

Análise computadorizada do espermatozoide ovino criopreservado e sua correlação com a fertilidade *in vivo*

Computerized analysis of cryopreserved ovine spermatozoa and its correlation with in vivo fertility

Gleice Mendes Xavier, Rodrigo Freitas Bittencourt*, Mariana Alves de Andrade Silva, Adrielle da Silva Lima, Felipe da Silva Neri, Maíra Planzo Fernandes, Larissa Rodrigues Santana, Marcus Vinícius Galvão Loiola, Gabriel Felipe Oliveira de Menezes

Setor de Reprodução Animal e Obstetrícia Veterinária, Departamento de Anatomia, Patologias e Clínicas, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal da Bahia, Salvador, BA, Brasil.

*E-mail: rfbvet@yahoo.com.br

Um dos maiores obstáculos no exame andrológico é a identificação de testes que possam predizer a fertilidade de determinada amostra de sêmen. Este fato é observado pela baixa correlação entre os testes in vitro e a fertilidade in vivo, descrita na literatura científica. Sendo assim, o objetivo deste estudo foi analisar a ocorrência de correlações entre os parâmetros da cinética celular obtidos através do sistema de análise espermática computadorizada (CASA) e com a fertilidade in vivo obtida após as inseminações artificiais. Para esse estudo foram utilizadas 44 amostras de sêmen criopreservadas de carneiros da raca Santa Inês submetidas ao descongelamento e avaliações espermáticas in vitro com posterior utilização in vivo em cento e setenta fêmeas ovinas em um programa de inseminação artificial. Na análise computadorizada (IVOS 12, Hamiton Thorn Biosciences, Beverly, MA, EUA) foram avaliadas as características de cinética espermática, como: motilidade total (MT, %), motilidade progressiva (MP, %), espermatozóides rápidos (RAP,%), velocidade progressiva (VSL, µm/s), velocidade curvilínea (VCL, μm/s), velocidade de trajeto (VAP, μm/s), deslocamento lateral de cabeça (ALH, µm), frequência de batimento flagelar (BCF, Hz), linearidade (LIN, %) e retilinearidade (STR, %). Para as avaliações de fertilidade in vivo, cento e setenta fêmeas ovinas foram inseminadas por laparoscopia. O programa empregado para análise estatística foi o Statistical analyses system (SAS), versão 9.0 (2002) e o estudo das médias e correlações feito através dos procedimentos MEANS e CORR, com nível de significância de 5%. Foi possível observar correlações positivas e significativas entre a MP e as velocidades espermáticas (VAP, VSL) (r=0,52 e r=0,65, P<0,0001) e entre a MP e a LIN (r=0,48, P<0,0001). Entretanto, os resultados obtidos permitem concluir que não ocorreu nenhuma correlação significativa entre as características de cinética espermática estudadas e a fertilidade in vivo. Este achado ressalta que, mesmo com a evolução das técnicas de avaliação dos padrões de cinética do espermatozoide ovino criopreservado, ainda existe restrições importantes para estimar a fertilidade espermática.

Palavras-chave: cinética espermática, ovelhas, inseminação artificial.

Keywords: spermatic kinetics, sheep, artificial insemination.



Avaliação bioquímica do sêmen total de ovinos suplementados com sêlenio

Biochemical evaluation of total semen of sheep supplemented with selenium

Eunice Oba^{1,*}, Danilo Cunha Silva¹, Marcelo Piagentini¹, Carla Fredrichsen Moya-Araujo², Luana de Cássia Bicudo³, Viviane Maria Codognoto¹, Ariane Dantas¹

¹Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia –FMVZ, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", UNESP, campus de Botucatu/SP, Brasil, distrito de Rubião Júnior, s/n, 18618-000; ²Universidade Estadual do Centro-Oeste de Medicina Veterinária, UNICENTRO, Guarapuava, PR, Brasil; ³Departamento de Reprodução Animal (PPGRA) da FMVZ-USP, São Paulo, SP, Brasil. *E-mail: euniceoba@fmvz.unesp.br

A ovinocultura é uma atividade econômica em constante crescimento no Brasil. Por ser fonte de renda para pequenos e médios produtores, a busca de melhorias na eficiência produtiva e reprodutiva do rebanho se tornou a meta de criadores. Isto tem sido alcançado através do uso de biotecnologias como inseminação artificial, congelamento de sêmen e transferência de embrião. A qualidade do sêmen influencia diretamente na melhoria do plantel, sendo que a deficiência mineral interfere na produtividade do rebanho levando a baixa produção de leite, diminuição da resistência a doenças e no crescimento, depravação do apetite, má formação óssea e principalmente em baixo índice de fertilidade. Com base na literatura, existem poucas informações sobre os componentes bioquímicos e minerais no sêmen de ovinos suplementados com selênio. Dessa forma, o presente estudo teve como objetivo determinar a análise bioquímica de frutose e ácido cítrico e a concentração de potássio, sódio, cálcio, manganês, chumbo, zinco, enxofre e selênio no sêmen. Utilizaram-se 30 ovinos machos em idade reprodutiva, alimentados com feno e ração em sistema intensivo (baias), sendo distribuídos em cinco grupos experimentais (seis animais/grupo) suplementados com sal mineral contendo respectivamente: grupo controle (GC; 0 mg/Se), grupo 1 (G1; 5mg/Se); grupo 2 (G2; 10 mg/Se); grupo 3 (G3;15 mg), grupo 4 (G4; 20 mg/Se). Estes passaram por um período de adaptação de 14 dias e foram posteriormente tratados com suplemento mineral comercial (Ovisal®) com adição de selênio nos respectivos grupos por 56 dias. Amostras de sêmen foram colhidas por eletroejaculação após o término de cada tratamento e avaliadas através das recomendações do CBRA (1998). Para a determinação da frutose foi utilizada a técnica descrita por Pereira e Janini, 2001 e ácido cítrico por Saffran e Densted (1948). As concentrações de sódio, potássio e cálcio foram determinadas pela técnica de íons seletivos, zinco e manganês pela técnica de absorção atômica em chama e selênio e chumbo por absorção atômica em forno de grafite. O delineamento do projeto foi elaborado através de um quadrado 5x5, ou seja, cinco tratamentos e cinco períodos experimentais ou repetições. Os dados foram analisados utilizando o processo GLM descrito no SAS (1999). A suplementação com selênio não interferiu na concentração de frutose e ácido cítrico no sêmen total dos ovinos nos grupos tratados, tendo uma variação média de 25,85 a 33,15mg/dL e 5,49 a 6,26mg/dL respectivamente. Em relação às concentrações de potássio, sódio, cálcio, selênio, zinco, manganês, enxofre e chumbo, estas também não apresentaram diferenças estatísticas. As concentrações variaram entre 9,30 a 10,90mmol/L para potássio, 133,46 a 136,98mmol/L sódio, 0,49 a 0,52mmol/L para cálcio, 0,035 a 0,038 µg/dL selênio, 0,27 a 0,32mg/L zinco, 0,28 a 0,39mg/L manganês, 14,56 a 18,12mg/L enxofre, 1x10⁻³ de chumbo. Concluímos que nenhum parâmetro bioquímico foi alterado pela ingestão de diferentes concentrações de selênio adicionado na alimentação de ovinos.

Palavras-chave: carneiro, frutose e ácido cítrico, sódio e potássio, zinco e manganês, enxofre e

Keywords: sheep, fructose and citric acid, sodium and potassium, zinc and manganese, sulfur and lead.



Avaliação da aplicabilidade das técnicas: Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) e Imunodifusão em Gel de Ágar (IDGA), para o diagnóstico da brucelose ovina

Evaluation of the applicability of the techniques: Polymerase Chain Reaction (PCR) and Agar Gel Immunodiffusion (AGID), for the diagnosis of ovine brucellosis

Ana Lys Bezerra Barradas Mineiro^{1,*}, Letícia Soares de Araújo Teixeira², Misael das Virgens Santana³, Gustavo Henrique Chaves Martins³, Francisco Felipe Fereira Soares⁴

¹Professora do curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Piauí, Campus Universitário Ministro Petrônio Portella, Bairro Ininga, Teresina, PI, Brasil; ²Médica-veterinária, Mestranda, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal do Piauí, Campus Universitário Ministro Petrônio Portella, Bairro Ininga, Teresina, PI, Brasil; ³Médicos veterinários, Residentes, Programa de Residência Multiprofissional em Medicina Veterinária, Universidade Federal do Piauí, Campus Universitário Ministro Petrônio Portella, Bairro Ininga, Teresina, PI, Brasil; ⁴Graduando do curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Piauí, Campus Universitário Ministro Petrônio Portella, Bairro Ininga, Teresina, PI, Brasil.

*E-mail: lysbarradas@yahoo.com.br

A brucelose na espécie ovina tem recebido destaque, por ser uma enfermidade que acomete o sistema reprodutivo dos animais, desencadeando abortamentos, nascimento de cordeiros fracos e entre outros distúrbios reprodutivos. Estes problemas têm trazido sérios prejuízos a ovinocultura brasileira. Devido a isso há a necessidade de desenvolvimento e aplicação de métodos diagnósticos eficazes e seguros que proporcionem um melhor controle da enfermidade, minimizando as perdas no setor produtivo. Objetivou-se através do estudo a avaliação e a aplicabilidade das técnicas, PCR e IDGA como método de diagnóstico para a brucelose ovina. Para tanto, utilizou-se 311 ovinos de ambos os sexos com idade de seis meses a um ano, oriundos de propriedades de dez municípios da microrregião homogênea de Teresina-Piauí. Coletou-se amostras de sangue dos 311 animais, e desse total também foram coletadas 100 amostras de urina. As amostras de urina foram submetidas a técnica de PCR para detecção de B. ovis nos animais com maior interesse clínico (machos reprodutores e algumas fêmeas). As amostras de sangue foram submetidas a técnica de IDGA visando detectar anticorpos anti-B. ovis. Após coleta, as amostras foram armazenadas e conduzidas ao laboratório de Fisiopatologia da Reprodução Animal (LFRA) na Universidade Federal do Piauí (UFPI). Em seguida foram adequadamente processadas para realização dos testes. Obteve-se como resultado na prova de IDGA 53 (17%) animais reagentes. Na técnica de PCR para detecção de DNA de B. ovis a partir de amostras de urina, foi obtido como resultado, 6 (6%) animais positivos. Houve três animais igualmente reagentes em ambos os testes, assim, foi possível verificar a concordância entre as técnicas, contudo, foi considerada fraca. Outra pesquisa desenvolvida com o objetivo de diagnosticar a brucelose ovina em rebanhos ovinos por meio de PCR em amostras de urina e IDGA, obteve como resultado, dezoito (20%) animais positivos na PCR de um total de 90 ovinos estudados, e 16 (17,8%) animais positivos na IDGA (Costa et al. 2012. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., 64, 751-754). Os resultados obtidos na PCR neste estudo discordam, uma vez que obteve-se um total inferior de animais positivos. Vale ressaltar que a avaliação das técnicas, PCR e IDGA neste estudo, demonstraram favorável aplicabilidade como método de diagnóstico, e podem ser consideradas como alternativa na complementação do diagnóstico da infecção por B.ovis.

Palavras-chave: ovinos, IDGA, PCR.

Keywords: sheep, IDGA, PCR.



Avaliação da Cinética Assistida por Computador (CASA) de espermatozoides ovinos criopreservados recuperados da cauda de epidídimos mantidos à temperatura ambiente (18-25°C) até 48 horas após a morte

Computer-assisted Sperm Analysis of frozen ovine spermatozoa recovered from epididymides stored at room temperature (18-25°C) for up to 48 hours after death

<u>Tácia Gomes Bergstein-Galan</u>^{1,*}, Romildo Romualdo Weiss¹, Ana Claudia Machinski Rangel de Abreu¹, Eduarda Maciel Busato¹, Sony Dimas Bicudo²

¹Programa de Pós-graduação Engenharia em Bioprocessos e Biotecnologia, UFPR, Curitiba, PR, Brasil; ²Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária, FMVZ/UNESP, Botucatu, SP, Brasil. *E-mail: tacia@alamos.com.br

A preservação de gametas após a morte de um animal geneticamente importante é a última ferramenta de preservação de genótipos superiores. Entretanto o período pelo qual os animais mortos podem permanecer expostos à temperatura ambiente sem que haja decréscimo da qualidade espermática após a criopreservação ainda não está bem elucidado. O objetivo deste trabalho foi avaliar a cinética de espermatozoides epididimários ovinos após descongelação quando os epidídimos foram mantidos à temperatura ambiente (18-25°C) por 48 horas após a morte, usando como controle sêmen descongelado coletado em vagina artificial (VA). Os parâmetros de motilidade total (MT,%), motilidade progressiva (MP,%), velocidade de trajeto (VAP, µm/s), velocidade progressiva (VSL, m/s), velocidade curvilinear (VCL, µm/s), amplitude de deslocamento lateral de cabeça (ALH, µm), frequência de batimentos do flagelo (BCF, Hz), retilinearidade (STR, %) e linearidade (LIN, %) foram avaliados no momento da descongelação do sêmen colhido em VA e 0 (G0), 12 (G12), 24 (G24) e 48 (G48) horas após a morte. Foram utilizadas as médias ± desvio padrão das amostras analisadas. A MT dos grupos AV(56,3 \pm 22,5°), G0(34,1 \pm 26,9°b), G12(38 \pm 23,2°b) e G24(28,6 \pm 17,9^{ab}) não diferiu porém{ XE "TM:motilidade total" } diminuiu (P<0,05) no G48 (6,1 \pm 7,0^b). A MP{ XE "PM:motilidade progressiva" } foi maior (P<0,05) no grupo AV (26.8 ± 14.3^{a}) quando comparado às amostras recuperadas após a morte (G0: 11.7 ± 9.8^{b} ; G12: 3.1 ± 3.8^{bc} ; G24: 2.1 ± 1.7^{bc} ; G48: 0 ± 1.7^{bc} 0°). ALH, BCF, STR e LIN não diferiram entre os grupos AV, G0, G12 e G24, porém, valores menores (P<0,05) foram observados no G48. A VSL foi superior (P<0,05) no grupo AV (76,2±12,5a) quando comparado a todos os grupos de amostras recuperadas dos epidídimos (G0: 57,1±5,9^b; G12: 35,2±7,5°; G24: 37,9±7,9°; G48: 14,7±12,6°d). A VAP e VCL dos grupos AV (VAP:95,6±13,5°a; VCL:187,0±22,7^a) e G0(VAP: 74,7±10,3^a; VCL:159,7±18,0^{ab}) não diferiram entre si e foram maiores (P<0.05) quando comparados ao $G12(VAP: 54.6\pm9.5^b; VCL: 121.4\pm15.2^b), G24(VAP:57.6\pm6.8^b;$ VCL: $122,1\pm9,2^{b}$) e G48(VAP: $29,3\pm27,6^{c}$; VCL: $66,2\pm59,4^{c}$). O G48 teve a menor (P<0,05) VAP quando comparado a todos os outros grupos. A cinética dos espermatozoides recuperados da cauda de epidídimos até 24 horas após a morte é similar à cinética de ejaculados descongelados coletados em VA, porém a MP é maior nos ejaculados provavelmente pela presença de gotas citoplasmáticas nos espermatozoides recuperados dos epidídimos. O G48 apresentou valores cinéticos muito baixos e insatisfatórios para o uso na inseminação artificial. Concluímos que o período post mortem tem efeito sobre a cinética espermática, porém epidídimos ovinos podem permanecer expostos à temperatura ambiente até 24 horas após a morte e ainda assim mantém valores cinéticos aceitáveis após a descongelação.

Palavras-chave: epidídimos, cinética espermática, temperatura ambiente.

Key words: epididymides, sperm kinematics, room temperature.



Avaliação da fertilidade na inseminação artificial laparoscópica por deposição unilateral e bilateral de sêmen ovino

Evaluation of fertility in laparoscopic artificial insemination by unilateral and bilateral deposition of ovine semen

<u>Felipe da Silva Neri</u>^{1,*}, Rodrigo Freitas Bittencourt², Antônio de Lisboa Ribeiro Filho², Mariana Alves de Andrade Silva³, Gleice Mendes Xavier¹, Adrielle da Silva Lima¹, Maíra Planzo Fernandes¹, Karita da Mata Fuchs¹

¹Graduandos em Medicina Veterinária, Universidade Federal da Bahia, Salvador, BA, Brasil; ²Professor de Reprodução Animal do curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal da Bahia, Salvador, BA, Brasil; ³Mestranda em Ciência Animal nos Tópicos, Universidade Federal da Bahia, Salvador, BA, Brasil.

