



Uso da progesterona injetável na indução da ciclicidade em novilhas pré-púberes: Maior escore de trato reprodutivo antecipa a prenhez durante a estação reprodutiva em novilhas de corte submetidas à IATF

Injectable progesterone induces cyclicity in pre-pubertal beef heifers: Major reproductive tract scoring accelerated early pregnancy at breeding season using TAI

**Marcelo Salbego Fernandes^{1,*}, Camille Lenz Bertão¹, Fernando Pozzobon Bortoluzzi¹,
Carla Zilio Herculani¹, Jéssica Schopf¹, Getúlio José Milhoreto da Silveira¹,
Bruna Martins Guerreiro², Bruno Gonzalez de Freitas², Vanessa Buss³, Fabio Gallas Leivas³,
Ana Paula Martini⁴, Gilson Antônio Pessoa⁴**

¹Graduando de Medicina Veterinária, Laboratório de Embriologia Animal (Embryolab), Universidade Federal de Santa Maria (UFSM); ²Ouro Fino Saúde Animal, Cravinhos, SP, Brasil; ³Biotech, Universidade Federal do Pampa, Uruguaiana, RS, Brasil; ⁴Professor do Departamento de Clínica de Grandes Animais, Embryolab, UFSM, Santa Maria, RS, Brasil.

*E-mail: marceloosf_@hotmail.com

O uso de protocolos de indução à ciclicidade e a avaliação do escore de trato reprodutivo (ETR) de nulíparas prévias à estação reprodutiva (ER) proporciona maior taxa de reposição e melhor eficiência reprodutiva do rebanho. O objetivo deste estudo foi avaliar o tempo para concepção de acordo com o ETR de novilhas pré-púberes taurinas submetidas à indução da ciclicidade na ER. O estudo foi realizado no ano de 2018 com 492 novilhas taurinas, com idade de 17,1±3,2 meses e ECC de 2,95±0,45 (D-50) e 3,46±0,28 (D-10) (1=magra e 5=obesa), nas quais se realizou a primeira avaliação de ETR 50 dias antes (D-50) e no dia de início do protocolo de IATF (D-10) através de ultrassonografia transretal [ETR 1=diâmetro de corno uterino ≤15mm e ausência de folículos; 2=diâmetro de corno uterino de 15 a 20 mm e folículos de 8mm; 3=diâmetro de corno uterino de 20 a 25 mm e folículos de 8 a 10 mm; 4=corno uterino ≥ 25mm e folículos ≥ 10mm; 5=corno uterino ≥ 25 mm e presença de corpo lúteo (CL)]. No D-50 os animais foram alocados em grupos: G1 com ETR de 3,47±0,45 (n=168) foram induzidas com 150mg de progesterona injetável (P4Inj.; Sincrogest®, Ouro Fino Saúde Animal); o G2 com ETR de 3,48±0,55 (n=173) foram induzidas com P4inj. no D-50 e posterior aplicação de 1mg de cipionato de estradiol (CE; SincroCP®) no D-38 e um grupo controle que não recebeu tratamento (n=151) com ETR de 4,69±0,51, entre as quais já havia 61,6% (93/151) das novilhas cíclicas. No protocolo de IATF receberam 2mg de benzoato de estradiol im (Sincrodiol®), 12,5mg im de Cloprostenol (Sincrocio®) e dispositivo intravaginal de progesterona (DIP; Sincrogest® 1g) no D-10. No D-2 foi aplicado 1mg de CE, 300UI de gonadotrofina coriônica equina im (Sincro eCG®), 25mg de Cloprostenol e remoção do DIP. A IA ocorreu 48h após a remoção do DIP (D0). O diagnóstico de gestação foi realizado 30 dias após IATF por ultrassonografia transretal, as novilhas não gestantes foram resincronizadas. Os dados foram analisados usando o procedimento Glimmix do SAS. No D-10, o G1 apresentou ETR de 4,58±0,57, o G2 4,62±0,55 e o grupo controle 4,64±0,61, mostrando que no G1 e G2 houve evolução do ETR (P=0.001). No D-10, no G1 36,9% (61/165), no G2 33,5% (58/173) e no grupo controle 33,7% (51/151) não apresentaram CL e foi observado 27,2±3,9; 26,6±4,1 e 38,8±1,7 dias para concepção, respectivamente (P=0,22). Já as com CL (D-10) no G1 foi 63,1% (104/165), no G2 66,5% (115/173) e no controle 66,5% (100/151); e o tempo para concepção foi 10,3±1,9; 11,4±1,9 e 8,9±4,8 dias, respectivamente (P=0,9). O tempo para concepção na ER de acordo com o ETR no D-10 foi de 57±21 (ETR3), 28±25,7 (ETR4) e 10±17,8 (ETR5) dias (P=0.001). Portanto, de acordo com os resultados as novilhas pré-púberes submetidas aos tratamentos de indução da ciclicidade apresentaram evolução do ETR e desta forma a concepção ocorreu no início da ER quando iniciaram o protocolo da primeira IATF já cíclicas.

Palavras-chaves: IATF, novilhas, indução da ciclicidade, ETR.

Keywords: TAI, heifers, induce cyclicity, RTS.



Características reprodutivas de machos da raça Angus como preditoras de precocidade produtiva em sistema intensivo de criação

Reproductive characteristics of Angus males as predictors of productive precocity in the intensive system of breeding

Mônica Degraf Cavallin^{1,*}, Renata Marino Romano², Isabela Medeiros de Oliveira², Marco Aurelio Romano², João Diego de Agostini Losano¹, Robson Kyoshi Ueno³, Marcilio Nichi¹

¹Departamento de Reprodução Animal, FMVZ/USP, São Paulo, SP, Brasil; ²Departamento de Farmácia, UNICENTRO, Guarapuava, PR, Brasil; ³Faculdade Guarapuava, Guarapuava, PR, Brasil.

