-334.
- [27] Menezes MC; Léga, E; Coelho, LAF. Utilização da ultrassonografia por via transretal em vacas da raça girolando para acompanhamento do desenvolvimento embrionário e/ ou fetal 26 a 181 dias de gestação. *Nucl Anim*, 2011. 3:37-60.
- [28] Ali, A; Fahmy, S. Ultrasonographic fetometry and determination of fetal sex in buffaloes (*Bubalus bubalis*). *Anim Repr Sci*, 2008. 106(1-2):90-99.
- [29] Lee Y.; Lee O.; Cho J.; Shin H.; Choi Y. et al. Ultrasonic measurement of fetal parameters for estimation of gestational age in Korean black goats. *J Vet Med Sci* 2005. 67(5): 497-502.

- [30] Daneze ER, Léga E, Pinto ML. Fetometria ultrassonográfica em porcas gestantes como método complementar para avaliação da morfologia e determinação da idade fetal. *Nuc Anim*, 2012, 4(2).
- [31] Getty, R. SISSON; GROSSMAN. *Anatomia dos Animais Domésticos*. 5.ed. Guanabara Koogan, 1986.
- [32] Gilbert SF. *Developmental Biology*. 6th edition. Sunderland (MA): Sinauer Associates; 2000.
- [33] Sinowatz, F. Musculo-skeletal system. In: Hyttel, P.; Sinowatz, F.; Vejlsted, M. (ed.) *Domestic Animal Embryology*, Saunders Elsevier, Edinburgh, UK, 2010.
- Hidebrand, M. The adaptive significance of tetrapod gait selection. *Am Zoo* 1980. 20: 255-267.
- [34] Hildebrand, M. *Análise da estrutura dos vertebrados (tradução)*. São Paulo. Atheneu: 700p.
- [35] Varela G. *Osteología y miología de Los miembros anterior e posterior del venado de campo (Ozotoceros bezoarticus)*. Universidad de La Republica del Uruguay. 2010. 51f.
- [36] Donne HD Jr, Faúndes A, Tristão EG, de Sousa MH, Urbanetz AA (2005) Sonographic identification and measurement of the epiphyseal ossification centers as markers of fetal gestational age. *J Clin Ultrasound* 33:394–400.
- [37] Huang A.H. Coordinated development of the limb musculoskeletal system: Tendon and muscle patterning and integration with the skeleton. *Develop Bio*, 2017, 429: 420–428.

## TABELAS

**Table 1.** Logistic equations for the axial and appendicular bones parameters in 53 embryo/fetuses of collared peccary (*Pecari tajacu*).

Bones	Equations	Chi-square (Df)	P values
Axial bones (Skull; spine; ribs)	Skull	$y=\exp(-5.9923+(1.31498)*x)/(1+\exp(-5.9923+(1.31498)*x))$	38.8052(1) <0.001
	Cervical	$y=\exp(-7.7969+(1.35572)*x)/(1+\exp(-7.7969+(1.35572)*x))$	43.6749 (1) <0.001
	Thoracic	$y=\exp(-7.7969+(1.35572)*x)/(1+\exp(-7.7969+(1.35572)*x))$	43.6749 (1) <0.001
	Lumbar	$y=\exp(-7.7969+(1.35572)*x)/(1+\exp(-7.7969+(1.35572)*x))$	43.6749 (1) <0.001
	Sacral	$y=\exp(-7.7969+(1.35572)*x)/(1+\exp(-7.7969+(1.35572)*x))$	43.6749 (1) <0.001
	Coccyge	$y=\exp(-12.206+(1.49393)*x)/(1+\exp(-12.206+(1.49393)*x))$	55.2271 (1) <0.001
	Ribs	$y=\exp(-7.7969+(1.35572)*x)/(1+\exp(-7.7969+(1.35572)*x))$	43.6749 (1) <0.001
Appendicular bones (forelimb)	Scapula	$y=\exp(-6.8592+(1.3328)*x)/(1+\exp(-6.8592+(1.3328)*x))$	41.0196 (1) <0.001
	Humerus	$y=\exp(-6.8592+(1.3328)*x)/(1+\exp(-6.8592+(1.3328)*x))$	41.0196 (1) <0.001
	Radius	$y=\exp(-7.7969+(1.35572)*x)/(1+\exp(-7.7969+(1.35572)*x))$	43.6749 (1) <0.001
	Ulna	$y=\exp(-7.7969+(1.35572)*x)/(1+\exp(-7.7969+(1.35572)*x))$	43.6749 (1) <0.001
	Proximal carpus	$y=\exp(-82.467+(3.64266)*x)/(1+\exp(-82.467+(3.64266)*x))$	55.0999 (1) <0.001
	Distal carpus	$y=\exp(-21.083+(.994499)*x)/(1+\exp(-21.083+(.994499)*x))$	51.8424 (1) <0.001
	Metacarpus	$y=\exp(-15.286+(1.58772)*x)/(1+\exp(-15.286+(1.58772)*x))$	61.9896 (1) <0.001
	Proximal falanges	$y=\exp(-21.817+(1.79427)*x)/(1+\exp(-21.817+(1.79427)*x))$	69.6152 (1) <0.001
	Middle falanges	$y=\exp(-21.817+(1.79427)*x)/(1+\exp(-21.817+(1.79427)*x))$	69.6152 (1) <0.001
	Distal falanges	$y=\exp(-21.817+(1.79427)*x)/(1+\exp(-21.817+(1.79427)*x))$	69.6152 (1) <0.001
Appendicular bones (hind limb)	Ilio	$y=\exp(-7.7969+(1.35572)*x)/(1+\exp(-7.7969+(1.35572)*x))$	43.6749 (1) <0.001
	Ischium	$y=\exp(-7.7969+(1.35572)*x)/(1+\exp(-7.7969+(1.35572)*x))$	43.6749 (1) <0.001
	Pubis	$y=\exp(-19.255+(1.72256)*x)/(1+\exp(-19.255+(1.72256)*x))$	57.1387 (1) <0.001
	Femur	$y=\exp(-6.8592+(1.3328)*x)/(1+\exp(-6.8592+(1.3328)*x))$	41.0196 (1) <0.001
	Tibia	$y=\exp(-7.7969+(1.35572)*x)/(1+\exp(-7.7969+(1.35572)*x))$	43.6749 (1) <0.001
	Fibula	$y=\exp(-7.7969+(1.35572)*x)/(1+\exp(-7.7969+(1.35572)*x))$	43.6749 (1) <0.001
	Calcaneus	$y=\exp(-12.397+(.930626)*x)/(1+\exp(-12.397+(.930626)*x))$	59.4665 (1) <0.001
	Talus	$y=\exp(-42.837+(2.4294)*x)/(1+\exp(-42.837+(2.4294)*x))$	63.6935 (1) <0.001
	Tarsus	$y=\exp(-82.467+(3.64266)*x)/(1+\exp(-82.467+(3.64266)*x))$	55.0999 (1) <0.001
	Metatarsus	$y=\exp(-15.286+(1.58772)*x)/(1+\exp(-15.286+(1.58772)*x))$	61.9897 (1) <0.001
	Proximal falanges	$y=\exp(-21.817+(1.79427)*x)/(1+\exp(-21.817+(1.79427)*x))$	69.6153 (1) <0.001
	Middle falanges	$y=\exp(-21.817+(1.79427)*x)/(1+\exp(-21.817+(1.79427)*x))$	69.6153 (1) <0.001
	Distal falanges	$y=\exp(-21.817+(1.79427)*x)/(1+\exp(-21.817+(1.79427)*x))$	69.6153 (1) <0.001