*E-mail: rfbvet1@gmail.com

Apesar da possibilidade da espécie ovina apresentar múltiplas ovulações, sabe-se que a taxa de ovulação em ovelhas Santa Inês submetidas à protocolos de sincronização varia de 1,00 a 1,13 (Venturini et al. 2016. Semina, 37:145-157). Assim, considerando-se que a maioria das ovulações ocorrem em apenas um dos ovários e como a avaliação prévia, seja por ultrassonografia ou mesmo por laparoscopia, para direcionamento da inseminação laparoscópica (IAL) no corno ipsilateral à ovulação, torna o programa de inseminação mais oneroso e mais trabalhoso, a metodologia empregada usualmente é a inseminação em ambos os cornos, bipartindo a dose inseminante. Tais procedimentos fazem com que a IAL leve mais tempo para sua execução, além de aumentar o processo inflamatório local, já que o útero é perfurado duas vezes pela pipeta de inseminação. Assim, o objetivo desse estudo foi avaliar a diferença na taxa de concepção e no número de cordeiros nascidos com a IAL unilateral ou bilateral. Para este estudo foram utilizadas 42 ovelhas Santa Inês, que em dia aleatório do ciclo estral (dia 0) receberam um implante intravaginal com 0,33g de progesterona, no dia 5 foram administradas 300 UI de eCG im., além de 12,5 mg de PGF2α im. No dia 6 os implantes intravaginais foram removidos e no dia 7 administrados 200 UI de hCG im. Em seguida, os animais foram mantidos em jejum hídrico e sólido, até a inseminação com sêmen criopreservado, realizada por laparoscopia 52 horas após a retirada dos implantes. As fêmeas foram divididas em dois grupos experimentais. No grupo 1 (n=18) a IAL foi realizada elegendo aleatoriamente um dos cornos uterinos para deposição de toda a dose de sêmen. No grupo 2 (n=24) a IAL foi bilateral, dividindo a dose de sêmen nos dois cornos uterinos. O diagnóstico de gestação foi feito 30 dias após a IAL, utilizando ultrassonografia modo B, tendo como diagnóstico positivo a visibilização do embrião com presenca de batimento cardíaco. Para a análise estatística foi utilizado o pacote estatístico SAS, versão 9.0 (2002). O teste de qui-quadrado foi empregado para avaliar se houve diferença nas taxas de concepção (TC) entre os grupos. O número de cordeiros nascidos, de acordo com a IAL uni ou bilateral, foi submetido ao teste de normalidade (Shapiro Wilk), sendo em seguida realizado o teste de Kruskal-Wallis, objetivando verificar ocorrência de diferença (P<0,05) entre os grupos. Foi verificada diferença (P=0,002) para a TC entre os grupos, com 94,4 % para o grupo 1 de e 50,0% para o grupo 2. O número de cordeiros nascidos não diferiu (P>0,05) entro o grupo 1 (1,36 \pm 0,50) e grupo 2 (1,63 \pm 0,67). Estes resultados confirmam que a IAL realizada em apenas um dos cornos uterinos proporciona boa taxa de concepção, além de tornar mais prática e rápida a realização da inseminação laparoscópica em ovinos.

Palavras-chave: fertilização, intrauterina, laparoscopia.

Keywords: fertilization, intrauterine, laparoscopy.



Avaliação das características andrológicas de carneiros do grupo genético pantaneiro nas estações seca e chuvosa

Evaluation of andrological characteristics of rans of the pantaneiro genetic group in the dry and rainy seasons

Marcelo Henrique Fumagalli¹, Carlos Augusto Capelassi Gomes¹, Barbara Kolecha Costa², Pauline Beatriz Guidoni², Jeniffer Naryman Hirt², Flávio Antônio Barca Junior³, Luiz Fernando Coelho da Cunha Filho⁴, Fabíola Cristine de Almeida Rego⁴, Werner Okano⁴, Diego Gomes Freire Guidolin⁵, Marcos Barbosa Ferreira⁵, Flávio Guiselli Lopes⁴,∗*

¹Discentes do Programa de Mestrado em Saúde e Produção de Ruminantes da Unopar, Arapongas, PR, Brasil; ²Discentes do Curso de Medicina Veterinária da Unopar, Arapongas, PR, Brasil; ³Docente do Curso de Medicina Veterinária da Unopar; ⁴Docentes do Curso de Medicina Veterinária e do Programa de Mestrado em Saúde e Produção de Ruminantes da Unopar, Arapongas, PR, Brasil; ⁵Docentes do Programa de Mestrado em Produção e Gestão Agropecuária da Universidade Anhanguera-Uniderp, Campo Grande, MS, Brasil.
 *E-mail: flavio.lopes@kroton.com.br

Nas condições climáticas e de vegetação do Centro-Oeste brasileiro há pouca informação sobre a fertilidade e o desempenho reprodutivo dos carneiros do grupo genético pantaneiro. Considerando a grande diversidade de raças existentes, os recursos genéticos provenientes de carneiros nativos, representam uma alternativa de renda para as propriedades rurais, em função do potencial produtivo dos animais, visto a sua rusticidade e adaptação ao meio ambiente local, proporcionando produtos únicos e diferenciados. O objetivo do presente estudo foi avaliar as características andrológicas de carneiros do grupo genético pantaneiro nas estações seca e chuvosa. O presente estudo foi realizado no Centro Tecnológico de Ovinocultura, na Fazenda Escola Três Barras, Fundação Manoel de Barros/ Anhanguera-Uniderp, localizada no município de Campo Grande, no estado do Mato Grosso do Sul, Brasil. Foram utilizados quinze carneiros do grupo genético pantaneiro, hígidos adultos, com média de três anos de idade. Para a verificação da possível variação das características andrológicas entre as estações seca e chuvosa, os reprodutores foram submetidos ao exame andrológico, nos meses de junho e novembro de 2016. Além disso, foi calculado o volume e o formato testicular. Para a análise dos dados a média das variáveis estudadas entre as estações seca e chuvosa foram submetidas à análise de variância, sendo adotado nível mínimo de significância de 5%. No presente estudo, 100,0% dos carneiros foram considerados aptos ou satisfatórios, quando submetidos ao exame andrológico nas estações seca e chuvosa. A influência da época do ano nas características reprodutivas dos carneiros foi observada, revelando que durante a estação chuvosa houve diferença significativa no peso corporal, volume testicular, volume do ejaculado, turbilhão e vigor espermático. O peso corporal dos carneiros aumentou de 46,93 ± 7,28 para 55,37 ± 7,91 Kg. Do mesmo modo, o volume testicular e o volume do ejaculado evoluíram de $312,27 \pm 82,98$ e 0.89 ± 0.53 para 380.76 ± 92.78 cm³ e 1.60 ± 0.4 mL, respectivamente. Para as demais características andrológicas, perímetro escrotal; motilidade; concentração; defeitos espermáticos não foram observadas diferenças significativas entre as estações seca e chuvosa. A concentração espermática do ejaculado não mostrou diferença significativa, mas demonstrou uma tendência a ser maior durante a estação chuvosa. Em relação ao formato testicular, na estação seca, os carneiros apresentaram 66,6% dos testículos oval esférico e 33,3% longo oval. Na estação chuvosa, os carneiros apresentaram 66,6% dos testículos longo oval; 19,98% oval esférico e 13,32% longo moderado. Os resultados obtidos indicam que os carneiros do grupo genético apresentam características andrológicas que permitem a sua utilização em monta natural ou em criopreservação de sêmen durante todo o ano.

Palavras-chave: características seminais, formato testicular, fatores ambientais. *Keywords*: seminal characterístics, testicular format, environmental factors.



Circunferência escrotal e características seminais em ovinos Dorper e Santa Inês

Scrotal circumference and semen characteristics of Dorper and Santa Inês rams

Marciane da Silva Maia^{1,*}, Joelma Vasconcelos Celestino da Silva², Iralice Montenegro de Medeiros³, Cláudio Adriano Correia de Lima⁴, Carlos Eduardo Bezerra de Moura⁵

¹Pesquisadora da Embrapa Semiárido, Lotação Emparn, Parnamirim, RN; ²Doutoranda do Programa Integrado de doutorado em zootecnia, Centro de Ciências Agrárias, UFPB, Areia-PB; ³ Zootecnista, Unidade Acadêmica Especializada em Ciência Animal, UFRN, Macaíba, RN; ⁴Zootecnista, EMATER/EMPARN, Natal, RN; ⁵Prof. Adjunto, Curso de Medicina Veterinária, Depto de Ciências Animais, UFERSA, Mossoró, RN, Brasil.

*E-mail: marciane.maia@embrapa.br

A Santa Inês é a principal raça de ovinos criada no Nordeste do Brasil. No entanto, é cada vez maior a presença da raça Dorper, usada em cruzamentos para produção de carne. A avaliação da biometria testicular é de grande importância na avaliação e seleção de reprodutores, uma vez que está significativamente correlacionada com a produção espermática. Para a raça Santa Inês, tanto as características espermáticas quanto a circunferência escrotal têm sido bem estudadas, porém o mesmo não acontece para a raça Dorper. Assim, o objetivo desse estudo foi avaliar os parâmetros espermáticos e testiculares de carneiros das referidas raças. Foram utilizados 10 carneiros adultos (cinco da raça Dorper e cinco Santa Inês), criados em regime semi-intensivo na região Agreste do Rio Grande do Norte. Durante o dia os animais permaneciam em um piquete de capim Pangola (Digitaria decumbes) com acesso ao centro de manejo, onde tinham a disposição uma dieta composta de capim elefante, palma forrageira e mandioca, picados, à vontade e cerca de 750 g/animal/dia de um concentrado à base de milho, soja, torta de algodão, uréia e mistura mineral, com aproximadamente 17% de proteína bruta. O período experimental estendeu-se de 15 de fevereiro a 14 de maio. A temperatura ambiente média foi de 31,8°C e a umidade relativa do ar de 80,9%. A colheita de sêmen foi realizada em vagina artificial e a circunferência escrotal foi medida no ponto de maior diâmetro testicular utilizando-se fita métrica própria, aferida em centímetros, com precisão de 1 mm. Os dados foram coletados quinzenalmente, totalizando seis repetições por animal (N= 30/raça). Os ejaculados foram avaliados quanto ao volume, motilidade, concentração, morfologia espermática e porcentagem de vivos, usando as técnicas padrão. Os dados (média ± desvio padrão) foram submetidos à análise de variância (ANOVA) com comparação de médias pelo teste de Tukey a 95% de confiança. A circunferência escrotal média foi 35,1±1,6 cm na raça Dorper e 35,3±1,0 cm na raça Santa Inês não havendo diferença significativa (P>0,05) entre as raças. No entanto, observou-se que na raça Dorper predominou o formato testicular alongado. O volume médio do ejaculado (mL) foi: 1,3±0,4 e 0,8±0,3; a concentração espermática (x 10⁶/mL): 3160,6±1329,3 e 4117,5±1421,1; a motilidade espermática (%): 75,6±21,2 e 85,5±12,3 e o total de espermatozoides anormais (%): 31,2±23,2 e 17,7±7,4 para a raça Dorper e Santa Inês, respectivamente, com diferença significativa (P<0,05) entre raças. Não houve efeito da raça no percentual de espermatozoides vivos (P>0,05) com 82,4±8,9 e 83,0±11,4 para a raça Dorper e Santa Inês, respectivamente. Em ambas as raças, a circunferência escrotal e as características espermáticas foram semelhantes aos resultados obtidos em outros estudos e dentro dos limites preconizados pelo CBRA (Colégio Brasileiro de Reprodução Animal) para a espécie ovina, exceto para o percentual de espermatozoides anormais na raça Dorper. Porém, os dados obtidos indicam que a raça Santa Inês foi superior a Dorper em termos de características seminais, em particular, quanto a morfologia e motilidade espermática, ambas, características importantes para a fecundação. No entanto, com o objetivo de seleção de reprodutores, são necessários estudos mais aprofundados quanto a adaptabilidade e fertilidade dos animais da raça Dorper.

Palavras-chave: medidas testiculares, ovino, sêmen. *Keywords*: testicular measurements, sheep, semen.



Comparative aspects of scrotum-testicular biometry and semen of rams Santa Inês and crossbred Dorper x Santa Inês

Aspectos comparativos da biometria escroto-testicular e sêmen de carneiros Santa Inês e mestiços Dorper x Santa Inês

Antônio Francisco da Silva Lisboa Neto^{1,*}, Morgana Santos Araújo², Pedro Henrique Fonseca Silva³, Paulo Gonçalves Mariano Filho³, Jean Rodrigues de Carvalho³, Azimiro Quirino de Oliveira Neto³, Isac Gabriel Cunha dos Santos³, Amilton César dos Santos⁴, Antônio Chaves de Assis Neto⁵, Felicianna Clara Fonsêca Machado⁶, Manoel Lopes da Silva Filho⁶, Antônio Augusto Nascimento Machado Júnior⁶

¹Doutorando em Ciências, Programa de Pós Graduação em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, SP, Brasil; ²Mestre em Zootecnia, Programa de Pós Graduação em Zootecnia, Universidade Federal do Piauí, Campus Profa. Cinobelina Elvas, PI, Brasil; ³Graduando em Medicina Veterinária, Universidade Federal do Piauí, Campus Profa. Cinobelina Elvas, PI, Brasil; ⁴Pós Doutorando, Universidade de São Paulo, SP, Brasil; ⁵Professor Livre Docente, Departamento de Cirurgia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, SP, Brasil; ⁶Professor Adjunto, Universidade Federal do Piauí, Campus Profª. Cinobelina Elvas, PI, Brasil. *E-mail: lisboaneto@usp.br

This study aimed to evaluate the effect of racial crossing on the scrotum-testicular biometry and semen quality. For this, 4 rams Santa Inês and 4 crossbred (Santa Inês x Dorper) were used. The animals were aged between 12 and 24 months. They were bred in confinement, receiving elephant-grass-based diet (Pennisetum purpureum), supplemented with commercial feed for ovine, mineral salt and water ad libitum, located at 09°04'28" south latitude, 44°21'31" west longitude, average altitude 277.0 m, from march to july 2015. For the scrotum-testicular biometry and seminal evaluation, two measurements with seven-day of interval were performed. To measure the length and width a graduated caliper was used. For the scrotal circumference, a tape-measure was used. Semen was collected through electroejaculation. The volume (mL), concentration (x10⁹/mL), motility (%), vigor (0-5), turbulence (0-5) and sperm morphology were evaluated. The variables were submitted to Tukey test at 5% probability. The mean of body weight (35,5 \pm 4,49 and 39,5 \pm 0,95), length (8.2 \pm 1.6 and 7.9 \pm 0.6), width (6.2 \pm 1.5 and 6.0 \pm 0.7), scrotal circumference (29.75 \pm 4, 5 and 31 \pm 1.2), volume (0.6 \pm 0.1 and 0.8 \pm 0.2), concentration (1.3 \pm 0.4 and 1.4 \pm 0.4), motility (63, 8 \pm 6.2 and 69.4 \pm 8.3), vigor $(2.8 \pm 0.4 \text{ and } 2.8 \pm 0.5)$, turbulence $(2.8 \pm 0.5 \text{ and } 2.8 \pm 0.5)$ major $(0.8 \pm 0.8 \text{ and } 0.6 \pm 0.4)$ and minor $(5.1 \pm 2.8 \text{ and } 4.2 \pm 2.1)$ defects in Santa Inês and crossbred, respectively, presented no statistical difference. Therefore, the crossbreeding of Santa Inês and Dorper does not cause changes in scrotum-testicular biometry or seminal quality.

Keywords: circumference, crossbred, electroejaculation, reproduction, sheep. *Palavras-chave*: circunferência, cruzamento racial, eletroejaculação, ovinos, reprodução.



Correlação da viabilidade espermática *in vitro* e da fertilidade *in vivo* em ovinos submetidos à inseminação artificial com sêmen criopreservado

Correlation of in vitro sperm viability and in vivo fertility in sheep submitted to artificial insemination with cryopreserved semen

Adrielle da Silva Lima¹, Rodrigo Freitas Bittencourt^{2,*}, Marcos Chalhoub Coelho Lima², Mariana Alves de Andrade Silva³, Gabriel Felipe Oliveira de Menezes³, Gleice Mendes Xavier¹, Felipe da Silva Neri¹, Kárita da Mata Fuchs¹

¹Graduandos de Medicina Veterinária, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia (EMEVZ), UFBA, Salvador, BA, Brasil;
²Professores do Curso de Medicina Veterinária, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia (EMEVZ), UFBA, Salvador, BA, Brasil;
³Setor de Reprodução Animal e Obstetrícia Veterinária, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia (EMEVZ), UFBA, Salvador, BA, Brasil.

*E-mail: rfb@ufba.br

A busca pelas biotecnologias reprodutivas tem sido crescente no âmbito da Medicina Veterinária. Em virtude disso, atualmente, um dos maiores desafios na andrologia consiste em estimar a fertilidade do reprodutor ou do sêmen criopreservado a partir de avaliações da célula espermática, dentre elas, com o uso de sondas fluorescentes e o corante supravital eosina cujo propósito é avaliar a viabilidade espermática. Desse modo, o objetivo do presente estudo foi verificar a existência de correlações positivas entre os testes de viabilidade espermática realizadas in vitro e a sua fertilidade in vivo. Para a obtenção dos dados, foram utilizadas 44 amostras de sêmen criopreservadas submetidas à descongelamento e avaliações espermáticas in vitro com posterior utilização in vivo em cento e setenta fêmeas ovinas em um programa de inseminação artificial. A fim de analisar a viabilidade espermática, foi feita uma análise multiparamétrica das estruturas espermáticas, com a associação das seguintes sondas fluorescentes: iodeto de propídio (IMP, integridade de membrana plasmática), JC-1 (PMM, potencial de membrana mitocondrial) e PSA (IAC, integridade acrossomal), além do teste supravital utilizando o corante eosina (SV). Foi utilizado o programa estatístico (SAS), versão 9.0 (2002). A análise descritiva das variáveis (médias e desvio-padrão) e correlações foram obtidas através do procedimento MEANS e CORR, respectivamente, com nível de significância de 5%. Pôde-se observar, a partir do teste supravital, que a taxa de integridade da membrana plasmática demonstrou correlação positiva e alta significância (P<0,001) com todos os parâmetros de integridade das membranas espermáticas (IMP, IAC e PMM), assim como foi evidenciado o mesmo padrão em relação à IMP, que por sua vez, apresentou correlação positiva importante quanto aos parâmetros que avaliam os níveis de lesão do DNA espermático (r=0,34, P<0,05). Ainda, o PMM apresentou correlação (P<0,05) com os parâmetros relacionados à integridade da membrana plasmática (SV e IMP). Com exceção do PMM e IAC, constatou-se correlação positiva entre todos os parâmetros de integridade das membranas espermáticas, cujas interações evidenciadas entre IAC e SV e IAC e IMP, foram altamente positivas e significantes (r=0,71 e r=0,76, P<0,0001). O SV demonstrou eficácia para avaliação da integridade estrutural da célula, podendo ser implementado nas rotinas de campo e pesquisa devido seu baixo custo e praticidade. Entretanto, não foi verificada correlação significativa entre os testes de viabilidade espermática analisados e a fertilidade in vivo, evidenciando as dificuldades em se estabelecer testes preditores de fertilidade apesar do crescente avanço nas técnicas de avaliação espermática.

Palavras-chave: integridade de membrana, criopreservação, prenhez.