*E-mail: monicadcavallin@usp.com

A pecuária de corte brasileira vem investindo na segmentação do mercado, buscando atender nichos seletivos de consumo de carne que efetuem uma remuneração maior por um produto diferenciado. Nesse contexto, a raça Aberdeen Angus tem se destacado. Em comparação às outras raças, bovinos Angus têm demonstrado que nas mesmas condições alimentares atingem mais cedo a puberdade e o estado de abate. Porém, existe uma discrepância em relação ao momento em que são terminados, sendo que, animais de mesma composição racial e manejo nutricional chegam ao abate com intervalo de 11 meses de diferença. Desta forma, objetivou-se comparar animais precoces (abatidos acima de 17 meses) e hiperprecoces (abatidos de 11 a 14 meses), bem como correlacionar os parâmetros reprodutivos e produtivos, verificando se as características utilizadas para a seleção genética, são capazes de prever a capacidade do animal para atingir os parâmetros produtivos necessários para o abate. Para tanto, 41 touros da raça Aberdeen Angus foram divididos em grupos de indivíduos hiperprecoces e precoces, os quais foram avaliados no momento do abate quanto às características reprodutivas e produtivas. Sendo assim, amostras coletadas da cauda do epidídimo foram avaliadas quanto a motilidade e vigor, morfologia (câmara úmida), concentração (câmara de Neubauer) e funcionalidade espermática: integridade de membranas plasmática e acrossomal (eosina/nigrosina e *fast green*/rosa bengala, respectivamente) e atividade mitocondrial (diaminobenzidina). Além disso, foram registrados dados de peso e volume testicular, bem como de características produtivas: peso vivo, peso e rendimento de carcaça e cobertura de gordura. A análise estatística foi realizada por meio do software SAS System for Windows 9.3. A comparação entre os grupos demonstrou que animais precoces apresentaram maior peso vivo e peso de carcaça ao abate, não diferindo dos hiperprecoces em relação a rendimento de carcaça e cobertura de gordura. Da mesma forma, foram observados maior peso e volume testicular, motilidade e concentração espermática no grupo precoce. Por outro lado, não foram observadas diferenças significativas nas variáveis de funcionalidade espermática entre os grupos. Nas análises de morfologia espermática, animais precoces apresentaram maior porcentagem de defeitos menores, em oposição a maior proporção de defeitos maiores nos hiperprecoces. Verificamos também correlações entre o volume testicular e a idade e o peso vivo nos animais precoces. Neste grupo, a concentração de células móveis correlacionou positivamente com a cobertura de gordura. Da mesma forma, a porcentagem de espermatozoides com baixa atividade mitocondrial correlacionou-se positivamente com peso vivo, peso de carcaça e cobertura de gordura. Ainda nos animais precoces, defeitos espermáticos maiores correlacionaram-se negativamente com idade e peso vivo. Diferentemente, nos hiperprecoces não foram observadas correlações entre os parâmetros estudados. Os resultados obtidos nas comparações e a inexistência de correlação entre parâmetros reprodutivos e produtivos no grupo hiperprecoce, demonstra uma interdependência entre estas características, o que permite inferir que em bovinos da raça Angus, provenientes de intensa seleção genética, submetidos a condições ideais de manejo nutricional e abatidos até os 14 meses, o desenvolvimento reprodutivo não acompanhou o desenvolvimento produtivo. Em suma, as características reprodutivas nesses animais não foram capazes de prever a sua capacidade ou precocidade produtiva.

Palavras-chave: bovino de corte, precocidade, reprodução, idade de abate.

Keywords: *beef cattle, precocity, reproduction, slaughter age.*

Avaliação de protocolos de IATF em relação ao número de manejos e a permanência do dispositivo de progesterona sobre a taxa de prenhez de vacas de corte lactantes

Evaluation of TAI protocols in relation to the management number and the permanence of the progesterone device on the pregnancy rate of lactating cows

Emídio Ferreira Machado Filho^{1,*}, Aline Policarpo Baioco¹¹, Juliana Bastos Giudice¹, João Furtado Colombo¹, Laura Rohde Brondani¹, Camille Lenz Bertão¹, Henrique Ravalha e Siqueira Nathalia dos Reis Vallejev, Trajano Gomes Jacques¹, Carla Zilio Herculani¹, Ana Paula Martini², Gilson Antonio Pessoa²

¹Graduando de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil; ²Professores do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