(Df) Degrees of freedom

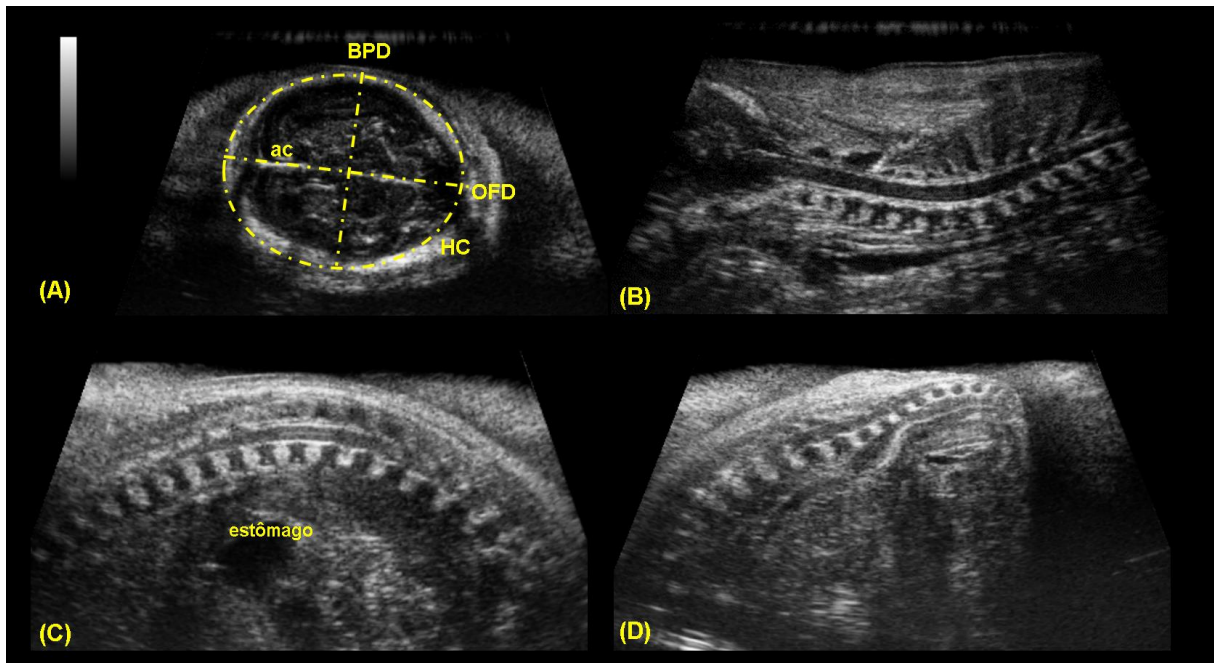
**Table 2.** Logistic equations for the secondary ossification center in forelimb and hind limb parameters in 53 embryo/fetuses of collared peccary (*Pecari tajacu*).

	<b>Bones</b>	<b>Equations</b>	<b>Chi-square (Df)</b>	<b>P values</b>
Ossification Center (Forelimb)	Humerus (proximal)	$y=\exp(-220.38+(7.84059)*x)/(1+\exp(-220.38+(7.84059)*x))$	37.436 (1)	<0.001
	Humerus (distal)	$y=\exp(-82.467+(3.64266)*x)/(1+\exp(-82.467+(3.64266)*x))$	55.099 (1)	<0.001
	Radius (proximal)	$y=\exp(-65.403+(3.12319)*x)/(1+\exp(-65.403+(3.12319)*x))$	58.914 (1)	<0.001
	Radius (distal)	$y=\exp(-82.467+(3.64266)*x)/(1+\exp(-82.467+(3.64266)*x))$	55.099 (1)	<0.001
	Ulna (distal)	$y=\exp(-190.51+(6.94552)*x)/(1+\exp(-190.51+(6.94552)*x))$	37.193 (1)	<0.001
	Metacarpus	$y=\exp(-220.38+(7.84059)*x)/(1+\exp(-220.38+(7.84059)*x))$	37.436 (1)	<0.001
	Proximal phalanges	$y=\exp(-31.872+(1.08918)*x)/(1+\exp(-31.872+(1.08918)*x))$	23.252 (1)	<0.001
Ossification Center (hind limb)	Femur (distal)	$y=\exp(-55.659+(2.81965)*x)/(1+\exp(-55.659+(2.81965)*x))$	60.050 (1)	<0.001
	Tibia (proximal)	$y=\exp(-92.587+(3.94674)*x)/(1+\exp(-92.587+(3.94674)*x))$	53.715 (1)	<0.001
	Tibia (distal)	$y=\exp(-92.587+(3.94674)*x)/(1+\exp(-92.587+(3.94674)*x))$	53.715 (1)	<0.001
	Fibula (distal)	$y=\exp(-220.72+(7.86406)*x)/(1+\exp(-220.72+(7.86406)*x))$	36.945 (1)	<0.001
	Metatarsus	$y=\exp(-220.38+(7.84059)*x)/(1+\exp(-220.38+(7.84059)*x))$	37.435 (1)	<0.001
	Proximal phalanges	$y=\exp(-34.543+(1.18755)*x)/(1+\exp(-34.543+(1.18755)*x))$	27.730 (1)	<0.001