Keywords: membrane integrity, cryopreservation, pregnancy.



Correlações entre variáveis hemodinâmicas da artéria uterina em ovelhas

Correlations between hemodynamic variables in uterine artery in ewes

Gustavo Augusto Damasceno Justino¹ Renato Travassos Beltrame^{1,*}, Nilson Nunes Morais Junior², João Vitor Pagoto Careta¹, Lucas Reichelm Costa², Thales Alves Dutra Lima², Ricardo Lopes Dias da Costa³

¹Curso de Medicina Veterinária, Centro Universitário do Espírito Santo (UNESC), Colatina, ES, Brasil; ²Curso de Agronomia, Instituto Federal do Espírito Santo (IFES), Colatina, ES, Brasil; ³Instituto de Zootecnia, Nova Odessa, São Paulo, Brasil.

* E-mail:rtbeltrame@yahoo.com.br

O objetivo deste trabalho foi estimar os valores de correlação entre as variáveis hemodinâmicas associadas a artéria uterina em ovelhas. Fêmeas multíparas da raça Santa Inês (14) foram mantidas em pastagem de Panicum maximum cv. Aruana e recebendo suplementação com concentrado a base de soja e milho. As fêmeas receberam 280g/dia de concentrado (Proteina Bruta 14,27%) e foram sincronizadas mediante inserção de esponja vaginal impregnada com 60mg de medroxyprogesterona (MAP Progespon®, Intervet/Schering-Plough) e injeção intramuscular (IM) de 2,5 µg de Dcloprostenol (0.5 mL Prolise®) em um dia aleatório do ciclo estral, considerado como dia (D) 0. No sexto dia pela manhã, as esponjas foram retiradas e após 24 horas (D7) foi administrado 25 ug de lecirelina, análogo de GnRH por via IM (Gestran Plus® -Tecnopec). A IATF ocorreu entre 52 e 58 horas após retirada do implante. Dopplervelocimetria de ambas as artérias uterinas foram realizadas por ultrassonografia transretal no D0, D2, D4 e manhã do D6 a cada 48 horas, e posteriormente (D6 a noite, D7 e D8) a cada 12 horas (7 h e 19h) pelo mesmo operador com os animais em estação e sem sedação. Os parâmetros de velocidade do fluxo sanguíneo e índices Doppler foram estimados nos momentos descritos acima, incluindo a velocidade do pico da sístole (PS) (cm/s), velocidade final da diástole (ED) (cm/s), tempo médio da velocidade máxima e media (TAMAX, TAMEAN cm/s), e os índices hemodinâmicos caracterizados por índice de pulsatilidade (IP), índice de resistência (IR), relação sístole diástole (S/D), diâmetro arterial (DA) (mm) e o volume do fluxo sanguíneo (VFS) (ml/min). Os dados de avaliação da hemodinâmica foram analisados pelo coeficiente de correlação de Pearson procedimento PROC CORR do SAS considerando-se p<0,05. As variáveis ED, TAMAX, TAMEAN e VFS apresentaram todas as correlações significativas. O volume do fluxo sanguíneo apresentou correlações positivas com as variáveis hemodinâmicas (DA: 0,67; PS: 0,57, ED: 0,38, TAMAX: 0,5 e TAMEAN: 0,43) e negativa com os índices hemodinâmicos (IP: -0,19, IR: -0,17, S/D: -0,17). O VFS pode ser um sinalizador da funcionalidade uterina visto que este estima o volume de sangue no órgão por minuto. A vascularização durante o ciclo estral podem ser evidenciada por esta variável. Em situações patológicas que demonstrem restrições na vascularização uterina (fibrose, atresia, senilidade) podemos sugerir evidências de baixos valores para VFS e altos IR e IP. Sugere-se correlação negativa entre o VFS e os índices hemodinâmicos da artéria uterina.

Palavras chave: artéria uterina, ultrassonografia doppler, volume do fluxo sanguíneo.

Keywords: uterine artery, doppler ultrasound, blood flow volume.



Diagnóstico precoce de gestação de ovinos através da ultrassonografia do corpo lúteo com Doppler colorido: Resultados preliminares

Early diagnosis of pregnancy in sheep through ultrasound of the corpus luteum color Doppler: Preliminary results

<u>Jairo Pereira Neves</u>^{2,*}, Leandro Becalete Rizzoni¹, Rogério Rondineli Nóbrega^{1,3}, Miller Pereira Palhão², José Antônio Dias Garcia², Lucas Alberto Teixeira de Rezende³, Carlos Antônio de Carvalho Fernandes²

¹Doutorando do Programa de Pós-graduação em Reprodução, Sanidade e Bem Estar Animal, Universidade José do Rosário Vellano, Unifenas, Alfenas, MG, Brasil; ²Docente do Programa de Pós-graduação em Reprodução, Sanidade e Bem Estar Animal, Universidade José do Rosário Vellano, Unifenas, Alfenas, MG, Brasil; ³Setor de Pequenos Ruminantes do Instituto Federal Sul de Minas Gerais, Muzambinho, MG, Brasil.

*E-mail: jpneves@terra.com.br

A identificação do estado gestacional mais precoce aos métodos atuais, realizados em torno do 30º dia após o acasalamento, permite uma redução no intervalo de serviço, o que pode resultar em menor período para concepção e maior rentabilidade ao sistema de produção de ovinos. Objetivou-se avaliar tamanho e o padrão vascular do corpo lúteo (CL) no 17º dia (D17) após cobertura em ovelhas, e determinar a confiabilidade do uso da ultrassonografia em modo Doppler colorido (CD) como diagnóstico preditivo de animais não gestantes. Foram utilizados animais cruzados Dorper com Santa Inês (n=62), que tiveram o estro sincronizado. O D0 foi considerado o dia em que houve a ovulação e o acasalamento. No D17 foram analisados a área do CL em seu maior diâmetro e área de fluxo sanguíneo (FS) em modo CD, através de software do próprio aparelho. Os animais com múltiplas ovulações tiveram as áreas dos CLs e FS somados. O percentual de fluxo sanguíneo (PFS) foi dado pela razão entre a área do CL e a área do FS. O diagnóstico de gestação no D17 (DG17), classificou os animais como Gestantes, para os que apresentaram alguma área de FS no CL e Não-gestantes, para aqueles que não apresentaram nenhuma área de FS no CL. No D30 o diagnóstico de gestação (DG30) foi confirmado por ultrassonografia em modo-B. O DG30 foi comparado retrospectivamente com o DG17 gerando resultados de verdadeiro-positivos (VP), verdadeiro-negativos (VN), falso positivos (FP) e falso-negativos (FN) que foram inseridos em uma tabela de contingência 2x2. A sensibilidade (SEN), especificidade (ESP), valor preditivo positivo (VPP), valor preditivo negativo (VPN) e acurácia (ACC) do DG17 foram calculados com as seguintes equações: SEN=VP/(VP+FN); ESP=VN/(FP+VN); VPP=VP/(VP+FP); PN=VN/(FN+VN); e ACC=(VP+VN)/n total. Os animais classificados como Gestantes (n=30) no DG17 apresentaram uma área do CL (21,0±11,0 mm²) superior (P<0,02) a área do CL dos animais Não-gestantes (n=32) (5,0±6,0 mm²). Da mesma forma ocorreu para a área de FS (Gestantes 3,70±3,30 mm²; Não-gestantes 0,00±0,00 mm² – P<0,02) e PFS (Gestantes 17,1±10,0 %; Não-gestantes 0,0±0,0 % - P<0,002). Os parâmetros de desempenho do diagnóstico baseado na área de FS tiveram uma SEN de 100,0%; ESP de 80,0%; VPP de 73,3%; VPN de 100,0%; e ACC de 87,1%. A proporção de FP foi 12,9% (8/62), causado por ciclos longos e perdas embrionárias precoce, e a de FN foi 0,0% (0/62). Desta forma é possível concluir que a ultrassonografia CD tem boa acurácia (Kappa=0,74) para realizar o diagnóstico aos 17 dias após a ovulação, sendo que a alta sensibilidade em diagnosticar animais negativos viabiliza a aplicação prática da técnica.

Palavras-chave: fluxo sanguíneo, ovelha, especificidade, valor preditivo.

Keywords: blood flow, sheep, specificity, predictive value.



Diferentes concentrações de lipoproteínas de baixa densidade, na composição de diluidor para criopreservação do sêmen ovino: Resultados preliminares

Different low density lipoproteins concentrations in the extender's composition for cryopreservation of ovine semen: Preliminar results

Gabriel Felipe Oliveira de Menezes¹, Rodrigo Freitas Bittencourt¹*, Paola Pereira Snoeck², Adrielle da Silva Lima¹, Edivânia Oliveira de Jesus¹, Jéssica de Jesus Pinheiro¹, Fernando de Lima Cardoso¹, Elisiane Sateles dos Santos, Mariana Alves de Andrade Silva, Antonio de Lisboa Ribeiro Filho¹

¹Setor de Reprodução Animal, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal da Bahia; ²Professora orientadora no Programa de Pós Graduação em Ciência Animal (UESC), Ilhéus, BA, Brasil. *E-mail: rfb@ufba.br

A criopreservação de sêmen é uma importante ferramenta para o melhoramento genético dos ovinos, entretanto, grande parte dos espermatozoides sofrem sérias injúrias após o processo de congelação e descongelação. Diferentes fatores devem ser observados para que um maior número de células espermáticas mantenham-se viáveis após a descongelação. Dentre eles, destacam-se o tipo de diluidor e sua composição, além dos crioprotetores e aditivos empregados. A gema de ovo tem sido utilizada como um dos principais componentes do meio diluidor, entretanto diversas pesquisas têm mostrado que a parte responsável pela crioproteção do espermatozoide são as lipoproteínas de baixa densidade (LDL). Assim, este estudo surge com o objetivo de avaliar a eficiência de diferentes concentrações de LDLs extraídas da gema de ovo, na composição de diluidor para criopreservação de sêmen ovino. Para esse estudo, foram utilizados seis animais da raca Santa Inês, todos em idade reprodutiva, submetidos a vermifugação e nutrição balanceada. Previamente às congelações, foram realizados os exames andrológicos dos reprodutores, só então os mesmos foram submetidos à duas colheitas de sêmen em dias alternados, através de vagina artificial. A fim de avaliar a melhor concentração das LDLs, foram formulados cinco diluidores, todos a base de Tris-glicerol, com diferentes concentrações de LDL, além do grupo controle com gema de ovo: Controle (CTR-20% de gema de ovo), Tratamento 1 (T1-6% de LDL), Tratamento 2 (T2-8% de LDL), Tratamento 3 (T3-12% de LDL), Tratamento 4 (T4-16% de LDL) e Tratamento 5 (T5-20% de LDL). A descongelação foi realizada a 37° por 35 segundos, quando então as amostras foram submetidas a análise subjetiva de motilidade total (MT, %), motilidade progressiva (MP, %) e vigor espermático (VIG, 1-5). As amostras também foram avaliadas quanto a integridade funcional da membrana plasmática pelo choque hiposmótico com água destilada (HOST) e integridade funcional com o corante supravital eosina (SV, %). Os resultados foram submetidos ao pacote estatístico SAS, versão 9.0 (2002). Como todas as amostras apresentaram padrão não normal de distribuição (Shapiro-Wilk), procedeu-se teste de Kruskal-Wallis para estudo de eventuais diferenças das características espermáticas entre os diluidores testados. Quando houve a confirmação da diferença entre os grupos, o parâmetro espermático foi comparado entre os grupos, individualmente, com o teste de Bonferroni. Todas as análises consideraram o nível de significância de 5%. As variáveis MT, MP e SV diferiram (P<0,05) entre os grupos experimentais. As médias (%) para a MT/MP foram de: CTR: 31,0/24,0; T1: 33,6/28,2; T2: 33,6/28,2; T3: 41,435,0; T4: 53,2/35,0 e T5: 50,0/43,2. O T4 obteve melhores (P<0,05) percentuais de MT e MP, quando comparado aos grupos CTR, T1 e T2, entretanto, semelhantes (P>0.05) aos verificados no T3 e T6. Quanto aos resultados do SV, os percentuais médios foram de: CTR: 15,8; T1: 12,5; T2: 12,5; T3: 18,1; T4: 19,3; T5: 24,0. Para este parâmetro, o valor obtido para o T5 foi superior (P<0,05) aos verificados para CTR, T1 e T2 e não diferiu (P>0,05) aos encontrados para o T3 e T4. Os resultados obtidos demonstram que as LDLs foram eficientes para a substituição da gema de ovo no diluidor de criopreservação do sêmen ovino e na concentração de 16% proporcionou melhores índices de manutenção das motilidades espermáticas, quando comparados com o diluidor controle, a base de gema de ovo.

Palavras-chave: ovinos, criopreservação espermática, LDL.

Keywords: ovine, cryopreservation, LDL.



Dinâmica lúteal de ovelhas avaliada pela ultrassonografia Doppler colorido: resultados preliminares

Luteal dynamics of ewes evaluated by color Doppler ultrasonography: preliminary results

<u>Leandro Becalete Rizzoni</u>^{1,*}, Miller Pereira Palhão², Lucas Alberto Teixeira de Rezende³, Michael Cesar dos Santos³, José Antônio Dias Garcia², Carlos Antônio de Carvalho Fernandes², Jairo Pereira Neves²

¹Doutorando do Programa de Pós-graduação em Reprodução, Sanidade e Bem Estar Animal, Universidade José do Rosário Vellano (UNIFENAS), Alfenas, MG, Brasil; ²Docente do Programa de Pós-graduação em Reprodução, Sanidade e Bem Estar Animal, Universidade José do Rosário Vellano (UNIFENAS), Alfenas, MG, Brasil; ³Setor de Pequenos Ruminantes do Instituto Federal Sul de Minas Gerais, Muzambinho, MG, Brasil.

*E-mail: leandrobecalete@yahoo.com.br

A utilização de biotécnicas na reprodução animal permite proporcionar o melhoramento do rebanho, entretanto se faz necessário o conhecimento da fisiologia ovariana, que vem sendo elucidado através da ultrassonografia. O objetivo deste estudo foi estabelecer uma relação entre o padrão vascular, morfológico e funcional do corpo lúteo (CL) de ovelhas através da ultrassonografia no modo Doppler colorido (CD) durante o ciclo estral. Foram utilizados animais cruzados Dorper com Santa Inês (n=34), que tiveram o estro sincronizado e divididos em dois grupos, Controle (n=20) e Acasalados (n=14). O D0 foi considerado o dia em que houve a ovulação, amostras de sangue foram coletadas nos dias D3, D6, D9, D12 e D15 para as concentrações plasmáticas de progesterona (P4) por RIA. As imagens ultrassonográficas dos CLs foram feitas diariamente até o dia D17, pela via transretal. As variáveis analisadas foram a área do CL em seu maior diâmetro e área de fluxo sanguíneo (FS) em modo CD, através de software do próprio aparelho. Os animais com múltiplas ovulações tiveram as áreas dos CLs e FS somados. O percentual de fluxo sanguíneo (PFS) foi dado pela razão entre a área do CL e a área do FS. Durante a luteogênese houve um crescimento nas concentrações de P4 do D3 para o D6 (P<0,0001) seguido de um platô em ambos os grupos. Iniciando a luteólise do CL no D12 (P<0,0001) para o Controle, fato não observado nas Acasaladas. A área do CL teve um crescimento progressivo em ambos os grupos até o D5 (P<0,0001), sem aumento significativo nos dias subsequentes, o Controle progrediu para uma queda acentuada em sua área a partir do D13 (P<0,0001), diferindo das Acasaladas (P<0,0001), que se manteve constante. O mesmo padrão foi observado quanto a área FS, com crescimento progressivo até o D4 (P<0,0001) para ambos os grupos, seguido por uma queda no D13 (P<0,0001) para o Controle. O PFS observado nos CLs mantiveram-se constantes nas Acasaladas durante todo o experimento, ocorrendo divergência entre os grupos a partir do D14 (P<0,0001), com diminuição no PFS para o Controle. Os resultados demonstraram uma correlação positiva entre o padrão vascular, morfológico e funcional do corpo lúteo de ovelhas acasaladas e não acasaladas. A ultrassonografia CD tem potencial para ser utilizada como ferramenta para avaliar a dinâmica lúteal de ovinos, podendo caracterizar com precisão a luteogênese e luteólise do CL.

Palavras-chave: luteogênese, luteólise, progesterona, ovinos. *Keywords*: *luteogenesis*, *luteolysis*, *progesterone*, *sheep*.