*E-mail: emidiofmachadofilho@gmail.com

A estação reprodutiva no sul do Brasil ocorre em meses chuvosos do ano. Sendo assim o estudo de modificações nos protocolos tradicionais é essencial tendo em vista que por muitas vezes é necessária a alteração dos dias dos manejos dos protocolos de IATF visando principalmente situações de intempéries climáticas. O objetivo deste estudo foi avaliar a influência do número de manejos (3 ou 4) relacionado ao momento da aplicação da prostaglandina (PGF) e o tempo de permanência do dispositivo intravaginal de progesterona (P4; 9 ou 10 dias) sobre a taxa de prenhez em protocolos de IATF. O experimento foi desenvolvido durante a temporada reprodutiva 2017-2018 em fazendas comerciais localizadas na região central do Rio Grande do Sul. Um total de 477 vacas taurinas e sintéticas de corte lactantes apresentando escore de condição corporal de $2,59 \pm 0,02$ (1 = magro, 5 = obeso) foram utilizadas neste estudo. As vacas foram avaliadas por ultrassonografia transretal quanto à ciclicidade, isto é, presença ou ausência de corpo lúteo e divididas em três grupos: G1 (n=190), G2 (n=157) e G3 (n=130) onde no G1 27,37% (52/190) das vacas encontravam-se cíclicas, G2: 26,11% (41/157) e G3: 13,07% (14/130). Após avaliação, os grupos receberam os seguintes protocolos: G1 (controle): recebeu no dia 0 (D0) benzoato de estradiol (2 mg, i.m., Gonadiol®, Zoetis) e P4 (DIB®, Zoetis, Brasil). No dia 7 (D7), administrou-se 12,5 mg de PGF (Dinoprost trometamina, i.m., Lutalyse®, Zoetis), no dia 9 (D9) 1mg de CE (Cipionato de estradiol, i.m., ECP®, Zoetis) e 300 UI de eCG (gonadotrofina coriônica equina, i.m., eCG, Novormon®, Zoetis) além da remoção da P4. A Inseminação Artificial (IA) foi realizada no dia 11 (D11). No G2 o protocolo de sincronização foi similar, entretanto, a aplicação de PGF foi realizada no D8 e a remoção da P4 foi realizada no D10 juntamente com a aplicação de CE e eCG, sendo a IA realizada no D12. No G3 a aplicação de PGF e a retirada da P4 foram realizadas no D10 juntamente com a aplicação de CE e a IA foi realizada no D12. Os dados foram analisados usando o procedimento Glimmix e o procedimento de frequência do SAS. As taxas de prenhez média obtidas foram semelhantes entre os grupos, sendo 54,7% (104/190) no G1, 60,5% (95/157) no G2 e 57,7% (78/130) no G3 (P= 0,06). Em relação à ciclicidade, vacas cíclicas obtiveram taxa de prenhez superior [G1: 61,5% (32/52); G2: 68,3% (28/41) e G3: 82,4% (14/17)] às em anestro [G1: (52,2%; n=72/138); G2: 57,8% (67/116) e G3: 54% (61/113)] independente do grupo (P<0.001). Os resultados obtidos demonstram que vacas cíclicas apresentam taxa de prenhez superior às vacas em anestro. Adicionalmente, as taxas médias de prenhez entre os grupos foram similares, demonstrando que o momento da aplicação da prostaglandina e a remoção da P4 indiferem sobre a taxa de prenhez. Portanto, os resultados deste estudo demonstram que é possível a remoção da P4 no D10 do protocolo sem que haja prejuízo na taxa de prenhez, tornando-se uma alternativa em casos de eventos climáticos adversos que impeçam a realização do manejo dos animais em protocolos tradicionais de 8 ou 9 dias.

Palavras-chave: *Bos taurus*, ciclicidade, concepção.

Keywords: *Bos taurus*, cyclicity, conception.



Desenvolvimento de simuladores anatômicos do trato reprodutivo de fêmeas bovinas para treinamento de biotécnicas reprodutivas

Development of anatomical simulators of the reproductive tract of bovine females for training in reproductive biotechnology

**Júlia Helena Paz Prestes dos Santos^{1,*}, Daniela dos Santos Brum², Vanessa Buss³,
Lucas DalleLaste Dacampo³, Natan da Cruz Carvalho³, Fabio Gallas Leivas²**

¹Graduando de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA), Uruguaiana, RS, Brasil;

²Professor do Curso de Medicina Veterinária, UNIPAMPA, Uruguaiana, RS, Brasil; ³Mestrando em Ciência Animal, UNIPAMPA, Uruguaiana, RS, Brasil.

*E-mail: fabioleivas@unipampa.edu.br

A busca pela melhoria da eficiência reprodutiva e produtiva dos rebanhos bovinos tem feito com que, cada vez mais, biotécnicas reprodutivas como a inseminação artificial, a produção *in vitro* e outras sejam utilizadas. Para que estas técnicas obtenham sucesso, é necessário que sejam realizadas de maneira adequada, respeitando os procedimentos e priorizando o bem-estar animal. Ainda, sabe-se que os procedimentos de palpação retal, bem como de inseminação artificial são considerados de difícil aprendizado, sendo necessário muito exercício para o discernimento das estruturas anatômicas. Desse modo, o treinamento e capacitação dos profissionais é de suma importância, tendo em vista a necessidade do conhecimento detalhado das estruturas e suas variações durante o ciclo estral para que os resultados sejam satisfatórios. Neste sentido, o Laboratório de Biotecnologia da Reprodução (BIOTECH), da Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA) - Campus Uruguaiana desenvolveu um simulador anatômico do trato reprodutivo de fêmeas bovinas para serem utilizados em aulas práticas de reprodução animal. O objetivo do desenvolvimento deste material foi mimetizar a anatomia da fêmea bovina *in vivo*, para que os manipuladores possam obter conhecimento prévio das estruturas do trato reprodutivo, antecedendo à prática em animais. Os simuladores foram confeccionados com galões plásticos de 50 litros, nos quais foram feitos dois cortes circulares verticais em uma das extremidades, um para simular o ânus e o outro a vulva, semelhante ao posterior da fêmea bovina. Na extremidade oposta, fez-se uma abertura para possibilitar a montagem do simulador e a visualização das estruturas internas. A ampola retal foi confeccionada com tecido elástico (calça térmica de poliéster e elastano), de modo a permitir a manipulação, e ao mesmo tempo impor alguma resistência à mesma. Este tecido se estendeu de uma extremidade a outra no interior do galão, sendo fixado externamente no corte circular superior. Foram coletados em abatedouros tratos reprodutivos de fêmeas bovinas com vulva, vagina, cérvix, útero e ovários preservados e estes foram fixados no corte circular inferior, mantendo-se exteriorizada a vulva e permanecendo o restante das estruturas no interior do galão envoltas em um saco plástico. O material desenvolvido foi utilizado nas aulas práticas do I curso de Inseminação Artificial em Bovinos, ocorrido na UNIPAMPA - Campus Uruguaiana. Os manequins foram utilizados previamente às aulas com animais, com o intuito de familiarizar os alunos com a consistência e formato da cérvix, de forma a facilitar a identificação desta estrutura que impõe dificuldade ao aprendizado da técnica. O método demonstrou ser satisfatório, tendo 100% de aprovação pelos participantes, que relataram maior facilidade em identificar as estruturas anatômicas nos animais *in vivo* após o treinamento nos simuladores. Devido ao retorno positivo, concluiu-se que o material é eficaz, e, portanto, continuará sendo utilizado em aulas práticas de Ginecologia Veterinária e Biotécnicas da Reprodução, pois apresenta a vantagem de facilitar o aprendizado com peças anatômicas de diferentes *status* reprodutivos, além de reduzir a quantidade e a manipulação de animais nas primeiras aulas de ensino. Portanto, o simulador é uma alternativa eficiente, melhorando o aprendizado e promovendo o bem estar animal.