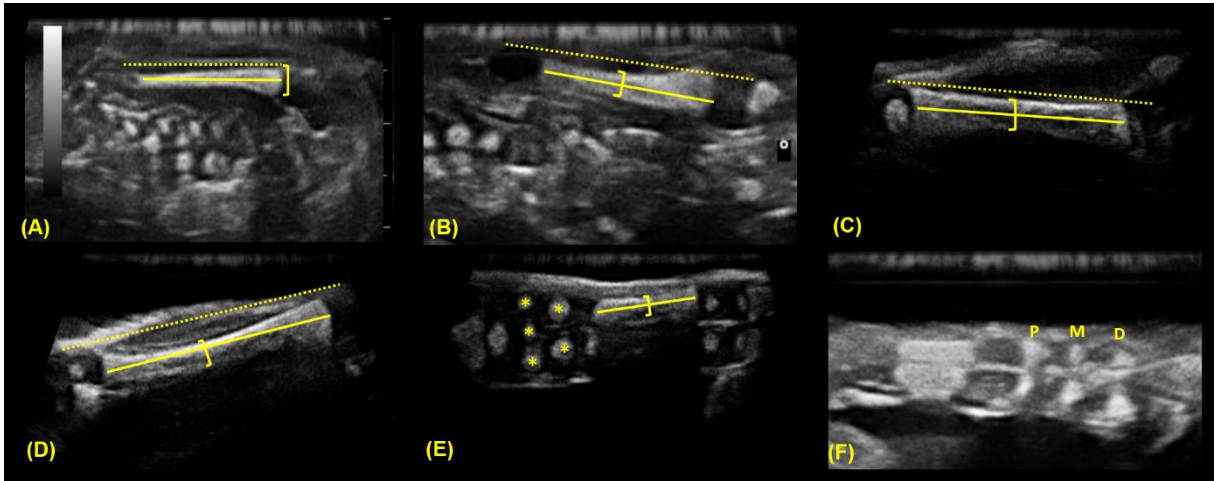
(Df) Degrees of freedom



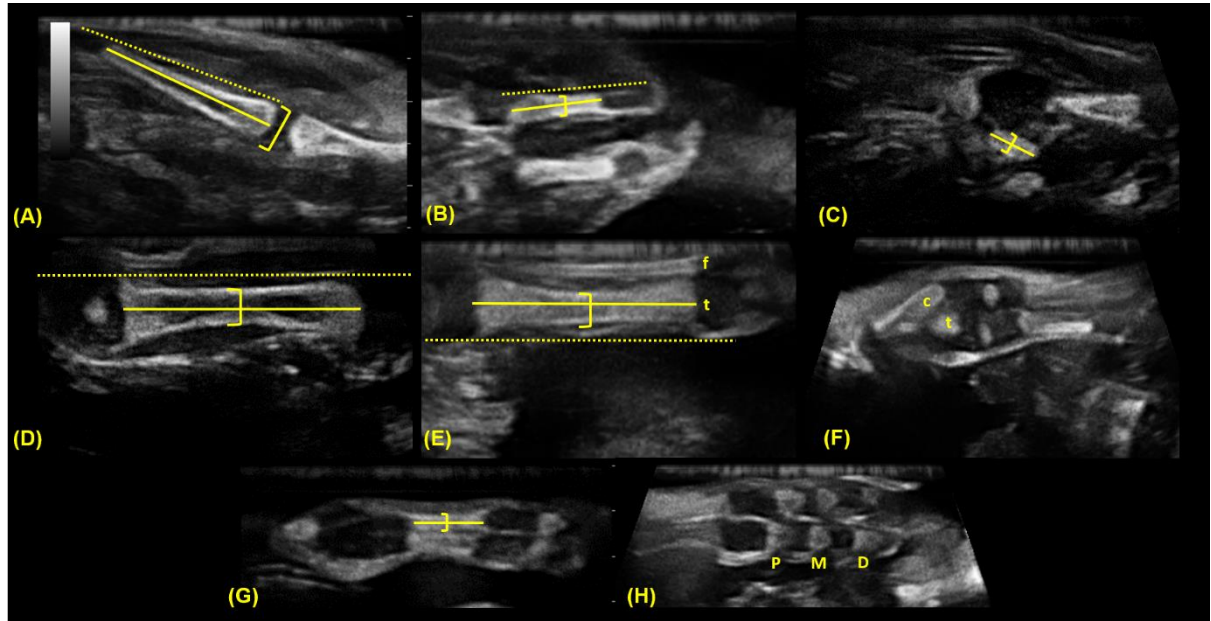
## FIGURAS



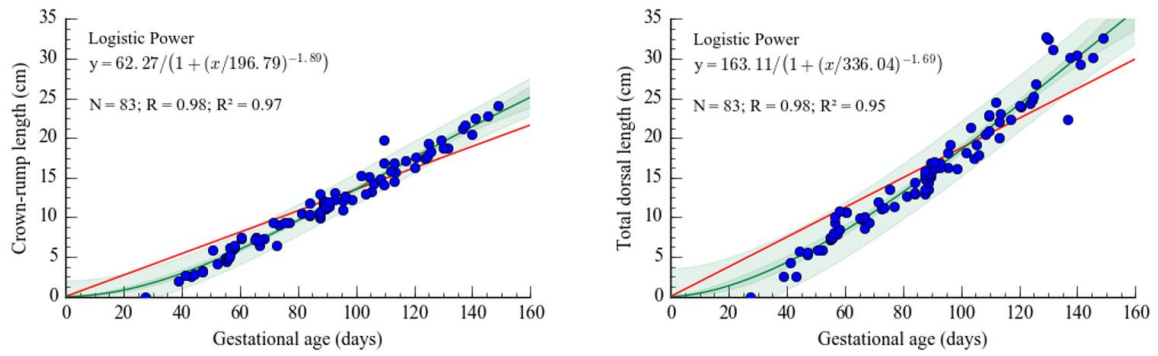
**Fig. 1.** Avaliação do esqueleto axial de feto de Caititu (*Pecari tajacu*). (A) Imagem ultrassonográfica do crânio, no plano de exame talâmico, mostrando a cisterna ambiente (ac) na seção posterior da cabeça. O diâmetro biparietal (BPD), obtido posicionando-se o feixe sonoro na superfície externa do osso parietal proximal até a porção interna distal, diâmetro occipitofrontal (OFD) obtido, perpendicularmente ao BPD. A circunferência da cabeça (HC) foi obtida no mesmo exame por um traçado ao redor da margem externa do contorno hiperecogênico na borda do crânio fetal; (B) Porção Cervical; (C) Toraco-lombar e (D) Sacral da coluna vertebral.