Efeito de diferentes doses de protocolos hormonais para superestimulação ovariana na população folicular de ovelhas da raça Santa Inês

Effect of different hormonal protocols for ovarian superstimulation on the follicular population in Santa Inês ewes

Joanna Ma Gonçalves Souza-Fabjan^{1,2,*}, Gláucia Mota Bragança¹, Lílian dos Santos Ribeiro¹, Pedro Henrique Nicolau Pinto¹, Gustavo Bervian dos Santos¹, Viviane Lopes Brair², Isabel Cosentino de Oliveira¹, Ribrio Ivan Tavares Pereira Batista¹, Jeferson Ferreira da Fonseca³, Felipe Zandonadi Brandão¹

¹Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ; ²Universidade do Grande Rio, Duque de Caxias, RJ; ³Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral, CE, Brasil. *E-mail: joannavet@gmail.com

O presente estudo avaliou o efeito de distintos protocolos hormonais para a superestimulação ovariana sobre a população folicular de ovelhas doadoras de oócitos. Doze ovelhas pluríparas, sob um delineamento cross-over, foram organizadas em quatro grupos experimentais e submetidas a quatro repetições cada. Estas tiveram a emergência da onda folicular sincronizada conforme proposto (Balaro et al. 2016. Domest Anim Endocrinol, 54:10-14). A superestimulação iniciou após 80 horas, e este foi considerado como dia zero (D0). Foram utilizados: T1, 80 mg de FSH (Folltropin-V®, Bioniche Animal Health, Ontario, Canadá) e 300 UI de eCG e T2, 120 mg de FSH e 300 UI de eCG, ambos em dose única; T3, 80 mg de FSH e T4, 120 mg de FSH, ambos em doses decrescentes (50/30/20%), a cada 12 h. Colocou-se nova esponja vaginal com progestágeno na primeira dose do FSH e removeu-se na LOPU. Utilizou-se o ultrassom (Sonoscape S6®, Shenzhen, China) acoplado a um transdutor linear de 7,5 MHz (via transretal) a fim de se avaliar a população folicular. No D0, não houve diferença (P>0.05) na quantidade de folículos em cada categoria (< 3, 3-5 e > 5 mm de diâmetro) entre os tratamentos avaliados. Independentemente do tratamento utilizado, os animais apresentavam maior quantidade de folículos na categoria < 3 mm de diâmetro do que nas demais. Ou seja, os grupos apresentavam população folicular semelhante no início da superestimulação e com maior população de folículos pequenos, demonstrando um controle efetivo da sincronização da onda. No D2, não houve efeito (P>0,05) da dose de FSH utilizada e também quanto ao regime de administração do FSH, bem como não foi observada interação destes fatores sobre a quantidade de folículos em cada categoria. Todos os tratamentos apresentaram maior número de folículos na categoria de 3-5 mm de diâmetro. No T2, T3 e T4, o número de folículos < 3 mm foi maior do que os > 5 mm, enquanto que em T1, as categorias não diferiram (P>0,05) entre si. Sendo assim, a diferença de categorias ocorreu dentro dos tratamentos e não entre tratamentos. Todos os tratamentos foram efetivos e promoveram maior quantidade de folículos na categoria desejada (3-5 mm), pois esta apresenta alta correlação com oócitos competentes. Portanto, ressalta-se o uso do T1, devido a praticidade de administração única ou T3, possibilitando reduzir os custos e efeitos colaterais do eCG.

Palavras-chave: FSH, LOPU, ovinos, PIVE.

Keywords: FSH, IVP, LOPU, sheep.

Auxílio financeiro: CAPES e FAPERJ.



Efeito de diferentes momentos de inseminação artificial laparoscópica em programas comerciais de múltipla ovulação e transferência de embriões em ovinos

Effect of different times of laparoscopic artificial insemination in a multiple ovulation and embryo transfer commercial program in sheep

<u>Valdir M. de Almeida</u>^{1,*}, Raquel F. Albuquerque², Matheus Ferreira V.Albuquerque³, Sergio S. Azevedo⁴, Fábio de S. Mendonça⁵, Gustavo F. Carneiro⁵

¹Doutorando - UFRPE - Recife, PE, Brasil; ²Doutoranda - UFRPE Recife, PE, Brasil; ³Multiplic- Reprodução Assistida; ⁴Universidade Federal de Campina Grande - CSTR/Patos, PB, Brasil; ⁵Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE, Brasil.

*E-mail: valdirvet@hotmail.com

Avaliou-se dois momentos da inseminação artificial laparoscópica (IAL) com uso de sêmen resfriado e criopreservado em ovelhas submetidas a programa comercial de múltipla ovulação e transferência de embriões (MOTE). Vinte fêmeas da raça Dorper, foram sincronizadas com uso de dispositivo vaginal de Progesterona (CIDR®) (D0) e induzidas a superovulação por administrações de FSH-p (Folltropin®), em oito doses decrescentes a cada doze horas, iniciando-se no D12. No D15 foram removidos os dispositivos intravaginais e administradas 200UI de gonadrotofina coriônica equina eCG (Novormon®, Intervet). No dia seguinte, administrou-se 4µg de acetato de buserelina - GnRH (Conceptal®, Intervet). Após detecção do cio e jejum de 12 horas, foram divididas em quatro grupos/tratamentos definidos quanto ao horário da IAL com base na remoção do dispositivo intravaginal e quanto ao tipo de sêmen utilizados, ou seja, se resfriado a 5°C por 5 horas e concentração de 150 x 10⁶, ou criopreservado a -196°C e concentração de 150 x 10⁶, sendo: T1 – 36 h / sêmen resfriado; T2 – 48 h / sêmen resfriado; T3 – 36 h / sêmen criopreservado e; T4 – 48 h / sêmen criopreservado. Passados cinco dias da IAL, foi realizada a colheita dos embriões pela técnica de laparotomia e, as estruturas recuperadas foram avaliadas e classificadas segundo normas preconizadas pela IETS (International Embryo Transfer Society) e, transferidos para receptoras que tiveram estro sincronizado por meio da aplicação de dispositivo intravaginal impregnado com 60 mg de medroxiprogeterona – MAP (Progespon®), por um período de 15 dias, quando se deu a sua retirada e aplicação de 400UI de eCG (Folligon®) por via intramuscular e, receberam embriões pela técnica de semi-laparoscópia. O diagnóstico gestacional foi realizado por meio de ultrassonografia aos 35 dias após a TE. Os resultados obtidos em percentual (%) e em números (N) para: estruturas colhida, estruturas não fertilizadas, estruturas degeneradas, estrutura viáveis (embriões) e embriões confirmados na ultrassonografia, foram respectivamente: $T1 = 7.6 \pm 2.8$ a N; 24.9 ± 31.7 a,b %, 1,4 ± 1.5 N; 13.6 ± 13.2 a %, 1.2 ± 1.3 N; 61.5 ± 26.1 a,b %, 5 ± 3.1 N; 31.9 ± 18.0 a,b,c %, 2.6 ± 1.7 N. T2 = 9.8 ± 5.1 a N; 9.8 ± 15.8 a %, 1.0 ± 1.7 N; 3.6 ± 8.1 a %, 0.4 ± 0.9 N; 86.6 ± 23.6 a %, 8.4 ± 5.5 N; 41.5 \pm 19,7 a,c %, 4,2 \pm 3,3 N. T3 = 14,8 \pm 10,0 a N; 68,1 \pm 23,0 b %, 9,6 \pm 6,8 N; 11,8 \pm 12,1 a %, 1,2 \pm 1,3 N; 20.1 ± 19.0^{b} %, 4.0 ± 4.4 N; 9.1 ± 13.3^{b} %, 2.0 ± 2.7 N. $T4 = 12.4 \pm 4.6^{a}$ N; $30.0 \pm 44.7^{a,b}$ %, 3.2 ± 1.00 % 4,9 N; 7,5 \pm 10,3 a %, 0,8 \pm 0,8 N; 62,5 \pm 39,3 a,b %, 8,4 \pm 7,3 N; 49,2 \pm 30,1 a %, 5,0 \pm 4,5 N. Aumento significativo (R0,05), foi observado no percentual de confirmações de prenhezes entre os tratamentos, $T3 = 9.1 \pm 13.3$ % e $T4 = 49.2 \pm 30.1$ %, demonstrando que o uso da IAL com sêmen criopreservado, na condição de pré-ovulação (36 h), não foi eficaz na fertilização das estruturas oócitarias. Observou-se que uma única IAL, foi suficiente para produção embrionária, com exceção do T3, alcançando-se melhores índices no T4, com fertilização de 62,5 ± 39,3 %, e confirmação ultrassonográfica de 49,2 ± 30,1 %, das estruturas produzidas. Sendo possível a utilização deste procedimento em programas comerciais de MOTE em ovinos.

Palavras-chave: laparoscopia, ovulação, ovinos, transferência de embriões.

Keywords: Laparoscopy, Ovulation, ovine, transfer of embryos.



Efeito de diferentes protocolos hormonais para superestimulação ovariana sobre o número e a qualidade de oócitos em ovelhas da raça Santa Inês

Effect of different hormonal protocols for ovarian superstimulation on the number and quality of oocytes in Santa Inês ewes

Gláucia Mota Bragança^{1,*}, Vivian Angélico Pereira Alfradique¹, Ribrio Ivan Tavares Pereira Batista¹, Joanna M. Gonçalves de Souza-Fabjan^{1,2}, Eduardo Kenji Nunes Arashiro¹, Mário Felipe Alvarez Balaro¹, <u>Isabel Cosentino de Oliveira¹</u>, Luana Rangel Côrtes¹, Jeferson Ferreira da Fonseca³, Felipe Zandonadi Brandão¹

¹Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ; ²Universidade do Grande Rio, Duque de Caxias, RJ, Brasil; ³Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral, CE, Brasil. *E-mail: glauciaveterinaria@yahoo.com.br

A obtenção de oócitos competentes é um dos fatores que influenciam o sucesso da produção in vitro de embriões em ovinos. Objetivou-se avaliar o efeito de protocolos hormonais na quantidade e qualidade de complexos cumulus-oócitos (CCOs) em ovelhas da raça Santa Inês. Doze ovelhas pluríparas, foram dispostas em quatro grupos experimentais, submetidos a quatro repetições cada, caracterizando um modelo cross-over. A sincronização do estro e da onda de crescimento folicular foi realizada de acordo com o protocolo proposto por Balaro et al. (2016. Domest Anim Endocrinol). Às 80 h após a remoção do implante vaginal contendo progestágeno, todas as ovelhas receberam uma nova esponja vaginal e iniciou-se a superestimulação com aplicação de: T1, 80 mg de FSH (Folltropin-V®, Bioniche Animal Health, Ontario, Canadá) e 300 UI de eCG e T2, 120 mg de FSH e 300 UI de eCG, ambos em dose única; T3, 80 mg de FSH e T4, 120 mg de FSH, ambos em doses decrescentes (50/30/20%) a cada 12 h, sendo a esponja removida na LOPU. Os CCOs foram classificados morfologicamente em grau I/II (boa qualidade), III (regular: desnudos, mas ooplasma homogêneo) e IV (ruim: ooplasma heterogêneo, degenerados). Os CCOs grau IV foram descartados e os viáveis (GI, II e III) submetidos à coloração com azul cresil brilhante (BCB) e classificados em BCB⁺ (competentes) e BCB⁻ (não competentes). Os dados foram avaliados pela ANOVA e teste Tukey. A taxa de recuperação foi similar (P>0,05) entre os tratamentos: 65% (70/107, T1), 59% (65/110, T2), 68% (82/120, T3) e 70% (91/130, T4). A média de CCOs obtidos por fêmea foi: 5,8 ± 0.2 (T1); $5.4 \pm 0.3 \text{ (T2)}$; $6.8 \pm 0.3 \text{ (T3)}$; e $7.6 \pm 0.5 \text{ (T4)}$, enquanto a média de viáveis foi: $5.4 \pm 0.3 \text{ (T3)}$ (T1); 5.3 ± 0.2 (T2); 5.6 ± 0.3 (T3); e 7.3 ± 0.5 (T4). Quanto à qualidade morfológica, o percentual de oócitos de boa qualidade (GI/G2) não diferiu (P>0,05) entre T1 (56%, 39/70), T2 (66%, 43/65), T3 (74%, 61/82) e T4 (70%, 64/91). Para o número de oócitos GII, houve efeito (P<0,05) da forma de administração, onde aplicações múltiplas resultaram em maior número de oócitos GII do que o tratamento em dose única. Não houve diferença (P>0,05) na taxa de CCOs BCB+ nos diferentes tratamentos: T1(72%), T2 (88%), T3 (80%) ou T4 (76%). Assim, recomenta-se utilizar o T1, devido à praticidade de administração única ou T3, protocolo que possibilita reduzir os custos e efeitos colaterais do eCG.

Palavras-chave: FIV, LOPU, ovinos, superestimulação hormonal.

Keywords: hormonalstimulation, IVF, LOPU, sheep.

Auxílio financeiro: CAPES e FAPERJ.



Efeito do período do ano sobre o perfil seminal de reprodutores ovinos criados em clima Tropical

Effect of the period of the year of the seminal profile of ovine breeding animals reared in tropical climate

Aline Dórea Luz Menezes, Rodrigo Freitas Bittencourt*, Endrigo Adonis Braga de Araujo, Marcus Vinicius Galvão Loiola, Elisiane Sateles dos Santos, Lindomar Souza Brito, Mariana Santos dos Anjos, Renata Oliveira Barreto, Antonio de Lisboa Ribeiro Filho

Setor de Reprodução Animal e Obstetrícia Veterinária, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal da Bahia, Salvador-BA, Brasil.

*E-mail: rfb@ufba.br

A avaliação de reprodutores ovinos, em qualquer período do ano, é fundamental para certificação da aptidão reprodutiva do macho como reprodutor da cabanha e/ou como doador de sêmen. Embora na região Nordeste, a estacionalidade reprodutiva não seja observada, de forma marcante, pelas pequenas variações do fotoperíodo durante as estações do ano, este trabalhoobjetivou coletar e analisar informações obtidas sobre a qualidade espermática de reprodutores ovinos durante dois períodos do ano: Outono/Inverno (EST1: meses compreendidos entre Março e Agosto e Primavera/Verão (EST2: meses compreendidos entre Setembro e Fevereiro). Foram avaliados 1057 ejaculados de 110 reprodutores ovinos das raças Santa Inês, Dorper e White Dorper provenientes do banco de dados de um centro de coleta e processamento de sêmen, regulamentado pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, na cidade de Santo Antonio de Jesus-BA (altitude 213 m, latitude 12°58'08" S, longitude 39°15'41" O). A cidade, onde está localizada a Central, faz parte do território de identidade Recôncavo Baiano, caracterizada pelo clima tropical, precipitação pluviométrica superior a mil e quatrocentos milímetros anuais e chuvas concentradas no Outono-Inverno. Os animais que fizeram parte deste estudo estavam em idade reprodutiva, mantidos em sistema intensivo, alimentados à base de feno, concentrado balanceado e sal mineral específico para ovinos. Todos os reprodutores ficaram, pelo menos, 60 dias alojados na central. O ejaculado foi colhido por vagina artificial e os parâmetros avaliados de cada ejaculado foram: volume (VOL, mL); motilidade total (MT, %), motilidade progressiva (MP, %), vigor (VIG, 1-5), turbilhonamento (TURB, 1-5), concentração espermática (CONC) em câmara de Neubauer; integridade de membrana (IM), analisada pela coloração supravital com eosina, perímetro escrotal (PE/cm),e número de doses de sêmen produzidas (DOSES). Os resultados encontrados e que diferiram (P<0,05) nos diferentes períodos foram: VOL (EST1: 1,24±0,51; EST2: 1,10±0,41); MT (EST1: 85,31±6,09; EST2: 86,07±6,31); MP (EST1: 79,76±7,86; EST2: 82,39±33,46); VIG (EST1: 3,47±0,30; EST2: 3,61±1,59); TURB (EST1: 3,63±0,61; EST2: 3,74±0,51) CONC (EST1: 137,42±53,81; EST2: 175,00±82,30), PE (EST1: 35,36±11,42; EST2: 34,09±3,17), DOSES (EST1: 455±40,83; EST2: 533±44,40), enquanto que a IM (EST1: 72,87±8,78, EST2: 72,56±19,72) não diferiu estatisticamente. O estudo reforça a ausência de estacionalidade reprodutiva pelo fator fotoperíodo. Ao contrário, observou-se que na Primavera/Verão os animais produziram ejaculados de melhor qualidade, como também com maior quantidade de espermatozoides. Sabe-se que, a qualidade bromatológica das pastagens sofre efeito do período do ano, de acordo com as estações com maior ou menor concentração de chuvas. Uma hipótese para este achado é que o feno produzido tenha sido de melhor qualidade, refletindo em um processo de espermatogênese mais eficiente. Dessa forma, conclui-se que o fotoperíodo na região, onde o estudo foi realizado, não interferiu no desempenho reprodutivo dos machos ovinos, sugerindo que as diferenças observadas no perfil dos ejaculados obtidos nos períodos estudados estejam relacionados às interferências proporcionadas pelas variações na qualidade do volumoso fornecido.

Palavras-chave: estacionalidade, ovinos, sêmen.

Keywords: seasonality, ovine, semen.



Estruturas placentárias de ovelhas Dorper x Santa Inês suplementadas nos terços finais da gestação

Placental structures of Dorper x Santa Inês ewes supplemented in the final third of gestation

Gabriele Ariele Aparecida Cordeiro de Oliveira^{1,*}, Flávia Thomaz Verechia Pereira², Danilo Domingues Millen², Ricardo Velludo Gomes de Soutello², Ariane Carrascossi da Silva³

¹Mestranda em Ciência e Tecnologia Animal da Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas, UNESP Campus Dracena, SP, Brasil; ²Docente do programa de pós-graduação da Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas, UNESP Campus Dracena, SP, Brasil; ³Laboratório de Morfofisiologia da Placenta e Embrião da Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas, UNESP Campus Dracena, SP, Brasil.

*E-mail: goliveira_veterinaria@hotmail.com

A placenta é o orgão responsável pela interação materno-fetal durante toda a gestação, tendo como principais funções a proteção, respiração, nutrição, controle endócrino, transferência imunológica de anticorpos e regulação do desenvolvimento fetal. Com sua capacidade de transferir nutrientes, a placenta está diretamente relacionada com o crescimento e desenvolvimento fetal, influenciando o estado corpóreo das matrizes para um adequado crescimento fetal. O objetivo do presente estudo foi determinar as respostas placentárias de ovelhas suplementadas por meio de análises macroscópicas e microscópicas da placenta. Para realização do trabalho utilizou-se 50 ovelhas mestiças das raças Dorper e Santa Inês, as quais receberam 200g/cabeça/dia de suplementação mineral proteica, pasto e água ad libitum, sendo agrupadas em um experimento fatorial 2x2 sob os efeitos de dois níveis do fator matriz: ovelhas suplementada a partir do 2º terço da gestação e ovelhas suplementadas a partir do 3º terço da gestação, combinados com dois níveis do fator sexo das crias: machos e fêmeas. As placentas expulsas pós-parto foram coletadas para a realização do processo de limpeza, coleta e conservação para subsequentes manipulações. As análises macroscópicas foram realizadas mediante pesagens das placentas, contagens e medições dos cotilédones, que foram seccionados e fixados por imersão em solução aquosa de parafolmaldeido a 4%, para as análises microscópicas realizou-se técnicas histológicas, utilizando a coloração hematoxilina de Harris e eosina (HE) e coloração ácido periódico - Schiff (PAS). Os resultados macroscópicos observados não diferiram entre os grupos estudados quanto ao peso da placenta, número e dimensões dos cotilédones. Nas análises microscópicas, nos cortes corados com hematoxilina e eosina, observou-se a quantidade de vasos sanguíneos, avaliando o número de artéria, arteríola, vênula, veia e capilar, as quais não distinguiram entre os grupos estudados; o material corado em ácido periódico - Schiff revelou as seguintes estruturas: vasos sanguíneos, mêsenquima fetal, membrana fetal e células trofoblásticas, onde observou-se que o grupo suplementado a partir do 2º terço da gestação aprensentou células trofoblásticas binucleadas e trinucleadas, diferentemente dos suplementados a partir do 3º terço da gestação, sendo verificadas apenas células trofoblásticas binucleadas. Conclui-se que o momento da suplementação e sexo da cria não interferem nos parâmetros macroscópicos, porém quando analisada a presença de células trofoblásticas trinucleadas, estas estão presentes quando a suplementação inicia-se mais precocemente.