Palavras-chave: simulador anatômico, biotécnicas reprodutivas, bovinos.

Keywords: *anatomical simulator, reproductive biotechnology, bovine.*

A taxa de prenhez é influenciada pela fertilidade do touro, estro e escore de condição corporal de vacas taurinas submetidas à IATF

Pregnancy rate of TAI in beef cows is influenced by the bull fertility, estrus and body condition score

**Laura Rohde Brondani^{1,*}, Aline Policarpo Baioco¹, Emídio Ferreira Machado Filho¹,
Fernando Pozzobon Bortoluzzi¹, Camille Lenz Bertão¹, Henrique Ravalha Siqueira¹,
Juliana Bastos Giudice¹, Nathalia dos Reis Valejjo¹, Trajano Gomes Jacques¹,
Caio Henrique Schmidt¹, Ana Paula Martini², Gilson Antonio Pessoa²**

¹Graduandos do curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil;

²Professores do Departamento de Clínica de Grandes Animais, Embryolab, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

*E-mail: laura_brondani@hotmail.com

O objetivo deste estudo foi avaliar a taxa de concepção de fêmeas múltiparas de corte *Bos taurus* lactantes submetidas à inseminação artificial em tempo fixo (IATF) com diferentes partidas de sêmen bovino. Além disso, demonstrar a associação da taxa de concepção com dados referentes à demonstração de estro e escore de condição corporal (ECC) das fêmeas. Dados de 10.602 IATF foram obtidos no período de 2015 a 2017 em cinco fazendas de corte do Rio Grande do Sul, Brasil. No primeiro dia (D0) realizou-se a mensuração do ECC (média de 2,82±0,02, sendo 1=muito magra e 5=obesa) e o início do protocolo reprodutivo que consistiu na aplicação de 2 mg de benzoato de estradiol (Gonadiol, Zoetis) IM juntamente com um dispositivo intravaginal de progesterona (P4; CIDR, Zoetis). Após 8 dias (D8), a P4 foi removida, aplicando-se 12,5 mg de dinoprost trometamina (Lutalyse, Zoetis), 1 mg de cipionato de estradiol (ECP, Zoetis) e 300 UI de gonadotrofina coriônica equina (Novormon, Zoetis) via IM além da marcação com bastão de cera na base da cauda para visualização do estro. A IA foi realizada 48 h após remoção da P4. As doses de sêmen de 36 reprodutores (153 partidas) foram obtidas de uma única central e distribuídas conforme planejamento genético nos lotes das fazendas. Na análise dos resultados comparando touros e partidas foram incluídos somente os touros que possuíam dados de no mínimo 2 partidas diferentes e no mínimo 50 inseminações de cada partida em 2 lotes diferentes, totalizando 7.737 IA (71 partidas procedentes de 13 touros identificados de A à M). Todas as partidas de cada touro foram analisadas previamente e utilizadas somente as que atendiam os requisitos mínimos exigidos pelo CBRA. O diagnóstico de gestação foi realizado por ultrassonografia transretal 30 dias após a IA. Os dados foram analisados pelo procedimento Glimmix do SAS. Dentre o total de 10.602 IA a partir de 36 touros, a taxa de concepção média por partida entre todas as IA foi 52,24% variando de 15,4% a 92,4% (P<0.001). E a taxa de concepção média por touro foi de 52,1% e variou entre 33,3% a 85,1% (P<0,0001). Dentre as 7.737 IA avaliadas a partir de 13 touros, houve diferença também entre a taxa de concepção entre as vacas que demonstraram estro (63,04%; 3196/5069) e as que não demonstraram estro (42,1%; 1123/2668; P<0,0004). Já a taxa de concepção por touro variou de 42,6% (83/195; Touro L) a 74,3% (249/335; Touro K; P<0,001). A análise da taxa de concepção em vacas com ECC≥3 (70,56%; 1455/2062) revelou variação entre os touros no percentual de prenhez [47,42% (46/97; Touro L) a 86,11% (93/108; Touro A)] (P=0,001). A taxa de concepção em vacas com ECC<3 de um mesmo lote também diferiu entre as partidas de sêmen de um touro (B1=58,54%; B2=62,5% e B3=83,24%; P<0,0001). Conclui-se que em programas de IATF pode ocorrer variação individual da fertilidade de touros e que há diferença na taxa de concepção entre partidas de sêmen de um mesmo reprodutor. Além disso, confirmou-se que fêmeas em estro e ECC≥3 apresentam maiores taxas de concepção.

Palavras-chave: prenhez, vacas de corte, IATF.

Keywords: pregnancy, beef cows, TAI.



Efeito da superóxido dismutase e do ácido ascórbico como antioxidantes no sêmen congelado bovino

Effect of superoxide dismutase and ascorbic acid as antioxidants in frozen bovine semen

**Caroline Tomasi Bortoleto^{1,*}, Jorge Edgardo Iscoa Sandres¹, Luciana Doria Ribeiro Cabral¹,
Natália Santana Siqueira de Lara¹, Tácia Gomes Bergstein Galan²,
Ana Claudia Machinski Rangel de Abreu³, Romildo Romualdo Weiss⁴**

¹Mestrandos no Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias (UFPR); ²Universidade Positivo, Curitiba, PR, Brasil; ³Mestranda no Programa de Pós-graduação em Eng. De Bioprocessos e Biotecnologia (UFPR);

⁴Professor do curso de Medicina Veterinária (UFPR), Curitiba, PR, Brasil.