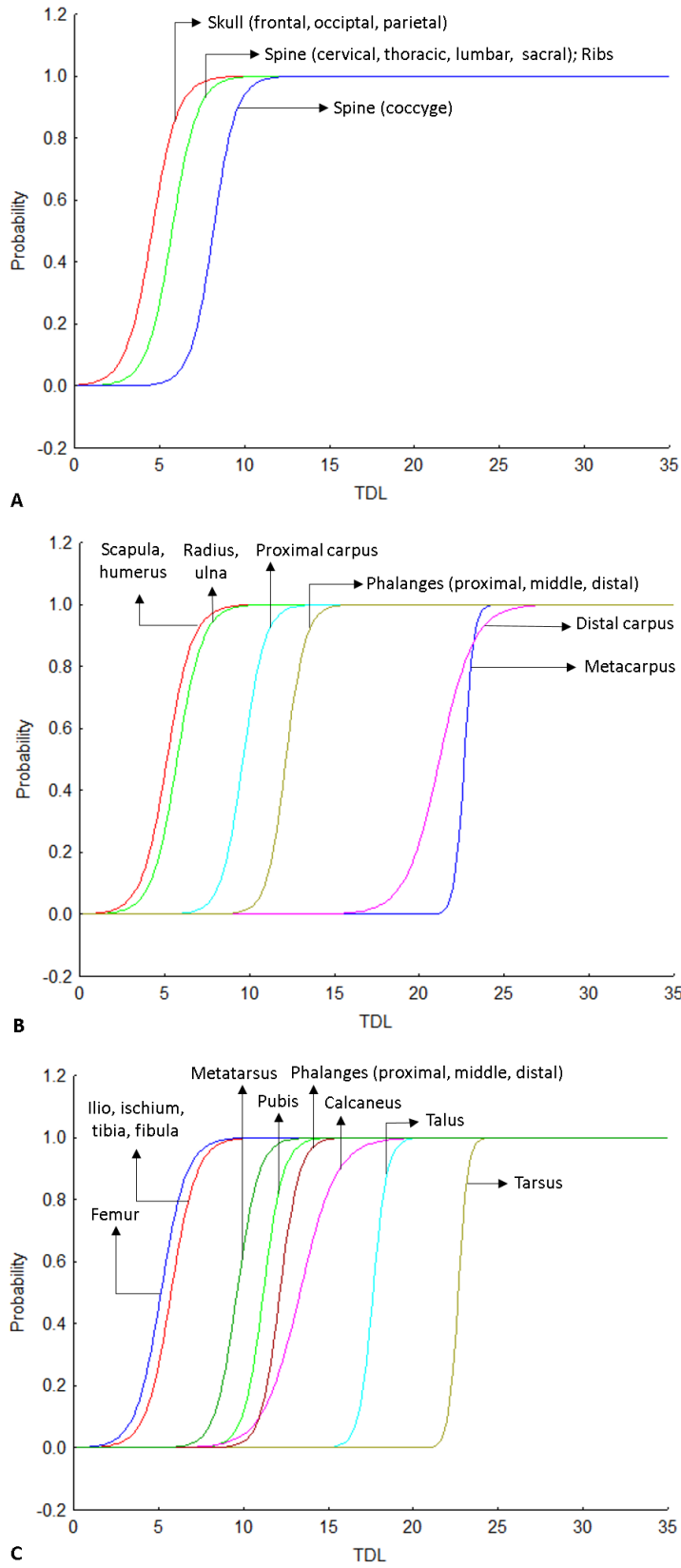
**Fig. 2.** Avaliação ultrassonográfica do membro torácico de feto de Caititu (*Pecari tajacu*). Mensuração dos parâmetros da escápula (A); Úmero (B); Rádio (C); Ulna (D); Ossos do carpo (\*) e metacarpo (E); Falanges (P - proximal, M - média e D - distal) (F). Porção ossificada/diáfise (linha contínua), comprimento total (linha pontilhada), largura (I).



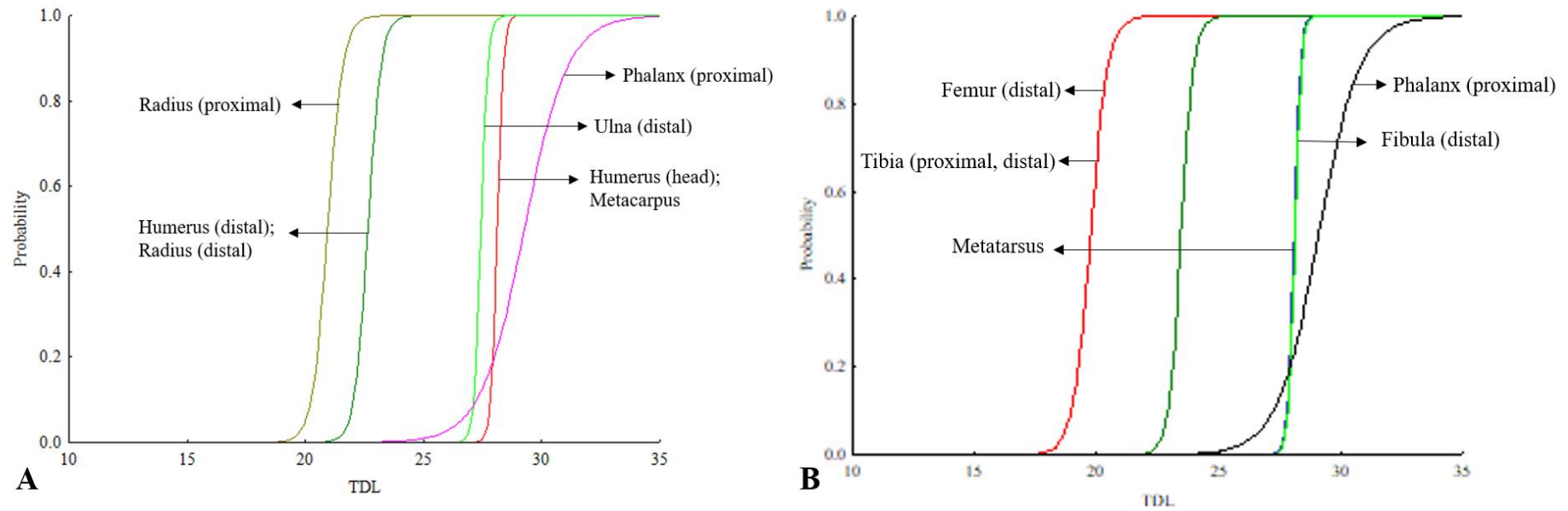
**Fig. 3.** Avaliação ultrassonográfica do membro pélvico de feto de Caititu (*Pecari tajacu*). Mensuração dos ossos da pélve: (A) ílio; (B) Ísquio; (C) Pubis; (D) Fêmur; (E) Tíbia (t) e fíbula (f); (F) Ossos do tarso [calcânio (c) e talus (t)]; (G) Metatarso; (H) Falanges (P - proximal, M- média e D- distal). Porção ossificada/diáfise (linha contínua), comprimento total (linha pontilhada), largura (}).



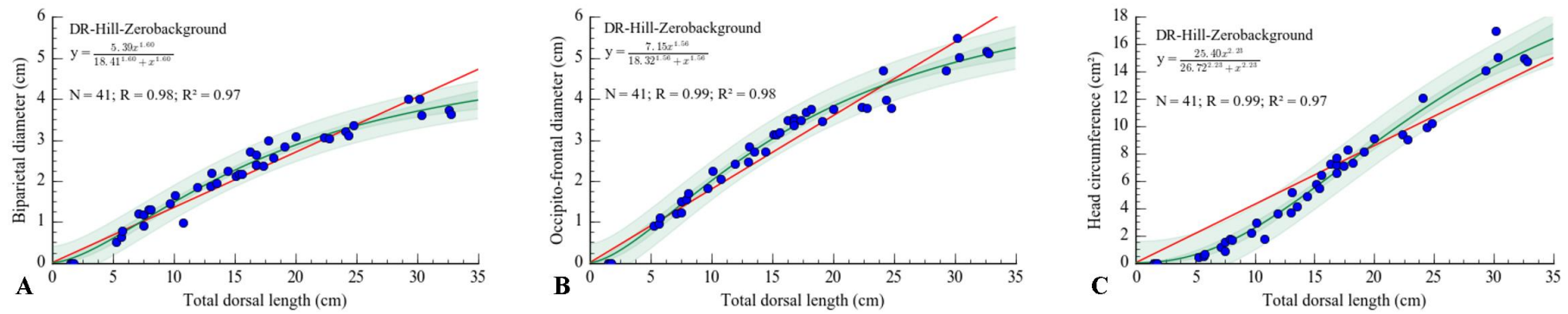
**Fig. 4.** Relação entre idade gestacional e comprimento total dorsal (TDL) e comprimento crânio-caudal (CRL) em 83 embriões/fetos de caititu (*Pecari tajacu*). A linha vermelha representa o padrão linear de crescimento esperado para CRL ( $y = 0.135x$ ) e TDL ( $y = 0.187x$ ) e a linha verde o modelo não-linear.