Palavras-chave: placenta, desenvolvimento embrionário, suplementação, nutrição, histologia. *Keywords:* placenta, embryo development, supplementation, nutrition, histology.



Exogenous melatonin improves resumption of ovarian function in undernourished ewes during anestrous season in Argentina

A melatonina exógena melhora a retomada da função ovariana em ovelhas subnutridas durante a estação de anestro na Argentina

Martín A. Chaves¹, Carlos A. Franco¹, Darío Martínez¹, Araceli Miazzo¹, Maria Isabel Vázquez^{1,2,*}

¹Departamento de Reproducción Animal, Facultad de Agronomía y Veterinaria, UNRC, Río Cuarto, Córdoba, Argentina;

²Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina.

*E-mail: isavazquez.arg@gmail.com

The main factors that influence reproductive performance of sheep are reproductive seasonality and nutritional condition, particularly in the central region of Argentina, where the availability of food is highly seasonal. Melatonin treatment is an effective method for inducing estrous cycles, increasing ovulation and improving embryo viability during anestrus. On the other hand, undernutrition can compromise follicle-oocyte competence, luteal function and embryo development. Therefore, the effect of exogenous melatonin on ovarian function in undernourished ewes during anestrous season in Argentina was investigated. In October, 24 adult ewes (weighed 51.2±2.1 kg, body condition scored (scale 1-5) 2.65±0.16, mean±SEM) housed in an open barn at the Río Cuarto University facilities (30°07′S, 64°14′W), were assigned into two groups: treated (MEL) or not with a subcutaneous implant of melatonin (Melovine®, CEVA). They were kept under natural photoperiod. After 40 days, both groups were synchronized with intravaginal pessaries and eCG (400 IU) and fed to provide 1.5 (Control, C) or 0.5 (Low, L) times daily maintenance requirements. Therefore, ewes were divided into four groups (n=6): C, C+MEL, L and L+MEL. Estrus detection was performed twice daily and at estrus (Day=0) ewes were mated. At Day 15, a second estrus detection and mated was performed. Ovulatory follicles from Day -5 to ovulation were monitored daily by transrectal ultrasonography with a real time, B mode and rigid 7.5 MHz linear-array transducer. The day of ovulation was detected by collapse of a large follicle. Pregnancy diagnosis was determined at Day 28 after estrus. Statistical comparisons of proportional values were based on the Chi-squared Test. The level for statistical significance was set to P < 0.05. After 21 days, groups L and L+MEL had an average weight loss of 5 kg (P<0.05). Neither nutrition and melatonin nor their interaction had a significant effect on ovulation rate or the maximum diameter of ovulatory follicle between groups. However, melatonin increased the ovulation rate in undernourished ewes (L: 33%; L+MEL: 67%; P<0.01). No effect of melatonin treatment on pregnancy rates was observed (C: 50%, C+MEL: 67%, L: 33% and L+MEL: 33%). Only non-pregnant ewes from melatonin treatment were capable to had a natural ovulation after the induced estrus (P<0.01). In fact, after the second period of estrus detection and mated, pregnancy rates was significantly higher in melatonin groups than the others (C: 50%, C+MEL: 83%, L: 50%, L+MEL: 67%; P<0.01). In conclusion, this study shows that melatonin improved resumption of ovary activity in anestrus, particularly in undernourished ewes in Argentina. A better understanding of modulating effects of melatonin on the ovarian function is essential to develop management systems looking for to enhance reproductive performance. This study was supported by grant PPI2012-2015 from SeCyT-UNRC.

Palavras-chave: implante melatonina, função ovariana, anestro, ovelha.

Keywords: melatonin implants, ovary activity, anestrus, ewe.



Extrato de plantas e ação antioxidante na dinâmica espermática de carneiros

Plant extraction and antioxidant action in sheep sperm dyamics

Gustavo Godoi Costa¹, Luiz Henrique Particelli¹, Alexandre Rocha Bozzi², <u>Bruna Fernanda Martins</u>^{3,*}, Bruna Marcele Martins de Oliveira^{4,5}, Júlio César Barboza da Silva⁵

Graduando do 5º ano de Medicina Veterinária, Faculdade de Jaguariúna, Jaguariúna, SP, Brasil; Mestrando do Instituto de Zootecnia, Nova Odessa, SP, Brasil; Graduanda do 5º ano de Medicina Veterinária, Faculdade Anhanguera Educacional, Campinas, SP, Brasil; Professora do Curso de Medicina Veterinária, Faculdade Anhanguera Educacional, Campinas, SP, Brasil; Professor do Curso de Medicina Veterinária Faculdade de Jaguariúna, Jaguariúna, SP, Brasil.
*E-mail: brunafer.martins@gmail.com

O objetivo do trabalho foi realizar a avaliação motilidade total (MT), motilidade progressiva (MP) em sêmen de carneiro, utilizando microscopia óptica, com e sem a adição de extratos de plantas no diluente. O experimento foi realizado no Instituto de Zootecnia em Nova Odessa-SP. Foi realizada colheita de sêmen de dois machos adultos da raça Morada Nova. O sêmen colhido com vagina artificial foi avaliado quanto a MT e MP. Os ejaculados foram diluídos em meio Botu-Bov® na concentração de 200x10⁶ sptz/ml e divididos em 32 partes iguais, sendo oito para cada tratamento. Os grupos estabelecidos foram: controle (Trat1), Arachis pintoi cv amarillo (Trat2), Piptadenia colubrina (Trat3) e Caesalpinia echinata (Trat4). Foram utilizados extratos liofilizados de folhas das plantas mencionadas, na concentração de 0,0125 mg/ml de sêmen diluído. As amostras foram refrigeradas a 5°C com curva média de -0,7°C/min e avaliadas nos períodos: 0h, 24h, 48h e 72h quanto à MT e MP. Foi realizada a análise de variância (ANOVA, SAS) e a comparação de médias pelo teste SNK. Para apresentação dos resultados foi utilizada a média geral das repetições do ejaculado dos dois animais. No período 0h, os tratamentos 1 e 3 apresentaram medidas de MT e MP similares entre si, porém superiores ao tratamento 2 e 4 (MT - Trat1:85,0±5,34a; Trat278,75±3,53b; Trat3: 85,0±5,34a; Trat4:75,0±5,34b) (MP - Trat1:75,0±5,34a; Trat2:57,5±4,63b; Trat3:70,0±10,7a; Trat4:55,0±5,34b). Na avaliação 24h o Trat4 apresentou valores mais baixos de MT e MP quando comparado aos demais grupos (MT - Trat1:73,75±5,17a; Trat2:68,75±3,53a; Trat3:72,5±8,86a; Trat4:60,0±5,34b) (MP -Trat1:57,5±8,86^a; Trat2:51,25±6,41^a; Trat3:61,65±11,26^a; Trat4:42,5±4,63^b). Os valores mais baixos do Trat4 foram mantidos para as duas variáveis na avaliação de 48 horas (MT - Trat1:57,5±7,07a; $Trat2:60,0\pm5,34^{a}$; $Trat3:60,0\pm7,56^{a}$; $Trat4:50,0\pm7,55^{b}$) (MP - $Trat1: 42,5\pm7,07^{a}$; $Trat2: 40,0\pm0,0^{a}$; Trat3: 46,25±9,16^a; Trat4: 31,23±3,53^b). Na avaliação 72h, Trat2 e Trat3 apresentaram melhores resultados quando comparados ao Trat1 para MT e, para MP, somente o Trat3 mostrou valores superiores ao Trat1 (MT - Trat1: 15,0±5,35^b; Trat2: 25,0±5,34^a; Trat3: 27,5±7,07^a; Trat4: $21,25\pm8,34^{ab}$) (MP – Trat1: $6,87\pm2,59^{b}$; Trat2: $8,12\pm2,58^{b}$; Trat3: $13,12\pm5,94^{a}$; Trat4: $9,37\pm4,95^{ab}$). Com base nos resultados, é possível inferir que, se houver necessidade da refrigeração do sêmen ser mantida por um período prolongado, os extratos utilizados no Trat2 e Trat3 podem eficientes para manter a MT e MP, no entanto, mais estudos são necessários para avaliar o efeito desses extratos em outras características seminais que estão relacionadas com a fertilidade.

Palavras chaves: carneiro, extrato de plantas, sêmen.

Key words: sheep, plant extract, semen.



Hormônio anti-mulleriano(AMH) e produção *in vivo* de embriões em ovelhas da raça Santa Inês

Anti-mullerian hormone (AMH) and in vivo production in Santa Inês ewes

Felipe Zandonadi Brandão^{1,*}, Pedro Henrique Nicolau Pinto¹, Gláucia Mota Bragança¹, Lilian dos Santos Ribeiro¹, Mário Felipe Alvarez Balaro¹, Ribrio Ivan Tavares Pereira Batista¹, Eduardo Kenji Nunes Arashiro¹, Jeferson Ferreira da Fonseca²

¹Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ Brasil; ²Embrapa Caprinos e Ovinos, Coronel Pacheco, MG, Brasil. *E-mail: fzbrandao@id.uff.br

O hormônio anti-mülleriano pode ser usado para estimara população de pequenos folículos antrais em ruminantes. A maior concentração sérica deste hormônio tem sido relacionada com maior potencial de resposta à superovulação e também à maior produção de embriões após a aspiração folicular. Desta forma, é possível que diferentes perfis de concentração plasmática do AMH estejam relacionados com maior ou menor potencial de produção de embriões in vivo em ovelhas. Assim, objetivou-se verificar (SI) qual a relação entre os níveis plasmáticos de AMH e a produção de embriões em um programa de múltipla ovulação e transferência de embriões (MOTE) em ovelhas da raça Santa Inês. Vinte e cinco borregas (11,9 ± 1,1 meses de idade; ECC: 2,8 ± 0,3) foram superovuladas após um protocolo curto de sincronização de estro (Balaro MFAet al. 2016. Domest. Animal. Endocrinol.54: 10-14) por meio de seis aplicações decrescentes de FSH administradas a cada 12 horas (50/50, 30/30, 20/20 mg) totalizando 200 mg de FSH (Folltropin-V[®], Bioniche Animal Health, CA) por animal. Na última dose de FSH, aplicou-se 0,24 mg de cloprostenol (Estron[®], Agener União, BR) e, 24 horas após, 0,025 mg de lecirelina (Gestran Plus[®], Tecnopec, BR). Na primeira dose de FSH uma nova esponja (Progespon®, Zoetis, BR) foi inserida e removida na penúltima dose deste hormônio. Após a última dose de FSH realizou-se monta natural controlada a cada 12 horas até o final do estro. As fêmeas que responderam ao tratamento (>3 CL) foram submetidas à coleta cirúrgica de embriões.No momento de aplicação da primeira dose de FSH foi coletado sangue em frascos contendo EDTA, após centrifugação o plasma foi aspirado e congelado a -25° C. As concentrações de AMH foram determinadas por meio do Kit Equine and Ovine AMH ELISA (AnshLabs®, EUA). Apartir do ponto de corte de 0,100ng/ml, as fêmeas foram classificadas em grupo de alto (GA>0,100 ng/ml) ou baixo (GB<0,100ng/ml) potencial de resposta multiovulatória. O AMH plasmático, número de estruturas recuperas e embriões viáveis foram considerados como nãonormais pelo teste de Liliefors e foram submetidos ao teste de Kruskal-Wallis com comparação de médias pelo teste de Dunna 5% de significância. Igualmente, o índice de correlação de Pearson foi adotado para se obter correlações entre tais variáveis. O número de embriões recuperados entre o GB e GA foi distinto (2,1±2,2vs.7,7±1,6; p<0,05). As correlações entre o AMH plasmático e o número de estruturas recuperadas (r=0,69; p<0,05), assim como entre o AMH e número de embriões viáveis (r= 0,57; p<0,05) foram significativas. Tais achados são compatíveis com os resultados já publicados para outras espécies de ruminantes. Adicionalmente, o AMH foi eficiente como biomarcador de fertilidade em ovinos. Conclui-se que o AMH plasmático mensurado em um momento sincrônico do ciclo estral, pode ser utilizado para selecionar borregas da raça Santa Inês com maior potencial para a produção in vivo de embriões.

Palavras-chave: seleção de doadora, AMH, MOTE.

Keywords: donor selection, AMH, MOET.

Auxílio financeiro: Capes, Embrapa (02.13.06.026.00.02) e Faperj.



Inclusão de grão de soja integral tostado na dieta de ovinos influencia respostas ovarianas?

Soybeans grain toasted in the sheep diet may promote ovarian responses?

João Vitor Pagoto Careta¹, Renato Travassos Beltrame^{1,*}, Nilson Nunes Morais Junior², Gustavo Augusto Damasceno Justino¹, Lucas Reichelm Costa², Thales Alves Dutra Lima², Ricardo Lopes Dias da Costa³

¹Curso de Medicina Veterinária, Centro Universitário do Espírito Santo (UNESC), Colatina, ES, Brasil;
 ²Curso de Agronomia, Instituto Federal do Espírito Santo (IFES), Colatina, ES, Brasil;
 ³Instituto de Zootecnia, Nova Odessa, São Paulo, Brasil.
 * E-mail:rtbeltrame@yahoo.com.br

O uso de fontes de gordura na dieta pode alterar o perfil de ácidos graxos absorvidos pelo animal. O grão de soja integral tostado é uma fonte rica em ácido linoléico (ômega 6) e linolênico (ômega 3) comparada a gordura vegetal de óleo de palma. Objetivou-se avaliar os efeitos dos ácidos graxos da soja integral tostada sobre as estimativas da dinâmica folicular em um protocolo de sincronização de ovulação de curta duração em ovinos. Quatorze fêmeas multíparas da raça Santa Inês, foram aleatoriamente sorteadas para tratamento 1 – Dieta com ácidos graxos linoleico e linolênico (T1) utilizando concentrado a base de milho (32,2%) e soja integral tostada (64,8%), comparado ao T2 (controle), concentrado a base de milho (32,2%) farelo de soja (53,6%) e gordura inerte de palma (12%), ambas, formuladas para atender as exigências nutricionais da categoria animal, sendo isoprotéicas e isolipídicas. Foram fornecidos diariamente 280g a cada animal em ambos os tratamentos. As dietas foram fornecidas por um período de 20 dias antes da data prevista para IATF. As fêmeas foram sincronizadas mediante inserção de esponja vaginal impregnada com 60mg de medroxyprogesterona (MAP Progespon®, Intervet / Schering-Plough) e injeção intramuscular (IM) de 2,5 µg de D-cloprostenol (0,5 mL Prolise®) em um dia aleatório do ciclo estral, considerado como dia (D) 0. No D6 pela manhã, as esponjas foram retiradas e após 24 horas (D7) administrou-se 25 µg de lecirelina, análogo de GnRH por via IM (Gestran Plus® -Tecnopec). A IATF ocorreu entre 52 e 58 horas após retirada do implante. A avaliação ovariana foi realizada por ultrassonografia transretal no D0, D2, D4 e manhã do D6 a cada 48 horas, e posteriormente (D6 a noite, D7 e D8) a cada 12 horas (7 h e 19h) pelo mesmo operador com os animais em estação e sem sedação. Foi determinado o numero total de folículos (TF), número de folículos maiores que 4,5 mm (QF), o maior e menor diâmetro do maior folículo (MAF; MEF) (mm), e o maior e menor diâmetro dos ovários (MAO, MEO) (cm). Os dados da avaliação ovariana foram analisados pelo procedimento MIXED do SAS para testar os efeitos de tratamento, considerando-se p<0,05. A inclusão de grão de soja integral na dieta não alterou as variáveis estudadas (p>0.05). As médias encontradas considerando os dois tratamentos foram de 2,61, 0,80, 0,55, 0,47, 1,79 e 1,4 respectivamente para TF, QF, MAF, MEF, MAO e MEO. Embora tenha se administrado um indutor de ovulação no D7, os valores encontrados para MAF e MEF no D8 sugerem que a ovulação tenha ocorrido posterior ao término das análises. A inclusão de grão de soja integral tostada na dieta não influenciou as respostas ovarianas estudadas.

Palavras-chave: ovário, diâmetro folicular, soja em grão.

Keywords: ovary, folicular diameter, soybeans.



Indução do parto em ovelhas com diferentes doses de glicocorticoide

Induction of labor in sheep with different doses of glucocorticoid

Álvaro dos Santos Alves, Rodrigo Freitas Bittencourt*, Elisiane Sateles dos Santos, Isabela Costa Vasconcelos, Luana Padilha Zurita Claro dos Reis, Luiz Di Paolo Maggitti Junior, João Vitor Gomes de Carvalho, Marcus Vinícios Galvão Loiola, Morgana Duarte Felix, Bia Santos Souza Carôso, Marcos Chalhoub Coelho Lima

Setor de Reprodução Animal e Obstetrícia Veterinária, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal da Bahia, Salvador, BA, Brasil.