*E-mail: caroline.t.bortoleto@gmail.com

O processo de criopreservação do sêmen submete os espermatozoides a um grande estresse celular, expondo-os a condições desfavoráveis que dificultam a manutenção da sua viabilidade. Ainda, essas células também sofrem estresse oxidativo, caracterizado pela geração de espécies reativas de oxigênio (ROS), que ocasiona a peroxidação lipídica, reduzindo a viabilidade espermática. Desse modo, o presente trabalho teve como objetivo testar dois antioxidantes importantes para o controle da geração de ROS, a superóxido dismutase e o ácido ascórbico. Foram coletados dois reprodutores bovinos, previamente condicionados, utilizando vagina artificial. Após a coleta, o sêmen de cada touro foi dividido em 5 grupos, sendo eles: grupo controle (GC), grupo ácido ascórbico I (GACI), grupo ácido ascórbico II (GACII), grupo superóxido dismutase I (GSODI) e grupo superóxido dismutase II (GSODII). No GC, o sêmen era diluído em meio extensor tris gema, sem adição de antioxidantes. Para os grupos testes, acrescentou-se no meio extensor doses diferentes dos dois antioxidantes: GACI apresentava a dose de 0,5 mg/L e o GACII a dose de 2,5 mg/L, o GSODI apresentava a dose de 250 U/mL e o GSODII a dose de 500 U/mL. Após a diluição, as amostras foram refrigeradas a 5°C, em Botutainer®, por 4 horas, para posterior congelamento em vapor de nitrogênio líquido a 20 cm, por 20 minutos, e envasamento em palhetas de 0,25 mL (dose inseminante de 30×10^6), que foram armazenadas em botijão de nitrogênio líquido a -196°C. Após isso, duas palhetas de cada grupo por animal foram colocadas em banho maria a 37°C por 30 segundos, para posterior avaliação quanto à motilidade e vigor (avaliação visual subjetiva em microscópio) e integridade de membrana (método do meio hiposmótico). Ainda, foi avaliada a morfologia espermática de cada amostra, pela solução formol-salina. Para a avaliação dos resultados, realizou-se a média e desvio padrão das duas palhetas avaliadas para cada grupo e para cada ejaculação. O GC apresentou os seguintes resultados: 57%±0,09 MT, 52%±0,09 MP, vigor 2,4±0,09, 61%±0,01 de espermatozoides com membrana íntegra e 26%±0,04 de alterações morfológicas. O GACI apresentou 41%±0,17 MT, 36%±0,18 MP, vigor 1,6±0,62, 50%±0,05 de espermatozoides com membrana íntegra e 27%±0,02 de alterações morfológicas. O GSODI apresentou 50%±0,13 MT, 44%±0,14 MP, vigor 2,2±0,44, 61%±0,05 de espermatozoides com membrana íntegra e 32%±0,05 de alterações morfológicas. O GSODII apresentou 74%±0,08 de MT, 69%±0,08 MP, vigor 3,0±0,0, 71%±0,06 de espermatozoides com membrana íntegra e 24%±0,09 de alterações morfológicas. No GACII todos os espermatozoides encontravam-se imóveis, apresentando 16%±0,04 de alterações morfológicas. Apesar de existir o fator individualidade de cada touro, estes achados podem indicar que a superóxido dismutase na dose de 500 U/mL quando adicionada ao meio diluidor tris-gema acarreta em melhora dos parâmetros espermáticos após a criopreservação. Já a adição de ácido ascórbico na dose de 2,5 mg/l ocasionou a morte dos espermatozoides após a criopreservação, não sendo recomendável seu uso.

Palavras-chave: touro, criopreservação, sêmen, antioxidantes, peroxidação lipídica.

Keywords: bull, cryopreservation, semen, antioxidants, lipid peroxidation.

Comparação do sêmen refrigerado e congelado na taxa de prenhez de vacas taurinas submetidas à protocolo de IATF

Comparison of the refrigerated and frozen semen on pregnancy rate of Bos taurus heifers submitted to TAI

Fernando Pozzobon Bortoluzzi^{1,*}, Laura Rohde Brondani¹, Getúlio José Milhoreto da Silveira¹, Jessica Schopf¹, Nathalia dos Reis Vallejo¹, Juliana Bastos Giudice¹, Caio Henrique Schmidt¹, Henrique Ravalha e Siqueira¹, Marcelo Salbego Fernandes¹, Dimas Corrêa Rocha², Ana Paula Martini³, Gilson Antônio Pessoa³

¹Graduandos do curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil; ²DSc, CRIO – Central Genética Bovina; ³Professores do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.
*E-mail: fp.pozzobon@hotmail.com