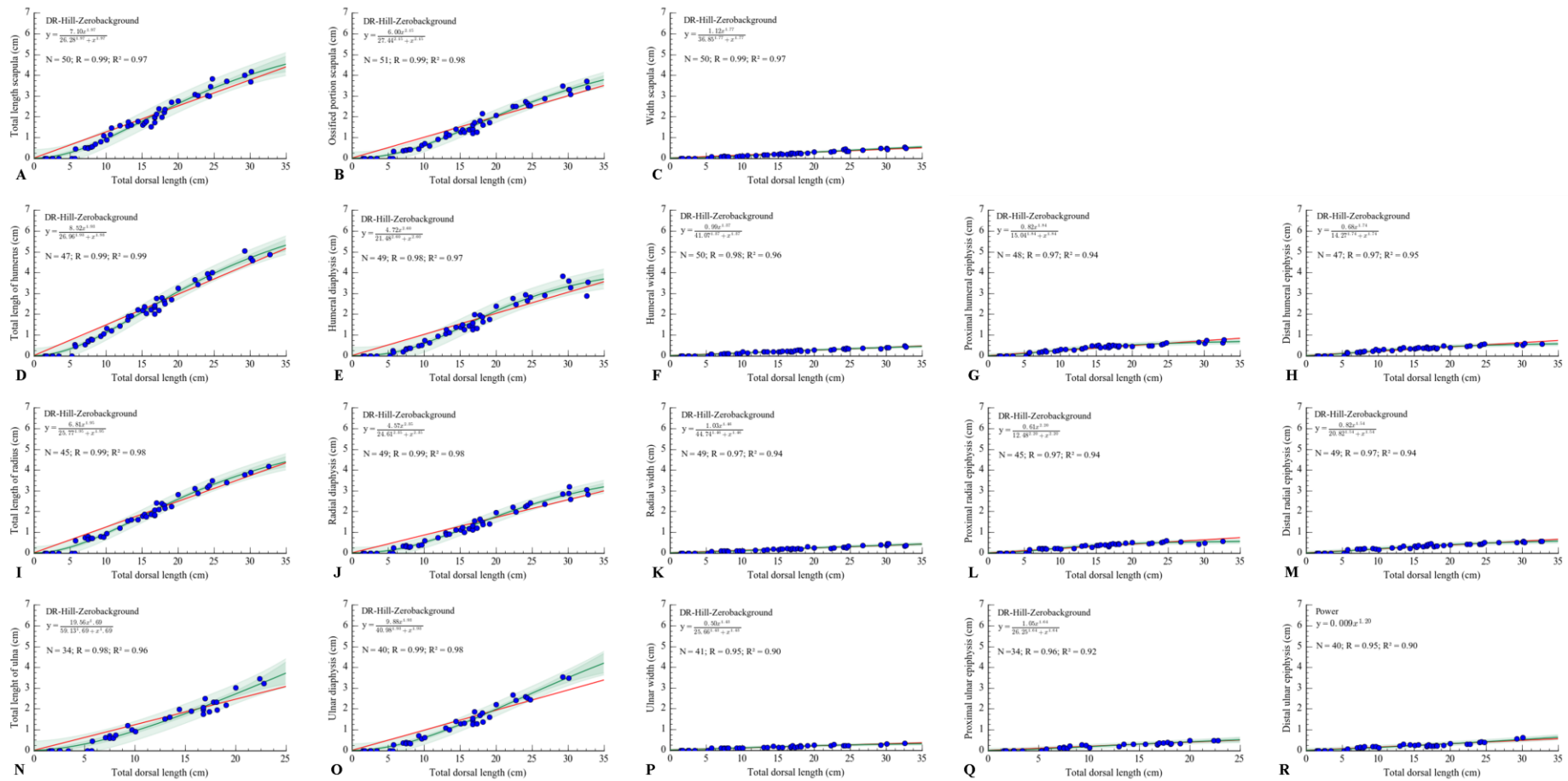
**Fig. 5.** Curvas de probabilidades para ossificação do (A) esqueleto axial e apendicular do (B) membro torácico e (C) pélvico em 53 embriões/fetos de caititu (*Pecari tajacu*).



**Fig. 6.** Curvas de probabilidades para ossificação dos núcleos secundários do (A) membro torácico e do (B) membro pélvico em 53 embriões/fetos de caititu (*Pecari tajacu*).

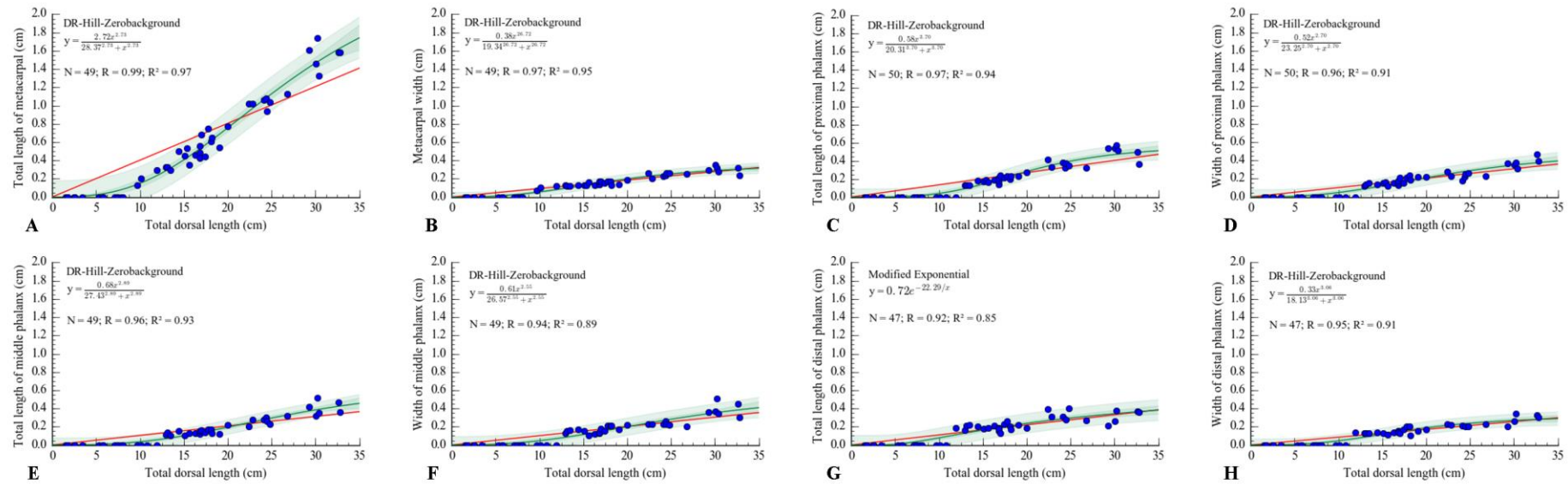


**Fig. 7.** Relação entre o comprimento total dorsal (TDL) e as medidas do crânio em 53 embriões/fetos de caititu (*Pecari tajacu*). (A) Diâmetro biparietal; (B) Diâmetro occipitofrontal; (C) Circunferência craniana. A linha verde representa o modelo não linear que melhor destaca o padrão de crescimento ósseo, enquanto a linha vermelha representa o padrão linear