*E-mail: rfb@ufba.br

A indução do parto é uma prática necessária quando se deseja uma maior concentração dos partos com o intuito de racionalizar tempo e mão-de-obra, além da necessidade de um melhor acompanhamento à parturiente e o neonato, evitando com isto perdas econômicas. O objetivo desse estudo foi avaliar a eficácia de duas doses de dexametasona, 8mg e 16mg na indução do parto em ovelhas submetidas à IATF e monta natural controlada no repasse. O experimento foi realizado nas fazendas experimentais da Escola de Medicina Veterinária e Zootecniada UFBA, localizada nos municípios de Entre Rios – BA e São Gonçalo - BA. Foram utilizadas 72 ovelhas da raça Santa Inês que foram submetidas à IATF por laparoscopia, ou cobertas por monta controlada no cio de retorno após a IATF. Aos 145 dias da inseminaçãoe do repasse, esses animais foram divididos aleatoriamente em três grupos, nos quais foram aplicadas diferentes doses de dexametasona (Azium® MSD Saúde Animal – São Paulo, SP, Brasil) via intramuscular. O grupo 1 (n=21) corresponde ao grupo controle, que não recebeu dexametasona. O grupo 2 (n=28) formado por animais que receberam 8mg e o grupo 3 (n=23), com dose de 16mg de dexametasona. Para avaliar a diferença entre os grupos utilizou-se o teste KruskalWallis, com valores ajustados pelo teste de Bonferoni, com nível de significância de 5%. A média de tempo entre indução e parto no grupo 1, 2 e 3 foram de 130,2±41,5, 53,1±26.9 e 40,5±12.5 horas. Foi observado que, o grupo controle teve maior intervalo de tempo até o parto (P<0,05) e não foi encontrada diferença significativa entre os grupos 2 e 3. Conclui-se que a indução do parto promovida pela dexametasona foi eficiente em ambas as doses estudadas, sendo assim, o uso da dexametasona na dose de 8mg é efetiva quando se busca concentrar os partos em ovinos.

Palavras-chave: ovelhas, glicocorticoide, indução. *Keywords*: *sheeps*, *glucocorticoid*, *induction*.



Momento adequado da inseminação artificial com sêmen congelado em ovelhas Santa Inês

Ideal moment for time of artificial insemination with frozen semen in Santa Ines ewes

Diogo Gutemberg Nascimento Bezerra¹ Carlos Rhuan Rocha Malta¹, Mateus Dias de Morais¹, Breno Barros de Santana¹, Oswaldo Christiano Gomes Neto², Avaniel Marinho da Silva³, Maria Madalena Pessoa Guerra⁴, Gustavo Ferrer Carneiro¹

¹UFRPE/UAG Garanhuns, PE, Brasil; ²Centro de Equinos de Pernambuco (CEPE), Gravatá, PE, Brasil; ²HEBRON Farmaceutica, Caruaru, PE, Brasil; ³UFRPE/DMV, Recife, PE, Brasil. *E-mail: carneirogustavo1@gmail.com

A utilização da Inseminação Artificial com sêmen congelado é uma importante ferramenta para o melhoramento genético na espécie ovina. Nesta espécie, as taxas de concepção após inseminação artificial com sêmen congelado apresentam resultados variáveis. Um dos fatores envolvidos diz respeito ao protocolo executado. É sabido que o sêmen congelado ovino apresenta limitações o que pode comprometer os resultados. Este trabalho teve por objetivo avaliar 3 diferentes horários de inseminação artificial na taxa de prenhez de ovelhas Santa Inês, Foram utilizadas 340 ovelhas da raça Santa Inês, pluríparas, hígidas, com faixa etária de dois a cinco anos, com escore corporal entre 2,0 a 3,5 mantidas em regime semi-intensivo, alimentadas, diariamente, com pasto de braquiária (Brachiaria sp.) e 200 gramas diárias de ração comercial, além de suplementação mineral e água à vontade. Os animais foram divididos aleatoriamente em 3 grupos: T50 (n=45 ovelhas), T55 (n=110 ovelhas) e T60 (n= 185 ovelhas) submetido a inseminação laparoscópica. Em todos os grupos a sincronização do estro foi efetuada com dispositivos vaginais contendo 60 mg de MPA (acetato de medroxiprogesterona) durante 12 dias e 400 UI de eCG i.m. (Novormon®, Syntex), no momento da remoção. A inseminação artificial foi realizada 50 horas (T50), 55 horas (T55) e 60 horas (T60) após remoção do dispositivo vaginal. As IAs por via laparoscópica foram realizadas sem prévia detecção do estro, em todas as ovelhas, com uma dose de sêmen congelado proveniente de carneiro com fertilidade comprovada contendo 60 milhões de espermatozoides totais por dose. Para a inseminação laparoscópica, as ovelhas foram mantidas em jejum alimentar e hídrico durante 24 horas. Para análise estatística foi utilizado o teste de Mann-Whitney (Statsoft, Inc, 1995), adotando-se o nível de 5% como limiar de significância. Não foi encontrada diferença significativa na taxa de prenhez das IAs entre T50 (19/45 - 42,2%), T55 (55/110 - 50%) e T60 (101/185 - 54,6%). A taxa total de prenhez dos 3 grupos foi de 51,46% (175/340), considerada dentro dos números descritos na literatura e o efeito hora da IA não ficou evidenciado quando comparados 50, 55 ou 60 horas após remoção do dispositivo vaginal.

Palavras-chave: ovino, inseminação, laparoscopia,

Keywords: ovine, insemination, laparoscopy.

Esse projeto fez parte do Edital CNPq 22/2010 – REPENSA – Rede Caprino e Ovino.



O Flushing ultracurto com glicerina em ovelhas submetidas à inseminação artificial em tempo fixo pode aumentar a prolificidade?

Flushing with glycerin in sheep subjected to fixed-time artificial insemination protocol increases the prolificity?

<u>Felipe Barbosa Macêdo de Almeida</u>, Rodrigo Freitas Bittencourt*, Endrigo Adonis Braga de Araujo, Antonio de Lisboa Ribeiro Filho, Marcos Chalhoub Coelho Lima, Aline Dórea Luz Menezes, Mariana Santos dos Anjos, Pamela Silva de Almeida, Renata Oliveira Barreto, Alberto Lopes Gusmão

Setor de Reprodução Animal e Obstetrícia Veterinária, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal da Bahia, Salvador, BA, Brasil.

*E-mail: rfb@ufba.br

Os índices insatisfatórios de desempenho produtivo e reprodutivo, tornam os ovinos alvos frequentes de estudos que buscam melhorar essas condições. Neste contexto, uma estratégia para melhorar o desempenho reprodutivo da espécie é a suplementação com o uso de soluções glicogênicas conhecido como flushing, antes do período de reprodução. Desta forma, o objetivo do estudo foi avaliar o efeito do flushing energético ultracurto, com uso da glicerina, sobre as taxas de concepção, parição e partos duplos, além dos índices de prolificidade de ovelhas inseminadas em tempo fixo. Foram utilizadas 44 ovelhas das raças Dorper e Santa Inês previamente submetidas a exame clinico-ginecológico e avaliação do escore de condição corporal (ECC). Inicialmente os animais foram submetidos a um protocolo de sincronização do estro, iniciado com introdução de esponja vaginal contendo 60mg de acetato de medroxiprogesterona (D0). Após seis dias (D6) foi realizada a aplicação de 37,51g de D -Cloprostenol e 300UI de eCG via intramuscular (i.m.). As esponjas foram retiradas no dia 7 e, neste momento, os animais foram divididos aleatoriamente em dois grupos experimentais - grupo sem glicerina (T1) e grupo com glicerina (T2), para avaliar o efeito da glicerina (99,5% de glicerol) no flushing de ovelhas. No grupo T1 (n=23) os animais não receberam tratamento e no T2 (n=21) os animais receberam 100mL de glicerina por via oral. Após 35 horas da retirada da esponja, aplicou-se 200UI i.m. de hCG em todos os animais. As inseminações ocorreram 55 horas após a retirada das esponjas pelo método laparoscópico. O diagnóstico de gestação foi realizado 45 dias após as inseminações, por meio da ultrassonografia transretal, sendo considerado diagnóstico de gestação positivo a presença de uma vesícula gestacional. Para a análise das características avaliadas, foi empregado o programa estatístico Statistical Analysis System (SAS) - versão 9.0 (2002). A taxa de concepção obtida foi de 69,5% para o T1, enquanto que o T2 apresentou uma taxa de concepção de 47,6%, não sendo observada diferença estatística (P>0,05). A taxa média de concepção obtida foi 58,5%, resultado inferior ao relatado na literatura ao avaliar a influência de diferentes dietas para os grupos com ou sem suplementação. Essas diferenças podem ser resultantes de diversos fatores, tais como o tipo de *flushing*, o período e tipo de fornecimento, além do protocolo de sincronização de estro e a inseminação. Os percentuais de partos duplos obtidos não diferiram estatisticamente (P>0,05) entre os grupos, sendo eles 31,2% para o T1 e 40,0% para o T2, bem como as médias obtidas para a prolificidade permaneceram dentro do citado na literatura, com índices de prolificidade semelhantes (P>0.05) para o T1 (1,3) e o T2 (1,4). De acordo com este estudo, a utilização da glicerina no flushing ultracurto de ovelhas não impactou a taxa de concepção, taxa de parição, partos gemelares e índices de prolificidade. No entanto, novos estudos deverão ser realizados para avaliar outros parâmetros, entre eles o momento da administração e outras dosagens da glicerina, bem como a taxa de ovulação.

Palavras-chave: Glicerol, prolificidade, flushing.

Keywords: Glycerol, prolificity, flushing.



O tempo gasto no procedimento de inseminação artificial por laparoscopia em ovinos influencia na taxa de gestação?

Has the time spent on artificial insemination by laparoscopy in sheep influenced the pregnancy rate?

<u>Kárita da Mata Fuchs</u>, Antonio de Lisboa Ribeiro Filho, Rodrigo Freitas Bittencourt*, Mariana Alves de Andrade Silva, Elisiane Sateles dos Santos, Tiago Oliveira Brandão, Larissa Rodrigues Santana, Felipe da Silva Neri, Maíra Planzo Fernandes, Gleice Mendes Xavier, Adrielle da Silva Lima

Setor de Reprodução Animal e Obstetrícia Veterinária da Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal da Bahia, UFBA, Salvador, BA. *E-mail: rfb@ufba.br

No intuito de alcançar bons índices de gestação com o uso de sêmen criopreservado em ovinos, realiza-se inseminação laparoscópica, possibilitando assim, a deposição de sêmen de forma intrauterina. Esta se torna uma técnica de foco para estudos, já que seu uso otimiza a eficiência reprodutiva desses animais e, consequentemente, aumenta os lucros do sistema de produção. Sabe-se que um tempo prolongado de manipulação da cérvix durante a inseminação transcervical pode apresentar influencia negativa em relação à fertilidade, mas pouco se sabe sobre a manipulação do útero durante a inseminação laparoscópica. Sendo assim, este trabalho teve como objetivo avaliar a influência do tempo gasto na inseminação artificial por laparoscopia em ovinos sob a taxa de gestação. O experimento foi realizado na Fazenda Experimental de Entre Rios e na Fazenda Experimental de São Gonçalo dos Campos, ambas pertencentes à Universidade Federal da Bahia. Utilizou-se 84 ovelhas selecionadas a partir da avaliação ginecológica e de escore corporal. Os animais foram submetidos à um protocolo de sincronização de estro para inseminação artificial em tempo fixo (IATF) com administração de gonadotrofina coriônica equina (eCG; 300 UI) sete dias após a inserção do implante de progesterona (CIDR®). A retirada do CIDR® ocorreu um dia após a administração do eCG. A inseminação foi feita 54 horas após a retirada do implante utilizando sêmen criopreservado com deposição intra-uterina via laparoscopia, realizada por um único operador experiente.Os animais foram divididos aleatoriamente em dois grupos de acordo com o tempo gasto na inseminação artificial por laparoscopia (IAL). O grupo G1 (n=34) foi composto por animais que obtiveram tempo na IAL igual ou inferior a 3 minutos, já o G2 (n=50) foi composto por animais que obtiveram tempo na IAL igual ou superior a 4 minutos. Posteriormente, as ovelhas foram submetidas a avliação gestacional por ultrassonografia transretal, aos 45 dias pós-inseminação. As análises estastísticas foram realizadas através do programa SAS, Versão 9.0, 2002. A taxa de gestação de acordo com o tempo do procedimento IAL foi verificada pelo teste qui-quadrado e foi utilizado nível de significância de 5%. Foi observado taxa de gestação do grupo G1 de 61,76% e do G2 de 54%, apesar do índice de prenhez do G1 ter sido maior, este não foi significativo (P>0.05). Desta forma, pôde-se concluir que o tempo gasto na IAL em ovinos, neste estudo, não interferiu na taxa de gestação dos animais.

Palavras-chave: Sêmen criopreservado, eficiência reprodutiva, manipulação uterina. *Keywords*: *Cryopreserved semen, reproductive efficiency, uterine manipulation.*



Parâmetros seminais de cordeiros pré-puberes suplementados com farelo de girassol

Seminal parameters of prepubertal lambs supplemented with sunflower meal

Walter Augusto dos Santos Marinho^{1,*}, Luciana Keiko Hatamoto Zervoudakis², Delaine Cristina de Carvalho¹, Geovanne Ferreira Rebouças¹, Henrique Leal Perez¹, Pedro Paulo Tsuneda², Moacir Ferreira Duarte Júnior², Tathiana Ferguson Motheo², Ana Laísa Cândida de Resende Fraga², Luis Eduardo Senra e Silva²

¹Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Mato Grosso-IFMT/SVC: ²Universidade Federal do Mato Grosso (UFMT), Cuiabá, MT, Brasil.

* E-mail: walter.marinho@svc.ifmt.edu.br

A condição nutricional é fator primordial para o desempenho reprodutivo, sendo que a fonte de proteína na dieta influencia na qualidade das repostas reprodutivas, atuando diretamente sobre o desenvolvimento testicular, produção de hormônios e na espermatogênese, tendo grande influência nos índices de fertilidade de ovinos. A utilização de coprodutos de culturas oleaginosas pode levar a diminuição do custo com a alimentação. Nesse contexto, os coprodutos provenientes do girassol tornam-se uma alternativa interessante para a alimentação animal, gerando resíduos com grande valor nutricional para ruminantes. Objetivou-se avaliar o uso do farelo de girassol em até 20% em substituição ao farelo de soja em suplementos de ovinos em pastejo, sobre o desenvolvimento testicular e qualidade seminal de cordeiros pré-puberes. O experimento foi realizado no setor da ovinocultura do IFMT- Campus São Vicente, município de Campo Verde- MT. Foram utilizados 16 cordeiros, machos, mestiços da raça Santa Inês x Dorper, com idade inicial de 90 dias e peso médio de 17,65 kg, distribuídos em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com quatro tratamentos e quatro repetições. Os suplementos fornecidos continham diferentes percentuais de farelo de girassol em substituição ao farelo de soja, conforme os tratamentos: T1-(controle) suplemento com farelo de soja, T2-10%; T3-15% e T4-20% de farelo de girassol. O experimento teve duração de 97 dias, com a suplementação de 1% do peso vivo diariamente, em quatro piquetes de Brachiaria decumbens com 0,16 ha (hectare) cada, providos de bebedouro e cocho para suplementação mineral, em pastejo rotacionado. A coleta seminal foi realizada após 97 dias de suplementação por eletroestimulação e avaliou-se a consistência testicular, circunferência escrotal, volume testicular. Os parâmetros seminais analisados foram: Turbilhonamento (Turb), motilidade espermática (MOT), vigor espermático (VIG), concentração do ejaculado (CON), viabilidade espermática com a coloração de eosina/nigrosina (EOS) e morfologia espermática. O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, e as médias foram analisadas através da ANOVA e comparadas pelo teste de Tukey com nível de significância de 5%, através do programa estatístico SAS, versão 9.1(SAS,2001).Em relação à biometria testicular, percebeu-se que as variáveis quantitativas avaliadas, altura, largura, comprimento, volume dos testículos direito e esquerdo, circunferência escrotal e consistência testicular não houve influência dos tratamentos (P > 0,05). Não houve diferença estatística (P>0,05) (média±erro padrão), para as variáveis volume do ejaculado (0,75±0,14; 0,75±0,05; 1,0±0,25; 0,6±0,13); MOT (60±17,44; 80; 43±42; 80±10); Turb (1,75±0,85; 1,0; 1,5±1,5; 3,5±0,5); VIG (3,0; 4,0; 2,5; 3,0), Defeito menor (%) (9,6; 13,5; 6,25; 15); Defeito maior (%) (1,1; 4,5; 0,75; 3,25); Defeito total (%) (10,75; 18; 7; 18,25) entre os tratamentos(T1,T2,T3,T4), respectivamente. Também não houve diferença (P>0,05) para a concentração e viabilidade espermática. O uso do farelo de girassol em substituição parcial ao farelo de soja como fonte proteica não influenciou o desenvolvimento testicular e a qualidade seminal de cordeiros pré-púberes, portanto conclui-se que o uso do farelo de girassol pode ser utilizado na dieta de cordeiros pré púberes em 20% sem causar alterações nos parâmetros reprodutivos.

Palavras-chave: puberdade, fertilidade, ovinos.

Keywords: Puberty, fertility, sheep.