O objetivo do presente estudo foi comparar a taxa de prenhez vacas taurinas de corte utilizando sêmen refrigerado ou congelado de uma mesma partida de um touro em protocolo de inseminação artificial em tempo fixo (IATF). Para este estudo foram utilizadas 131 vacas primíparas taurinas de corte lactantes, escore de condição corporal médio de $2,75 \pm 0,36$ com 38,9% de ciclicidade. As vacas foram submetidas à protocolo reprodutivo que consistiu na aplicação de 2 mg de benzoato de estradiol (Gonadiol®, Zoetis) IM juntamente com um dispositivo intravaginal de progesterona (P4; CIDR®, Zoetis). Após 7 dias (D7), aplicou-se via IM 12,5 mg de dinoprost trometamina (Lutalyse®, Zoetis). No D9, a P4 foi removida e administrou-se 1 mg de cipionato de estradiol (E.C.P.®, Zoetis) e 300 UI de gonadotrofina coriônica equina (Novormon®, Zoetis) além da marcação com bastão de cera na base da cauda para visualização do estro. A IA foi realizada 48 h após remoção da P4 (D11) de forma aleatória entre as vacas conforme ocorrência de cio (com=86 e sem=45) e utilizando sêmen refrigerado (n=64) ou congelado (n=67) de uma mesma partida de um touro jovem da raça Braford doados por uma central de processamento de sêmen bovino. O diagnóstico de gestação foi realizado por ultrassonografia transretal 30 dias após a IA. O sêmen foi analisado em laboratório na forma congelada e refrigerada com avaliações de motilidade progressiva (MP, %) e funcionalidade da membrana espermática (teste hiposmótico; HOST; %) às 24, 48, 72 e 96 horas após o processo de resfriamento na fração refrigerada e às 24h na fração congelada com 2 avaliações diárias: 0h e após teste de termorresistência (37°C/3h). Os dados foram analisados pelo procedimento Glimmix do SAS. Na avaliação da MP a amostra congelada apresentou 40% e 20% na 0h e 3h, respectivamente. Já a refrigerada apresentou variação de 70% a 30% (24h=70 e 70%; 48h = 70 e 50%; 72h = 60 e 40%; 96h = 50 e 30%, às 0h e 3h respectivamente). Na avaliação do HOST a amostra congelada apresentou 35% e 21% na 0h e 3h, respectivamente. Já a refrigerada apresentou variação de 66% a 39% (24h=66 e 49%; 48h = 61 e 45%; 72h = 56 e 42%; 96h = 51 e 39%, às 0h e 3h respectivamente). A taxa de prenhez média foi de 44,3%. A taxa de prenhez com refrigerado (48,43%) foi similar ao congelado (40,29%; P=0,35). Considerando a ocorrência de cio na IA, a taxa de prenhez com o uso de semen refrigerado não diferiu do congelado nas vacas que manifestaram estro (refrigerado = 62,5% e congelado = 56,5%). Já nas vacas que não manifestaram estro o semen refrigerado apresentou taxa de prenhez superior ao congelado (Refrigerado = 25% e congelado = 4,7%) (P<0,001). Os resultados deste estudo demonstram que é possível a utilização de sêmen refrigerado em vacas que não demonstram cio proporcionando índices de prenhez superior ao congelado, sendo uma alternativa quando à fazenda se situa próxima à central de coleta de sêmen.

Palavras-chave: sêmen, congelado, refrigerado, IATF.

Keywords: semen, frozen, cooled, TAI.

Tempo entre indução da ciclicidade e o início do protocolo de IATF influencia a taxa de concepção em novilhas de corte

The time between induction of cyclicity to the beginning *TAI protocol influences the conception rate in beef heifers*

**Camille Lenz Bertão^{1,*}, João Furtado Colombo¹, Emídio Ferreira Machado Filho¹,
Aline Policarpo Baioco¹, Henrique Ravalha Siqueira¹, Laura Rohde Brondani¹,
Juliana Bastos Giudice¹, Nathália dos Reis Vallejo¹, Caio Henrique Schmidt¹,
Fernando Pozzobon Bortoluzzi¹, Ana Paula Martini², Gilson Antonio Pessoa²**

¹Graduandos de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil; ²Professor do Departamento de Clínica de Grandes Animais, Embryolab, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

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

A utilização de biotecnologias da reprodução é uma ferramenta essencial para melhorar a produtividade da bovinocultura de corte. Dessa forma, o uso de protocolos de indução à ciclicidade e a avaliação do escore de trato reprodutivo (ETR) de novilhas taurinas prévia a estação reprodutiva (ER) podem elevar o índice de fêmeas gestantes e, conseqüentemente, proporcionar maior taxa de reposição e melhor eficiência reprodutiva do rebanho. Com isso, o objetivo do trabalho foi avaliar a taxa de prenhez relacionada ao ETR de novilhas submetidas a indução da ciclicidade. O estudo foi realizado de 2015 à 2017 com 577 novilhas (angus e brangus) com escore de condição corporal médio de 3,16 (escala de 1 a 5, sendo 1=magra e 5=gorda), que foram divididas em 2 grupos: início do protocolo de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) em até 30 dias ($G < 30$; $n=257$) após a indução da ciclicidade ou período superior à 30 dias ($G > 30$; $n=320$). No D-24 ($G < 30$) e no D-50 ($G > 30$), realizou-se exame ultrassonográfico para determinação de ETRa (escala de 1 a 5, sendo 1 = diâmetro de corno uterino ≤ 15 mm e ausência de folículos; 2 = diâmetro de corno uterino de 15 a 20 mm e folículos de 8mm; 3 = diâmetro de corno uterino de 20 a 25 mm e folículos de 8 a 10 mm; 4 = corno uterino ≥ 25 mm e folículos ≥ 10 mm; 5 = corno uterino ≥ 25 mm e presença de corpo lúteo) e iniciou-se o protocolo de indução da ciclicidade que consistiu na aplicação de um dispositivo intravaginal de progesterona (P4, CIDR®, Zoetis) de 2º uso por 12 dias e 0,5mg de cipionato de estradiol (CE, E.C.P.®, Zoetis) intramuscular (im) na retirada da P4. Após o protocolo de indução e previamente ao início do protocolo de IATF determinou-se o ETRb nos dois grupos. O protocolo de IATF iniciou 12 dias após o final do protocolo de indução ($G < 30$) ou 30 dias após ($G > 30$) e consistiu na aplicação de 2mg de benzoato de estradiol im (Gonadiol®, Zoetis) e P4 no D0. No D9, administrou-se 12,5mg de PGF (Dinoprost trometamina, im, Lutalyse®, Zoetis), 1mg de CE e 300UI de eCG (Gonadotrofina Coriônica Equina, im, Novormon®, Zoetis) além da remoção da P4. A inseminação artificial (IA) foi realizada 48 horas após a remoção da P4. O diagnóstico de gestação foi realizado por ultrassonografia transretal 30 dias após a IATF. Os dados foram analisados usando o procedimento Glimmix do SAS. O ETRa foi similar entre os grupos $G < 30$ ($3,78 \pm 0,09$) e $G > 30$ ($3,77 \pm 0,13$; $P=0,25$) antes da indução da ciclicidade. As médias do ETR obtidas no $G < 30$ foi de $3,78 \pm 0,09$ para ETRa e $4,65 \pm 0,06$ para ETRb. Já o grupo $G > 30$ alcançou $3,77 \pm 0,13$ no ETRa e $4,91 \pm 0,02$ no ETRb. Obteve-se melhores resultados na média de ETR na avaliação de ETRb comparados com ETRa nos dois grupos ($P < 0,001$). Na avaliação de ETRb, os animais do $G > 30$ apresentaram ETR ($4,94 \pm 0,02$) superior ao $G < 30$ ($4,55 \pm 0,06$) ($P=0,01$). Quanto a taxa de prenhez, o $G > 30$ obteve 58,2% (189/320) sendo superior ao $G < 30$ (49,43%; 127/257; $P=0,04$). De acordo com os resultados, a indução da ciclicidade melhora o ETR de novilhas ao início da ER. Além disso, um intervalo igual ou superior a 30 dias entre o final da indução da ciclicidade e o início da ER proporcionou maior ETR e conseqüentemente melhor taxa de prenhez à IATF.