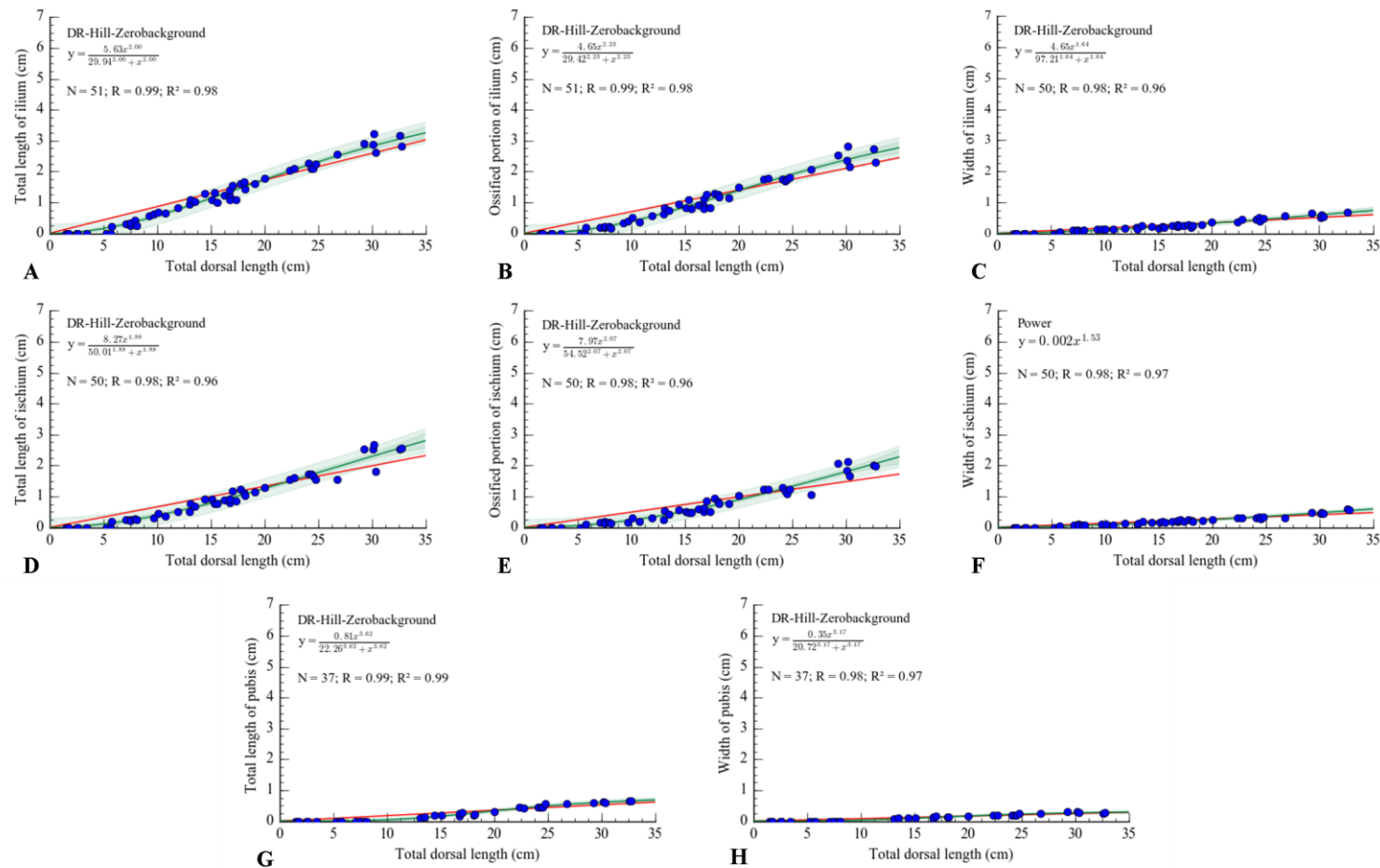


**Fig. 8.** Relação entre o comprimento total dorsal (TDL) e as medidas ósseas em 53 embriões/fetos de caimitu (*Pecari tajacu*). (A) Comprimento total, (B) porção ossificada e (C) largura da escápula; (D) Comprimento total, (E) diáfise, (F) largura, (G) epífise proximal e (H) epífise distal do úmero; (I) Comprimento total, (J) diáfise, (K) largura, (L) epífise proximal, (M) epífise distal do rádio; (N) Comprimento total, (O) diáfise, (P) largura, (Q) epífise proximal e (R) epífise distal da ulna. A linha verde representa o modelo não linear que melhor destaca o padrão de crescimento ósseo, enquanto a linha vermelha representa o padrão linear,  $p < 0.01$ .