Piometra em ovelha: Relato de caso

Pyometra in sheep: Case Report

<u>Lucas Emanuel Ferreira Canuto</u>^{1,*}, João Carlos Pinheiro Ferreira², Lucas Troncarelli Rodrigues¹, Felipe Erison Medrado Rocha de Sousa¹, Fernando Evaristo da Silva¹, Renata dos Santos Belluci³, Roberto Rodrigues da Rosa Filho³, Patrícia de Faria Lainetti¹, Antonio Fernando Leis Filho³, Noeme Sousa Rocha², Simone Biagio Chiacchio²

¹Mestrando do Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho Campus Botucatu, SP, Brasil; ²Professor da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho Campus Botucatu, SP, Brasil; ³Residente da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho Campus Botucatu, SP, Brasil.
*E-mail: lucas.canuto@hotmail.com

A piometra, patologia uterina caracterizada pelo acúmulo de exsudato purulento ou mucopurulento no útero, é comumente encontrada em cadelas, gatas e vaca, sendo contudo, rara em ovelhas. Caracterizase pelo anestro, devido a incapacidade endometrial de secretar PGF2α e a consequente manutenção do corpo luteo, podendo entretanto estar também associada à presença de tumor ovariano. Em geral, os animais de produção afetados não apresentam sinais sistêmicos de doença, a exceção da descarga vaginal pururenta pode estar presente de modo discreto ou intermitente. Foi atendida no Hospital Veterinário da FMVZ-UNESP Botucatu, no dia 18 de novembro de 2016, e encaminhado ao departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária, uma ovelha da raça Bergamácia de aproximadamente 6 anos de idade com histórico de último parto há dois anos apresentando secreção vaginal fétida e purulenta. A fêmea apresentava-se magra (40 Kg), com mucosas visíveis róseas, urina e fezes sem alterações, temperatura retal de 38,4C°, hiporexia há uma semana e em decúbito external permanente, O animal passou por exame clínico geral e posteriormente por exame ginecológico; a ultrassonografia transabdominal revelou espessamento e irregularidade do endométrio e dilatação do lume uterino (6 cm de diâmetro) pela presença de conteúdo hipoecóico. No ovário direito observou-se uma estrutura cística de 3,5cm e o ovário esquerdo não foi localizado. No exame externo observou-se secreção vulvar purulenta, sendo confirmada a sua origem uterina por meio de vaginoscopia. Foi realizado hemograma completo, que evidenciou anemia (VG: 15%), hipoproteinemia (5,4 g/dL). O exame bioquímico do sangue revelou aumento de ureia (52,4 mg/dL) e discreta diminuição da creatinina (0,98mg/ dL). O exame coproparasitológico apresentou resultado dentro dos valores normais para espécie. Como tratamento, realizou-se transfusão de sangue para correção da anemia e antibioticoterapia sistémica (enrofloxacina - 2,5 mg/kg sid), por via subcutânea. O Animal veio a óbito no segundo dia de tratamento, sendo encaminhado ao setor de patologia veterinária para necropsia, que revelou como causa mortis insuficiência respiratória aguda por edema pulmonar. O processo principal observado foi a presença de abscesso no ovário direito e os processos secundários foram piometra e congestão cerebral moderada. Não foi possível avaliar a presença de corpo lúteo no ovário direito devido o comprometimento da estrutura o qual estava tomado pelo abscesso. Os achados, portanto, confirmaram a piometra, que pode ter sido a fonte, por via ascendente, para a contaminação do ovário e desenvolvimento do abscesso ovariano, e posterior desenvolvimento do quadro de choque endotóxico que ocasionou o óbito do animal. A carência de relatos sobre piometra em ovelhas faz com que sua etiopatogenia seja pouco compreendida na espécie ovina.

Palavras-chave: ovino, útero, patologia, reprodução. *Keywords*: *sheep, uterus, pathology, reproduction.*



Protocolo hormonal curto e IATF com sêmen refrigerado em ovelhas Santa Inês paridas ou solteiras

Short hormonal protocol and FTAI with cooled semen in suckling or single Santa Inês ewes

Caio Tacito Gomes Alvares^{1,*}, Viviane Souza Siqueira Couto¹, Letícia Fonseca Santos¹, Antônio Jorge Del Rei², Jurandir Ferreira da Cruz², Claudio Coutinho Bartolomeu³

¹Universidade Estadual de Santa Cruz, BA, Brasil; ²Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, BA, Brasil; ³Universidade Federal Rural de Pernambuco, PE, Brasil. *E-mail: caioalvares@uol.com.br

A adoção de protocolos hormonais busca uma sincronização eficiente da ovulação de ovelhas, o que permite uma redução da estação reprodutiva e, consequentemente, o intervalo entre partos. Além disso, esta biotécnica pode auxiliar, em especial, no retorno à ciclicidade reprodutiva de ovelhas com cria, já que estão fisiologicamente em anestro lactacional, o que pode estender o período de serviço. Este trabalho teve como objetivo a avaliação da eficiência de um protocolo hormonal curto e inseminação artificial em tempo fixo (IATF) por retração cervical em ovelhas Santa Inês solteiras e paridas. O estudo foi realizado na Estação Experimental Fazenda Almada, UESC, Ilhéus/BA, no período de julho de 2016. Foram utilizadas 44 ovelhas pluríparas, sendo 20 solteiras (54,7 ± 5,2kg PV, 3.8 ± 0.5 ECC) e 24 paridas (48.1 ± 4.6 kg PV, 2.5 ± 0.3 ECC, 75 ± 18 dias pós-parto); um reprodutor Santa Inês com fertilidade comprovada e dois rufiões vasectomizados para identificação de estro pósprotocolo (até a IATF) e ciclo estral subsequente. O protocolo hormonal consistiu em implante vaginal de esponja com acetato de medroxiprogesterona no D0, 60mg (Progespon, Zoetis®); no D5, aplicação IM de PGF2alfa, 75µg (Croniben, Biogénesis Bagó®) e 200UI de eCG (SincroECG, Ouro Fino®), e no D6, retirada da esponja. A IATF ocorreu em torno de 55h após fim do protocolo, com sêmen do reprodutor refrigerado a 5°C (tempo de resfriamento de - 0,05°C/min.) e concentração espermática de 300×10^6 /dose. Após identificação do retorno do estro pelos rufiões (17 \pm 2 d), o reprodutor foi utilizado para repasse. Observou-se a ocorrência do estro em até 48h após a retirada do implante em 80% das ovelhas solteiras e 67% das paridas. A taxa de não retorno ao estro foi 25% para ovelhas solteiras e 17% nas paridas. No diagnóstico de gestação por ultrassonografia (aos 35 dias pós-IATF), constatou-se 20% de prenhez em ovelhas solteiras e 8,3% nas paridas. Por outro lado, a taxa de prenhez após o repasse foi de 87,5% em ovelhas solteiras e 91% nas paridas. Conclui-se que as ovelhas não responderam de forma satisfatória ao protocolo hormonal curto com IATF, contudo, ambas as categorias apresentaram ciclicidade reprodutiva viável logo ao primeiro repasse, possibilitando o encurtamento da estação reprodutiva.

Palavras-chave: MAP, ovinos, sincronização. *Keywords*: *MAP*, *sheep*, *synchronization*.



Qual a relação entre as avaliações subjetiva e computadorizada da cinética espermática em ovinos?

What is the relation between the subjective and computerized evaluation of sperm kinetics in sheep?

<u>Isabela Costa Vasconcelos</u>, Rodrigo Freitas Bittencourt*, Elisiane Sateles dos Santos, Gabriel Felipe Oliveira de Menezes, Marcus Vinicius Galvão Loiola, Larissa Rodrigues Santana, Álvaro dos Santos Alves, João Victor Gomes da Silva Carvalho, Bia Santos Souza Carôso,

Luana Padilha Zurita Claro dos Reis

Setor de Reprodução Animal e Obstetrícia Veterinária, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal da Bahia, Salvador, BA, Brasil.

*E-mail: rfb@ufba.br

A avaliação da cinética espermática é um parâmetro essencial durante a análise da qualidade do sêmen. Essa avaliação é feita na rotina da andrologia através de uma análise subjetiva, na qual pode-se estimar a motilidade total, motilidade progressiva e vigor espermático. É uma técnica que pode apresentar variações devido às limitações humanas e o resultado depende da experiência do avaliador. Buscando uma maior acurácia das análises da cinética espermática, sistemas computadorizados (CASA) foram desenvolvidos. Porém, seu uso é limitado no campo por conta do elevado custo do equipamento. O objetivo desse trabalho foi comparar as técnicas de análise subjetiva e computadorizada do sêmen congelado da espécie ovina e saber se há correlações importantes entre os dois métodos. Para o estudo foram utilizados 30 ovinos em idade reprodutiva da raça Santa Inês. Para cada reprodutor foi colhido de um a dois ejaculados com vagina artificial, totalizando 49 repetições. A análise subjetiva foi realizada após o descongelamento, em microscopia óptica com aumento de 200x e as características de cinética espermática avaliadas foram: motilidade progressiva subjetiva (MPS, %), motilidade total subjetiva (MTS, %) e vigor espermático (VIG, escala de 0 a 5). Simultaneamente foram realizadas as análises no CASA (IVOS 12, Hamiton Thorn Biosciences, Beverly, MA, EUA), do sêmen diluído a uma concentração de 16,6 milhões de espermatozoides por mL, com as seguintes avaliações: motilidade progressiva computadorizada (MPC, %), motilidade total computadorizada (MTC, %), velocidade de trajeto (VAP, µm/s), velocidade retilínea (VSL, µm/s), velocidade curvilínea (VCL, μm/s) e deslocamento lateral de cabeça (ALH, μm). O programa empregado para análise estatística foi o Statistical analyses system (SAS), versão 9.0 (2002) e o estudo das médias e correlações feito através dos procedimentos MEANS e CORR, com nível de significância de 5%. Na comparação entre médias não foi observado diferença estatística na avaliação subjetiva e CASA para a motilidade total (MTS= 73.46±11.32 e MTC=71.55±11.65). Em contra partida, foi observado diferença estatística entre as médias de motilidade progressiva (MPS=58.06±12.06 e MPC=51.85±10.98). Verificou-se também que a motilidade total subjetiva (MTS, %) demonstrou correlações positivas altamente significativas (P<0,0001) com os parâmetros de MPS (r=0,94), MTC (r=0,96) e também com MPC (r=0,85). Para a MPS foi observado correlação positiva (P<0,0001) com MTC (r=0,91), MPC (r=0,87) além dos parâmetros de VSL (r=0,45) e VAP (r=0,39). O vigor espermático, um método subjetivo de avaliação, apresentou correlação positiva significativa (P<0,05) com a VSL. Os demais parâmetros computadorizados (VCL e ALH) não apresentaram correlações positivas com nenhuma análise subjetiva. Com esses resultados, nos certificamos que há alta correlação entre os métodos subjetivos e computadorizados para as análises da cinética espermática. Entretanto, foi encontrado diferença estatística entre as médias para MPS e MPC, demonstrando que o CASA possui maior sensibilidade na avaliação do padrão de progressividade. Os resultados encontrados confirmam que a avaliação subjetiva da cinética espermática é uma análise segura, com alta relação com demais parâmetros avaliados pelo sistema CASA, apresentando baixo custo e aplicabilidade a campo.

Palavras-chaves: sêmen, CASA, exame andrológico, motilidade.

Keywords: semen, CASA, andrological exam, motility.



Repetibilidade de resposta para produção in vivo de embriões em ovelhas Santa Inês

Repeatability of response for embryo in vivo production in Santa Inês sheep

Pedro Henrique Nicolau Pinto¹, Gláucia Mota Bragança¹, Lilian dos Santos Ribeiro¹, Mário Felipe Alvarez Balaro¹, Viviane Lopes Brair², Isabel Oliveira Cosentino¹, Vivian Angélico Pereira Alfradique¹, Jeferson Ferreira da Fonseca², Felipe Zandonadi Brandão^{1,*}

¹Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ, Brasil; ²Universidade do Grande Rio, Duque de Caxias, RJ, Brasil; ³Embrapa Caprinos e Ovinos, Coronel Pacheco, MG, Brasil. *E-mail: fzbrandao@id.uff.br

Tem sido observado em caprinos e bovinos que animais com desempenho satisfatório em programas de superovulação tendem a manter esta boa resposta em protocolos consecutivos. Esta característica tem uma grande aplicabilidade, uma vez que um primeiro programa para produção de embriões poderia servir para triar animais com maior potencial de resposta. Assim, apenas as doadoras com histórico de alto potencial de resposta seriam incluídas em futuras superovulações, o que poderia aumentar a eficiência da MOTE. Levando em conta estes conceitos, objetivou-se verificar se borregas da raça Santa Inês mantém um padrão de resposta quando submetidas a três superovulações consecutivas para a produção in vivo de embriões. Vinte e cinco borregas (11,9 ± 1,1 meses de idade; ECC: 2,8 ± 0,3) foram superovuladas 80 h após um protocolo curto de sincronização de estro (Balaro MFA et al. 2016. DomestAnimEndocrinol, 54:10-14), por meio de seis aplicações decrescentes de FSH, administradas a cada 12 horas (50/50, 30/30, 20/20 mg), totalizando 200 mg de FSH (Folltropin-V[®], Bioniche Animal Health, CA) por animal. Na última dose de FSH, aplicou-se 0.24 mg de cloprostenol (Estron[®], Agener União, BR) e, 24 horas após, 0,025 mg de lecirelina (Gestran Plus[®], Tecnopec, BR). Na primeira dose de FSH uma nova esponja (Progespon®, Zoetis, BR) foi inserida e removida na penúltima dose deste hormônio. Após a última dose de FSH realizou-se monta natural controlada a cada 12 horas até o final do estro. O intervalo entre cada superovulação (SOV) foi de 17 dias, todas realizadas durante a estação reprodutiva. As fêmeas que responderam à SOV (>3 CL) foram submetidas à coleta cirúrgica de embriões. Os dados foram inicialmente testados quanto à normalidade pelo teste de Lilliefors. As variáveis número de CL, total de estruturas recuperadas e taxa de recuperação foram submetidas ao teste de Kruskal-Wallis com comparação de médias pelo teste de Dunn a 5% de significância. Determinou-se também o índice de correlação de Pearson entre as variáveis em ambas as superovulações. A taxa de recuperação apresentou uma tendência em diminuir entre as SOV (p<0,06) 75,4%; 52,1%; 48,4% para 1ª, 2ª e 3ª SOV, respectivamente. A média de CL foi superior (p<0,05) na 1ª SOV e igual (p>0,05) na 2ª e 3ª SOV (7,48±4,79 vs. 3,04±4,97 e 2,2±3,55). Igualmente, a média de estruturas recupera das foi superior (p<0,05) na 1ª SOV e igual (p>0,05) na 2ª e 3ª SOV (5,56±4,29; 1,8±3,99; 1,2±2,25). Foram encontradas correlações significativas entre a 2ª e 3ª SOV, para o número de CL (r=0,86; p<0,01) e para o número de estruturas recuperadas (r=0,77; p<0,01). Foi bastante inesperado o fato de não ter sido encontrado correlação entre a 1ª SOV e as superovulações consecutivas, o que talvez possa ser justificado pelo curto intervalo de tempo entre as SOV. No entanto, as altas correlações obtidas entre a 2ª e 3ª SOV permitem concluir que a repetibilidade de resposta tem potencial para ser utilizada como ferramenta na seleção de doadoras ovinas. Além disso, mais estudos são necessários para determinar, precisamente, em que condições esta metodologia poderia ser aplicada.

Palavras-chave: MOTE, seleção de doadoras, superovulação, ovelha.

Keywords: MOET, donors selection, superovulation, ewe.

Auxílio financeiro: Capes, Embrapa (02.13.06.026.00.02) e Faperj.



Seleção de ovelhas doadoras de embrião por aplicação de eCG

Selection test for sheep embryo donors with eCG

Viviane Lopes Brair¹, Pedro Henrique Nicolau Pinto², Gláucia Mota Bragança², Gustavo Bervian dos Santos², Mário Felipe Alvarez Balaro², Joanna Maria Gonçalves Souza-Fabjan¹, Jeferson Ferreira da Fonseca³, Felipe Zandonadi Brandão²*

¹Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ Brasil; ²Universidade do Grande Rio, Duque de Caxias, RJ, Brasil; ³Embrapa Caprinos e Ovinos, Coronel Pacheco, MG, Brasil. *E-mail: fzbrandao@id.uff.br

A alta variabilidade de resposta à superovulação é um sério entrave à produção in vivo de embriões em ovinos. Por isso, técnicas que permitam selecionar doadoras com maior potencial de resposta têm sido desenvolvidas. Deste modo, foi testada uma metodologia hormonal de triagem a partir de uma dose única e elevada de gonadotrofina coriônica equina (eCG) e a sua correlação de resposta ao protocolo padrão de hormônio folículo estimulante (FSH) visando a produção in vivo de embriões ovinos da raça Santa Inês. Vinte e cinco borregas da raça Santa Inês (11,9 \pm 1,1 meses de idade; ECC: 2,8 \pm 0,3) receberam protocolo curto de indução de estro sincronizado (Balaro et al. 2016. Domest Anim Endocrinol, 54:10-14) com uma aplicação de 800 UI de eCG (Novormon®, Schering Plough, BR) 80 h após a retirada da esponja, este considerado como o primeiro dia (D0) do ciclo estral. Seis a sete dias após o término do estro, todos os animais foram submetidos à laparoscopia para a contagem de CL. Dezessete dias após a laparoscopia, as fêmeas foram novamente submetidas ao protocolo curto de sincronização descrito anteriormente, e então superovuladas por meio de seis aplicações decrescentes de FSH, administradas a cada 12 h (50/50, 30/30, 20/20 mg), totalizando 200 mg de FSH (Folltropin-V[®], Bioniche Animal Health, CA) por animal. Na última dose de FSH, aplicou-se 0,24 mg de cloprostenol (Estron[®], Agener União, BR) e, 24 h após, 0,025 mg de lecirelina (Gestran Plus[®], Tecnopec, BR). Na primeira dose de FSH uma nova esponja (Progespon[®], Zoetis, BR) foi inserida e removida na penúltima dose deste hormônio. Após a última dose de FSH realizou-se monta natural controlada a cada 12 h até o final do estro. As fêmeas que responderam à SOV (>3 CL) foram submetidas à coleta cirúrgica de embriões. Os animais foram divididos em dois grupos em função do número de CL após o protocolo com eCG e FSH: grupo de alta contagem (GA) e grupo de baixa contagem (GB). Utilizou-se como ponto de corte a mediana ≥4 CL e ≥7 CL para a eCG e FSH, respectivamente). Determinou-se o coeficiente Kappa e correlação de Spearman. Oito das quatorze ovelhas (57,1%; 8/14) com alta resposta ovulatória ao eCG (6,0±1,9 CL) mantiveram o mesmo padrão após o tratamento com FSH. Já, cinco das onze ovelhas (45,4%; 5/11) com baixa resposta ovulatória ao tratamento com eCG (2,0±1,0 CL) mantiveram o mesmo padrão após o tratamento com FSH. Em geral, 13 das 25 ovelhas (52%; 13/25) se mantiveram na mesma categoria de resposta, alta ou baixa, após o tratamento com FSH. O coeficiente Kappa e a correlação de Spearman não foram significativos (k=0,03 e rs= 0,02; p>0,05) entre os tratamentos. Assim, a adoção de um protocolo hormonal de triagem à base da eCG mostrou-se limitado nas condições experimentais propostas. Assim, novos estudos são necessários para uma seleção mais eficiente de ovelhas com maior potencial para a produção de embriões em programas MOTE.