Palavras-chave: prenhez, *Bos taurus*, escore de trato reprodutivo.

Keywords: pregnancy, *Bos taurus*, reproductive tract score.

Uso da progesterona injetável associada ou não ao cipionato de estradiol na indução da ciclicidade em novilhas taurinas

Use of injectable progesterone associated or not with estradiol cypionate in the induction of cyclicity in taurine heifers

**Vanessa Buss^{3,*}, Carla Zilio Herculani¹, Marcelo Salbego Fernandes¹,
Getúlio José Milhoreto da Silveira¹, Emídio Ferreira Machado¹, João Furtado Colombo¹,
Bruna Martins Guerreiro², Bruno Gonzalez de Freitas², Fabio Gallas Leivas³,
Daniela dos Santos Brum³, Ana Paula Martini¹, Gilson Antônio Pessoa¹**

¹Laboratório de Embriologia Animal (Embryolab) Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil;

²Ouro Fino Saúde Animal, Cravinhos, SP, Brasil; ³Universidade Federal do Pampa, Uruguaina, RS, Brasil.

*E-mail: vanessa.buss03@gmail.com

Os protocolos de indução à ciclicidade e a avaliação do escore de trato reprodutivo (ETR) de novilhas taurinas prévia a estação reprodutiva (ER) podem elevar o índice de fêmeas gestantes e, conseqüentemente, proporcionar maior taxa de reposição e eficiência reprodutiva do rebanho. O objetivo do estudo foi avaliar a taxa de prenhez à IATF e prenhez final em novilhas que não apresentavam corpo lúteo (CL) no dia 0 (D0) da IATF, quando submetidas previamente a indução. O estudo foi realizado em 2018 em ER de 70 dias com 341 novilhas taurinas, com idade de 17,1±3,2 meses e ECC de 2,95±0,45 (D-50) e 3,46±0,28 (D-10) (1=magra e 5=obesa), nas quais se realizou a primeira avaliação de ETR 50 dias antes (D-50) e no dia de início do protocolo de IATF (D-10) através de ultrassonografia transretal (ETR 1=diâmetro de corno uterino ≤15mm e ausência de folículos; 2=diâmetro de corno uterino de 15 a 20 mm e folículos de 8mm; 3=diâmetro de corno uterino de 20 a 25 mm e folículos de 8 a 10 mm; 4=corno uterino ≥ 25mm e folículos ≥ 10mm; 5=corno uterino ≥ 25 mm e presença de CL). No D-50 os animais foram alocados em grupos: G1 com ETR de 3,47±0,45 (n=168) foram induzidas com 150mg de progesterona injetável (P4Inj.; Sincrogest®, Ouro Fino Saúde Animal), o G2 com ETR de 3,48±0,55 (n=173) foram induzidas com P4inj no D-50 e posterior aplicação de 1mg de cipionato de estradiol (CE; SincroCP®) no D-38. O protocolo de IATF as novilhas receberam 2mg de benzoato de estradiol im (Sincrodiol®), 12,5mg de Cloprostenol sódico im (Sincrocio®) e dispositivo intravaginal de progesterona (DIP; Sincrogest® 1g) no D-10. No D-2 foi aplicado 1mg de CE, 300 UI de gonadotrofina coriônica equina im (Sincro eCG®), 25mg de Cloprostenol sódico e remoção do DIP. A IA ocorreu 48h após a remoção do DIP (D0). O diagnóstico de gestação foi realizado 30 dias após a IA por ultrassonografia transretal, as novilhas não gestantes foram ressincronizadas. Os dados foram analisados usando o procedimento Glimmix do SAS. No D-50 as novilhas haviam sido classificadas como ETR2 [G1 (4,2%, 7/168) e G2 (5,8%, 10/173)], ETR3 [G1 (44,6%, 75/168) e G2 (40,5%, 70/173)] e ETR4 [G1 (51,2%, 86/168) e G2 (53,7%, 93/173)]. Já no D-10 não foram encontradas novilhas com ETR2 e a distribuição foi a seguinte: ETR3 [G1 (4,2%, 7/168) e G2 (3,5%, 6/173)], ETR4 [G1 (33,8%, 57/168) e G2 (30,6%, 53/173)] e ETR5 [G1 (62%, 104/168) e G2 (65,9%, 114/173)]. Houve similaridade entre os tratamentos na taxa de P/IA (G1=51,5% e G2=50,3%). No entanto, houve diferença na P/IA nas fêmeas com diferentes classificações de ETR no D-10 [ETR 3 (4,5%; 1/22), ETR 4 (28,5%; 43/151) e ETR 5 (66,4%; 211/319; P<0,0001)]. Os dois tratamentos foram capazes de proporcionar evolução no ETR de novilhas taurinas com taxa de P/IA similar. No entanto, novilhas que não atingiram a ciclicidade antes do início do protocolo de IATF apresentaram baixas taxas de P/IA.