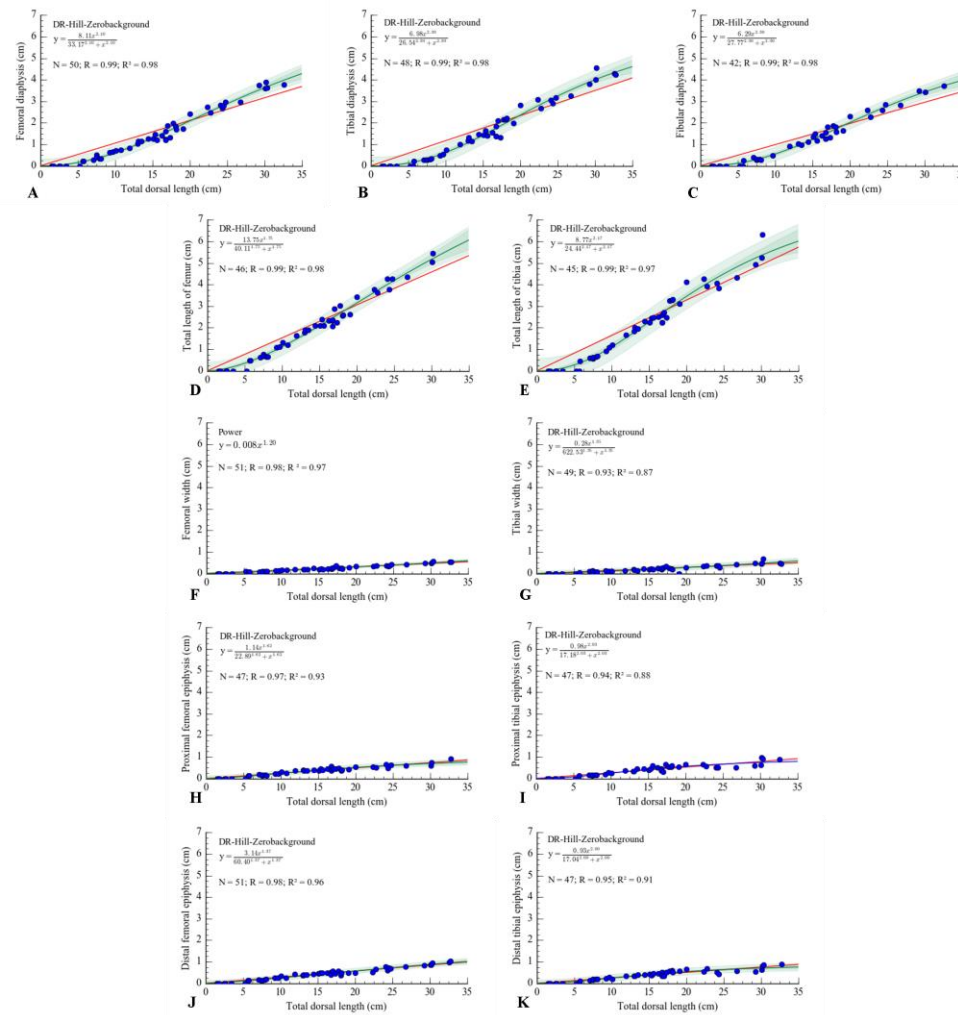




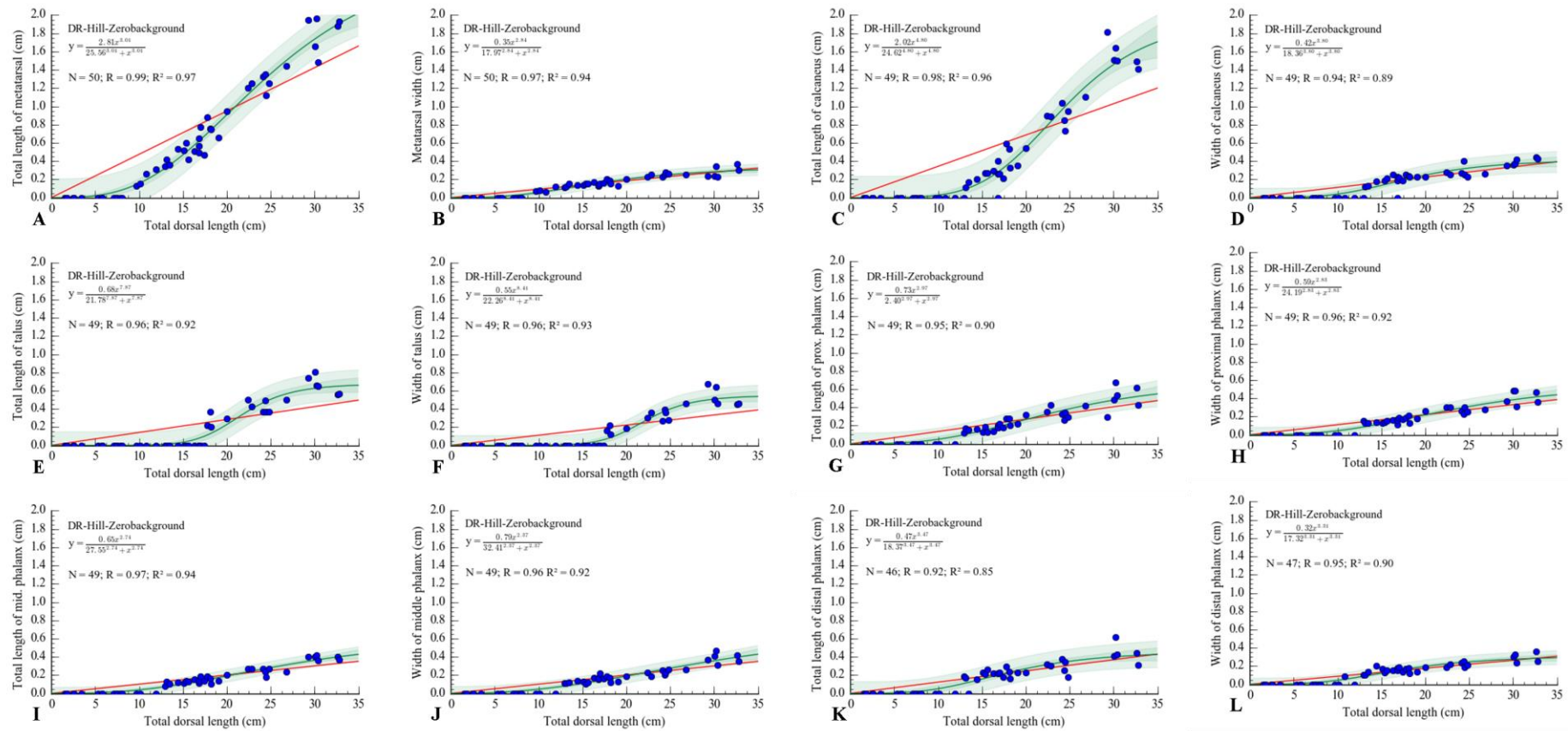
**Fig. 9.** Relação entre o comprimento total dorsal (TDL) e as medidas ósseas em 53 embriões/fetos de caititu (*Pecari tajacu*). **(A)** Comprimento total, **(B)** largura do metacarpo; **(C)** comprimento total, **(D)** largura da falange proximal; **(E)** Comprimento total, **(F)** largura da falange média, **(G)** Comprimento total, **(H)** largura da falange distal do membro torácico. A linha verde representa o modelo não linear que melhor destaca o padrão de crescimento ósseo, enquanto a linha vermelha representa o padrão linear,  $p < 0.01$ .



**Fig. 10.** Relação entre o comprimento total dorsal (TDL) e as medidas ósseas em 53 embriões/fetos de caititu (*Pecari tajacu*). (A) Comprimento total, (B) porção ossificada, (C) largura do ílio; (D) Comprimento total, (E) porção ossificada, (F) largura do ísqiuo; (G) Comprimento total, (H) largura do púbis. A linha verde representa o modelo não linear que melhor destaca o padrão de crescimento ósseo, enquanto a linha vermelha representa o padrão linear,  $p < 0.01$ .



**Fig. 11.** Relação entre o comprimento total dorsal (TDL) e as medidas ósseas em 53 embriões/fetos de caititu (*Pecari tajacu*). (A) Comprimento da diáfise femoral, (B) tibial e (C) fibular, (D) comprimento total do fêmur (E) e tibia; (F) largura do fêmur (G) e tibia, (H) epífise proximal do fêmur (I) e da tibia, (J) epífise distal do fêmur e (K) da tibia. A linha verde representa o modelo não linear que melhor destaca o padrão de crescimento ósseo, enquanto a linha vermelha representa o padrão linear,  $p < 0.01$ .



**Fig. 12.** Relação entre o comprimento total dorsal (TDL) e as medidas ósseas em 53 embriões/fetos de caititu (*Pecari tajacu*). (A) Comprimento total, (B) largura do metatarso; (C) Comprimento total, (D) largura do calcâneo; (E) Comprimento total, (F) largura do tálus; (G) Comprimento total, (H) largura da falange proximal; (I) Comprimento total, (J) largura da falange média; (K) Comprimento total, (L) largura da falange distal do membro pélvico. A linha verde representa o modelo não linear que melhor destaca o padrão de crescimento ósseo, enquanto a linha vermelha representa o padrão linear,  $p < 0.01$ .