Palavras-chave: corpo lúteo, embrião *in vivo*, Santa Inês. *Keywords:* corpus luteum, in vivo embryo production, Santa Inês.

Auxílio financeiro: Capes, Embrapa (02.13.06.026.00.02) e Faperj.



Taxa de concepção em ovelhas submetidas a IATF, com diferentes intervalos de tempo entre a inseminação artificial e o momento da retirada da fonte de progesterona e da administração do eCG

Conception rate in sheep submitted to FTAI with different time intervals between the artificial insemination and the progesterone source removal time and the eCG administration

<u>Luana Padilha Zurita Claro dos Reis</u>, Rodrigo Freitas Bittencourt*, João Victor Gomes da Silva Carvalho, Bia Santos Souza Carôso, Isabela Costa Vasconcelos, Álvaro dos Santos Alves, Antônio de Lisboa Ribeiro Filho, Elisiane Sateles dos Santos, Morgana Duarte Felix

Setor de Reprodução Animal da Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal da Bahia, Salvador, BA, Brasil.

*E-mail: rfb@ufba.br

A fim de induzir a sincronização do estro e ovulação em ovelhas, são utilizados protocolos hormonais a base de progestágenos, como o CIDR, associados à administração de eCG e hCG. A eCG utilizada em programas de inseminação em tempo fixo (IATF) tem como objetivo contribuir para o desenvolvimento folicular e aumento das taxas de ovulação e o hCG promove a sincronização da ovulação. Ao mesmo tempo, o momento da inseminação com sêmen congelado na IATF deve ser uma das preocupações no programa, devido a sua menor longevidade no sistema genital feminino, especialmente quando se utiliza o hCG, que além de sincronizar também reduz o intervalo de tempo entre a retirada da fonte de progesterona e a ovulação. Motivado pelos fatos expostos, este estudo teve como objetivo avaliar a influência do intervalo de tempo compreendido entre o momento da retirada do CIDR ou da administração de eCG e a realização da IATF em ovelhas. O experimento foi realizado em duas fazendas experimentais da Universidade Federal da Bahia, cujos resultados foram agrupados após observação de ausência do efeito do local. Foram utilizadas 85 ovelhas selecionadas através de avaliação ginecológica e escore de condição corporal, submetidas ao mesmo sistema de manejo nutricional e sanitário. Os animais foram submetidos ao protocolo de sincronização para IATF e, após sete dias da inserção do CIDR receberam administração do hormônio eCG (300UI). No oitavo dia o CIDR foi removido e as fêmeas receberam 37μ5g dePGF2α. O hCG foi administrado 20h antes da inseminação. Para o estudo da influência do intervalo de tempo entre a retirada do implante e a inseminação as fêmeas foram formados três grupos experimentais: Grupo GCIDR1 (n=30) cujo intervalo foi inferior a 54h, Grupo GCIDR 2 (n=29) com intervalo entre 54h e 55h e Grupo GCIDR3 (n=26) com intervalo maior que 55h. Quanto à aplicação de eCG, os grupos foram: Grupo GeCG1 (n=22) com intervalo de tempo menor que 69h, Grupo GeCG2 (n=19) com intervalo entre 69h e 71h e o Grupo GeCG3 (n=44) com intervalo maior que 71h. Após 45 dias da inseminação, foi realizado o diagnóstico de gestação por ultrassonografia transretal. As análises estatísticas foram realizadas no pacote estatístico SAS, versão 9.0 (2002). Para comparar a taxa de concepção nos diferentes grupos foi utilizado o teste qui-quadrado. Para verificar se os intervalos (GCIDR e GeCG) em horas apresentavam distribuição normal aplicou-se o teste de normalidade (Shapiro Wilk). Em seguida, o teste de Kruscal-Wallis foi utilizado para observar diferenças (P<0,05) entre os grupos estudados. Foi possível observar que a taxa de concepção não diferiu (P>0,05) entre os grupos GCIDR (GCIDR1: 40,91%, GCIDR2: 46,43% e GCIDR3 61,76%) e GeCG (GeCG1: 60%; GeCG: 42,86% e GeCG: 50%). As médias de tempo e desvios-padrão entre a retirada do CIDR e inseminação e da administração de eCG e a IATF, para as fêmeas prenhes foi de 54,40h e 1,168, e 71,4h e 2,423, e para as vazias foi de 54,46h e 1,031, e 70,55h e 2,088, respectivamente, também sem diferença significativa observada. Conclui-se que ovelhas podem ser submetidas a IATF, com os respectivos intervalos estudados neste trabalho, sem comprometimento das taxas de concepção.

Palavras-chave: ovelhas, gestação, protocolo, sincronização de estro.

Keywords: ewe, gestation, protocol, estrus synchronization.



Use of protocatechuic acid as the sole antioxidant in the base medium for *in vitro* culture of ovine isolated secondary follicles

Utilização do ácido protocatecuico como único antioxidante no meio base para o cultivo in vitro de folículos secundários ovinos isolados

Vanúzia Gonçalves Menezes¹, Jamile Maiara Silva Santos¹, Taís Jobard Silva e Macedo¹, Thae Lane Barbosa Gama Lins¹, Ricássio de Sousa Barberino², Bruna Bortoloni Gouveia¹, Maria Éllida de Sousa Bezerra³, Agnes Yasmin Pitombeira Cavalcante⁴, Mário Adriano Ávila Queiroz⁵, Raimundo Campos Palheta Jr⁶, Maria Helena Tavares de Matos⁶*

¹Doutoranda em Biotecnologia (RENORBIO), Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE, Brasil; ²Mestre em Ciências Veterinárias no Semiárido, Universidade Federal do Vale do São Francisco, Campus de Ciências Agrárias, Petrolina, PE, Brasil; ³Mestranda em Ciência Animal, Universidade Federal do Vale do São Francisco, Campus de Ciências Agrárias, Petrolina, PE, Brasil; ⁴Mestranda em Ciências Veterinárias no Semiárido, Universidade Federal do Vale do São Francisco, Campus de Ciências Agrárias, Petrolina, PE, Brasil; ⁵Docente do Colegiado Acadêmico de Zootecnia, Campus de Ciências Agrárias, Petrolina, PE, Brasil; ⁵Docente do Colegiado Acadêmico de Medicina Veterinária, Campus de Ciências Agrárias, Petrolina, PE, Brasil.

*E-mail: helena.matos@univasf.edu.br

Protocatecuic acid (PCA) is a phenolic compound that has been studied due to its antioxidant potential in vitro. However, its antioxidant effect on the in vitro culture of ovine isolated preantral follicles is not yet known. Thus, the present study evaluated the effect of the PCA as the sole antioxidant in the base medium for in vitro culture of ovine secondary follicles. The secondary follicles were isolated and cultured for 12 days in α -MEM supplemented with BSA, insulin, glutamine and hypoxanthine (α -MEM: antioxidant free-medium) or added by transferrin, selenium and ascorbic acid (α-MEM+; medium with antioxidant) or different concentrations of PCA (56.25; 112.5; 225; 450 or 900 µg/mL). Moreover, after culture, oocytes were matured and the chromatin configuration and DNA fragmentation were evaluated. After 12 days, the treatment containing 56.25 µg/mL PCA showed higher percentage of normal follicles than control medium and other treatments (P<0.05), except for 900 µg/mL PCA (P>0.05). The antrum formation was significantly higher in treatments containing 56.25; 112.5 or 900 μ g/mL PCA than α -MEM and similar (P>0.05) to the other treatments. The rates of fully grown oocytes ≥110 µm) were similar (P>0.05) among all treatments containing PCA and α-MEM+, and those were superior (P<0.05) to α -MEM, except for 450 µg/mL PCA (P>0.05). The oocyte levels of GSH and mitochondrial activity were high (P<0.05) in α -MEM+ compared to the α -MEM and similar (P>0.05) to all PCA treatments. The rates of meiotic resumption and DNA fragmentation were similar (P>0.05) between α-MEM+ and 56.25 μg/mL PCA. These findings highlight the importance of adding adequate concentrations of antioxidants agents to the culture medium. PCA has shown an important cytoprotective effect on different cell types, reducing oxidative stress and apoptosis, and promoting cell survival and proliferation. In conclusion, PCA at 56.25 µg/mL as the sole antioxidant added to the medium for ovine isolated secondary follicle culture, replacing the association of transferrin, selenium and ascorbic acid, maintains follicular survival, GSH and active mitochondria levels, meiotic developmental competence and DNA integrity of cultured oocytes.

Keywords: phenolic compound, oocyte, viability, GSH, mitochondria. *Palavras-chave*: composto fenólico, oócito, viabilidade, GSH, mitocôndria.



Uso de diferentes dosagens de eCG para indução e sincronização do estro em ovinos

Use of different dosages of eCG for oestrus induction and synchronization in sheep

João Victor Gomes de Carvalho, Rodrigo Freitas Bittencourt*, Elisiane Sateles dos Santos, Tiago Oliveira Brandão, Edivânia Oliveira de Jesus, Álvaro dos Santos Alves, Bia Santos Souza Carôso, Adrielle da Silva Lima, Luana Padilha Claro dos Reis Isabela Costa Vasconcelos, Marcos Chalhoub

Setor de Reprodução e Obstetrícia Veterinária da Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal da Bahia, salvador, BA, Brasil.

*E-mail: rfb@ufba.br

A indução e controle do estro e a inseminação artificial em tempo fixo (IATF), vêm se destacando em promover uma melhora nas taxas de ovulação e concepção nas ovelhas, sendo amplamente estudadas e difundidas para otimizar a eficiência reprodutiva desses animais. Os hormônios exógenos são utilizados para a indução do estro e ovulação de forma sincronizada e, dentre os protocolos hormonais, existem aqueles em que há o uso de Gonadotrofina Coriônica Equina (eCG), que é um fármaco de meia vida longa (até 3 dias) que ao ser administrado liga-se aos receptores de FSH e LH dos folículos e receptores de LH do corpo lúteo, o que cria condições para o crescimento folicular e ovulação. A dosagem a ser administrada desse hormônio é bem estabelecida na espécie bovina, mas, ainda necessita de padronização para a espécie ovina. Assim, este estudo teve como objetivo avaliar diferentes dosagens de eCG e determinar a mais eficiente para o protocolo de IATF em ovelhas Santa Inês. O experimento foi realizado na Fazenda Experimental de São Gonçalo dos Campos -BA(23'57.51" na latitude sul e 38°52' 44.66' na longitude oeste), pertencente a Universidade Federal da Bahia, no período de junho a julho de 2016. Utilizou-se 48 animais, selecionados em fases distintas do ciclo estral, avaliação ginecológica e de escore corporal variando em 2,5-3. Foram distribuídos uniformemente em três grupos e submetidos ao mesmo sistema de manejo de criação semi-intensivo, sob pastejo de B. Decumbens, sal mineral e água ad libitum. Os animais foram submetidos ao protocolo de sincronização para IATF com administração de eCG (Novormon® MSD Saúde Animal, São Paulo, Brasil) sete dias após a inserção do implante de progesterona (CIDR®, zoetis indústria de produtos veterinários LTDA) Formaram-se então três grupos experimentais: O grupo 1 (G1, n=21), composto por fêmeas que receberam 100 UI de eCG i.m, grupo 2 (G2, n=22) com 200 UI i.m. e o grupo 3 (G3, n=21300 UI i.m. A retirada do implante ocorreu um dia após a administração do eCG, quando nesse momento ocorreu também a aplicação de 0,5ml de PGF2α(ciosin® MSD saúde animal) e o hCG (200UI, Vetecor®, hertape calier) foi administrado 20h antes da inseminação, realizada por laparoscopia, 52h após a retirada do implante de progesterona. O diagnóstico de gestação foi realizado 45 dias após a IATF por ultrassonografia transretal. Para análise estatística foi utilizado o programa SAS, versão 9.0 (2002) com as taxas de concepção comparadas pelo teste qui-quadrado. Foi empregado nível de significância de 5%. As taxas de concepção obtidas foram as seguintes: G1= 38,46%; G2= 43,75%; G3= 47,37%. Os resultados verificados demonstraram não haver diferença (P>0,05) entre os grupos experimentais, para a taxa de concepção. Dessa forma, por questões econômicas, sugere-se utilizar a menor dose de eCG testada, barateando o custo do protocolo de sincronização para IATF em ovinos, sem comprometer a eficiência do programa.

Palavras chaves: eCG, sincronização de estro, ovinos, IATF. *Keywords*: eCG, estrus synchronization, sheep, insemination.



Utilização de implantes alternativos para induzir estro sincronizado em ovelhas Santa Inês

Use of the alternatives implants to induce synchronous estrus in Santa Inês ewes

<u>Jader Forquim Prates</u>^{1,*}, Viviane Lopes Brair², Maíra de Oliveira Veiga³, Carla Knopp Barreto⁴, Ana Lucia Rosa e Silva Maia⁵, Felipe Zandonadi Brandão⁵, Joanna Maria Gonçalves Souza-Fabjan^{2,5}, Maria Izabel Carneiro Ferreira⁶, Jeferson Ferreira da Fonseca⁶

¹Graduando Bacharelado em Zootecnia IFSUDESTEMG, Campus Rio Pomba, MG, Brasil; ²Unigranrio, RJ, Brasil; ³Universidade Federal de Lavras, lavras, MG, Brasil; ⁴Unipac-JF; ⁵Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ, Brasil; ⁶Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral, CE, Brasil. *E-mail: jader.forquimprates@yahoo.com.br

A indução de estro sincronizado por meio de protocolos hormonais é uma prática muito utilizada no manejo reprodutivo de ovinos para produção intensiva. Comumente, é necessário o uso de dispositivos contendo progesterona ou progestágenos aplicados por via intravaginal ou subcutâneo. As opções disponíveis no mercado para pequenos ruminantes são relativamente reduzidas. Para tanto este estudo testou a eficiência de um implante e fonte de progesterona (P4) alternativos para a indução do estro em ovelhas Santa Inês. O estudo foi conduzido de fevereiro a marco de 2015 em Coronel Pacheco - MG (21°35' S e 43°15' W) em 24 ovelhas que foram equitativamente divididas de acordo com peso (kg) e escore da condição corporal (ECC; variação 1 a 5), respectivamente em três grupos experimentais que receberam dispositivos vaginais por seis dias além de 37,5µg d-cloprostenol (Prolise[®]; ARSA S.R.L., Buenos Aires, Argentina) latero-vulvar e 300 UI eCG (Novormon 5000[®]: Zoetis Indústria de Produtos Veterinários Ltda, SP, Brasil) i.m. 24 h antes da retirada do dispositivo: G1 (n=8; 57,3± 4,5 kg; $3,2\pm0,3$), G2 (n=7; $62,0\pm3,3$ kg; $3,5\pm0,1$) e G3 (n=7; $59,3\pm4,6$; $3,3\pm0,2$). Os implantes utilizados foram CIDR (G1; CIDR[®]; 330mg, Pfizer Saúde Animal, SP, Brasil), absorvente íntimo humano (G2 e G3; O.B[®]; Johnson & Johnson, SP, Brasil) embebido com 200 mg (G2) ou 400mg (G3) progesterona (Evocanil[®]; Zodiac Produtos Farmacêuticos, SP, Brasil). Para dosagem de progesterona plasmática (P4; ng/mL; RIA fase sólida) foi coletado sangue por punção jugular nos tempos D0, D0+ 6 horas, D1, D2, D3, D4, D5, D6 e D7 (da inserção dos implantes até 24 h após a remoção). Após a retirada dos implantes, o estro foi monitorado duas vezes ao dia (manhã e tarde) e as ovelhas acasaladas no momento da aceitação do macho e 24/48 h após se ainda em estro, não excedendo quatro cópulas por dia por macho e oito fêmeas por macho para o período. Os dados estatísticos expressos em percentagens (%), média e erro padrão foram analisados pelo programa computacional (SAEG® 9.0, UFV, MG, Brasil). A P4 foi semelhante (P>0,05) nos grupos estudados em todos os períodos exceto no dia da retirada do dispositivo para os grupos G1 (2,5±0,3ª ng/mL), G2 (0,6±0,1^b ng/mL) e G3 (1,2±0,3^b ng/mL) (P<0,05). O percentual de animais em estro foi semelhante (P>0,05) para G1 (100,0%), G2 (62,5%) e G3 (100,0%). Houve diferenças (P<0,05) no intervalo para o estro dos animais de G1 (43,5±3,9^a h) G2 (26,4±4,5^b h) e G3 (29,1±5,8^{a,b} h) para G2. A taxa de gestação das ovelhas foi similar (P<0,05) para G1 (50,0% ou 4/8), G2 (50,0% ou 4/8) e G3 (50,0% ou 4/8). Os resultados deste estudo sugerem que o uso de dispositivo e de fonte de progesterona alternativos podem ser considerados para a indução de estro sincronizado em ovelhas Santa Inês. A dose de 200 mg associada ao dispositivo OB[®] humano não proveu P4 superior a 1 ng/mL no dia da retirada, o que pode explicar, em parte, a diferença no intervalo para estro entre G1 e G2.

Palavras-chave: indução estro, ovinos, progesterona, Santa Inês. *Keywords*: estrus induction, sheep, progesterone, Santa Inês.

Suporte Financeiro: EMBRAPA (Projeto 02.08.02.005.00.04) e CNPq (Projeto 310166/2012-8).