## ANEXO

### Anexo 1. Regras para formatação de artigos da revista Theriogenology



#### AUTHOR INFORMATION PACK

#### TABLE OF CONTENTS

• Description	p.1
• Audience	p.1
• Impact Factor	p.1
• Abstracting and Indexing	p.2
• 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.

##### Benefits to authors

We also provide many author benefits, such as free PDFs, a liberal copyright policy, special discounts on Elsevier publications and much more. Please [click here](#) for more information on our *author services*.

Please see our [Guide for Authors](#) for information on article submission. If you require any further information or help, please visit our [Support Center](#)

#### AUDIENCE

Individuals involved in animal reproduction biology.

#### IMPACT FACTOR

2017: 2.136 © Clarivate Analytics Journal Citation Reports 2018

## ABSTRACTING AND INDEXING

---

Focus on: Veterinary Science and Medicine

AGRICOLA

CAB Abstracts

Global Health (Index Veterinarius, Veterinary Bulletin)

MEDLINE®

BIOSIS

Chemical Abstracts

Current Contents/Agriculture, Biology & Environmental Sciences

Elsevier BIOBASE

Science Citation Index

Derwent Biotechnology Abstracts

Scopus

## EDITORIAL BOARD

---

### *Editor-in-Chief*

**F. Gandolfi, DVM**, Istituto di Anatomia degli Animali Domestici, Milan, Italy

### *Associate Editors*

**L. Brito**, Madison, WI, USA

**M-A. Driencourt**, Astek Consult, Chateaufort sur Sarthe, France

### *Editorial Board*

**C. Aurich**, Veterinärmedizinische Universität Wien, Vienna, Austria

**M.R. Bakst**, United States Department of Agriculture (USDA), Beltsville, Maryland, USA

**I. Barrier Battut**, Ecole Nationale Professionnelle des Haras, Exmes, France

**S.J. Bedford-Guass**, Center for Regenerative Medicine in Barcelona, Barcelona, Spain

**S. Bilodeau-Goeseels**, Agriculture and Agri-Food Canada (AAFC), Lethbridge, Alberta, Canada

**R. Boni**, University of Basilicata, Potenza, Italy

**P. Comizzoli**, Smithsonian's National Zoological Park, Washington, District of Columbia, USA

**B. Gadella**, Utrecht University, Utrecht, Netherlands

**F.C. Gwazdauskas**, Virginia Polytechnic Institute & State University, Blacksburg, Virginia, USA

**K. Hinrichs**, Texas A&M University, College Station, Texas, USA

**S. Hochi**, Shinshu University, Ueda, Japan

**R. Kasimanickam**, Washington State University, Washington, USA

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

**H. Men**, University of Missouri, Columbia, Missouri, USA

**S. Nagy**, Pannon Egyetem, Veszprém, Hungary

**H. Niemann**, Institute of Farm Animal Genetics, Neustadt, Germany

**C.E. Pope**, Audubon Center for Research of Endangered Species, New Orleans, Louisiana, USA

**T. Rijseleere**, Universiteit Gent, Merelbeke, Belgium

**N. Songssen**, Smithsonian's National Zoological Park, Front Royal, Virginia, USA

**M. Thibier**, Ministère de l'Alimentation, de l'Agriculture et de la Pêche, Paris, France

**J.C. Thundathil**, University of Calgary, Calgary, Alberta, Canada

**M. Yeste**, Universitat de 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:*

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

### **Submission declaration and verification**

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract, 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. Articles should make no assumptions about the beliefs or commitments of any reader, should contain nothing which might imply that one individual is superior to another on the grounds of race, sex, culture or any other characteristic, and should use inclusive language throughout. Authors should ensure that writing is free from bias, for instance by using 'he or she', 'his/her' instead of 'he' or 'his', and by making use of job titles that are free of stereotyping (e.g. 'chairperson' instead of 'chairman' and 'flight attendant' instead of 'stewardess').

### **Contributors**

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



### Authorship

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

### Changes to authorship

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

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

### Copyright

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

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

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

#### *Funding body agreements and policies*

Elsevier has established a number of agreements with funding bodies which allow authors to comply with their funder's open access policies. Some funding bodies will reimburse the author for the gold open access publication fee. Details of [existing agreements](#) are available online.

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

### Open access

This journal offers authors a choice in publishing their research:

### Subscription

- Articles are made available to subscribers as well as developing countries and patient groups through our universal access programs.
- No open access publication fee payable by authors.
- The Author is entitled to post the [accepted manuscript](#) in their institution's repository and make this public after an embargo period (known as green Open Access). The [published journal article](#) cannot be shared publicly, for example on ResearchGate or Academia.edu, to ensure the sustainability of peer-reviewed research in journal publications. The embargo period for this journal can be found below.

#### **Gold open access**

- Articles are freely available to both subscribers and the wider public with permitted reuse.
- A gold open access publication fee is payable by authors or on their behalf, e.g. by their research funder or institution.

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

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

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

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

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

#### *Green open access*

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

This journal has an embargo period of 12 months.

#### *Elsevier Researcher Academy*

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

#### *Language (usage and editing services)*

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

#### **Submission**

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

#### *Submit your article*

Please submit your article via <https://www.elsevier.com/profile/#/THERIO/login>.

### 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.

### **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 asaa].

It is not necessary to include detailed descriptions on the program or type of grants and awards. When funding is from a block grant or other resources available to a university, college, or other research institution, submit the name of the institute or organization that provided the funding.

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

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

### **Nomenclature and units**

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

### **Math formulae**

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

### **Footnotes**

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

## Artwork

### Image manipulation

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

### Electronic artwork

#### General points

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Embed the used fonts if the application provides that option.
- Aim to use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Times New Roman, Symbol, or use fonts that look similar.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Provide captions to illustrations separately.
- Size the illustrations close to the desired dimensions of the published version.
- Submit each illustration as a separate file.

A detailed guide on electronic artwork is available.

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

#### Formats

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

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

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

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

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

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

#### Please do not:

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

#### Color artwork

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

#### Figure captions

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

#### Text graphics

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

## Tables

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

## References

### *Citation in text*

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

### *Web references*

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

### *Data references*

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

### *References in a special issue*

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

### *Reference management software*

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

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 JA, 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 JA, 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/xwj98nb39r1>.

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/jjl.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 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 lm]").
- 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**

- oögonium: 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**

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

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

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

### **Offprints**

The corresponding author will, at no cost, receive a customized Share Link providing 50 days free access to the final published version of the article on ScienceDirect. The Share Link can be used for sharing the article via any communication channel, including email and social media. For an extra charge, paper offprints can be ordered via the offprint order form which is sent once the article is accepted for publication. Both corresponding and co-authors may order offprints at any time via Elsevier's Webshop. Corresponding authors who have published their article 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>