Palavras-chave: novilhas, IATF, puberdade.

Keywords: heifers, TAI, puberty.



Recuperação oocitária em diferentes raças bovinas

Oocyte recovery in different bovine breeds

João Filipi Scheffer Pereira^{1,2,*}, Maria Theresa Scheffer Pereira da Silva¹, Liédge Camila Simioni Felicio^{1,2},
Kamila Carrão², Verena Bárea¹, Maurício Barros Fernandes³, Cristina Santos Sotomaio¹

¹Programa de Pós Graduação em Ciência Animal, Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, Brasil;
²Universidade Tuiuti do Paraná, Curitiba, Brasil; ³Prófiiv Genética Animal, São José do Rio Preto, São Paulo, Brasil.
*E-mail: joao.filipi@gmail.com

A produção *in vitro* de embriões (PIVE) bovinos pode ser influenciada por diversos fatores como a população folicular ovariana, variação individual entre doadoras de mesma raça e as diferenças observadas entre grupos genéticos e subespecies. Considerando que o número de embriões obtidos *in vitro* apresenta alta correlação com o número de oócitos cultivados é importante conhecer a influência do grupo genético na PIVE. O objetivo deste estudo é comparar a média de oócitos viáveis de diferentes raças bovinas recuperados por aspiração folicular. Foram utilizados 6306 dados coletados de aspiração folicular das raças Angus (232), Brahman (463), Gir (1115), Guzerá (191), Holstein (967), Nelore (3123) e Tabapuã (215). A média de oócitos viáveis das raças foi comparada utilizando ANOVA com teste Bonferroni com significância de 5%. A raça Angus apresentou a menor média de oócitos ($8,13 \pm 5,59$) diferindo estatisticamente ($p < 0,05$) das demais raças. As raças Brahman ($24,28 \pm 17,37$) e Nelore ($23,96 \pm 19,06$) não diferem estatisticamente ($p > 0,05$) apresentando as maiores medias de oócitos observado entre as raças. As raças Guzerá ($16,42 \pm 9,67$) e Holstein ($18,04 \pm 14,58$), não diferiram estatisticamente ($p > 0,05$). Não foram observadas diferenças estatísticas ($p > 0,05$) entre as raças Holstein e Tabapuã. A raça Tabapuã ($16,42 \pm 9,67$) e Gir ($15,55 \pm 11,60$) não diferiram estatisticamente ($p > 0,05$). Alta repetibilidade na recuperação de oócitos e número de embriões produzidos foi observada em doadoras Nelore, sugerindo uma produção constante de oócitos nas sessões de OPU por doadora. O número de oócitos foi correlacionado positivamente com o número de embriões produzidos, quanto maior o número de oócitos recuperados, maior é o número de embriões produzidos. Na literatura se observam diferentes medias de oócitos, número de embriões e taxas de embriões produzidos nas diferentes raças. Fatores que afetam o número de oócitos recuperados são relacionados aos grupos *Bos indicus* e *Bos taurus*, devido suas diferenças na população folicular e número de folículos recrutados por onda folicular. Em conclusão, no presente estudo a raça Angus apresentou a menor média de oócitos recuperados entre as raças comparadas. As maiores medias estão relacionadas a raças zebuínas com aptidão para corte.

Palavras-chave: oócitos, raças, bovinos.

Keywords: oocytes, breeds, bovine.



Comparação do percentual de cultivos de produção *in vitro* que não produziram embriões em diferentes raças bovinas

Comparison of the percentage of in vitro production cultures that did not produce embryos in different bovine breeds

João Filipi Scheffer Pereira^{1,2,*}, Maria Theresa Scheffer Pereira da Silva¹, Liédge Camila Simioni Felício^{1,2}, Gabrielle Albuquerque², Maurício Barros Fernandes³, Cristina Santos Sotomaio¹

¹Programa de Pós Graduação em Ciência Animal, Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, Brasil; ²Universidade Tuiuti do Paraná, Curitiba, Brasil; ³Prófav Genética Animal, São José do Rio Preto, São Paulo, Brasil.
*E-mail: joao.filipi@gmail.com

A aspiração folicular (OPU) associada a produção *in vitro* de embriões (PIVE) são biotecnologias aplicadas para multiplicação de material genético de alto potencial. O aumento do número de embriões *in vitro* produzidos no mundo é decorrente dos progressos observados nessas biotecnologias, aproximadamente 40% dos embriões produzidos no mundo são provenientes da OPU/PIVE, o Brasil é o líder mundial na produção de embriões *in vitro* representando aproximadamente 52% do mercado mundial. Diversos fatores podem influenciar na PIVE, como o número de oócitos recuperados por doadora e a qualidade dos oócitos cultivados. Nos métodos de incubação, atmosfera, meios de cultivo e manipulação são observadas poucas diferenças entre os laboratórios comerciais. O objetivo deste estudo é comparar o percentual de cultivos realizados que não apresentaram embriões em estágio de transferência no dia 7 de cultivo *in vitro* em diferentes raças bovinas. Foram utilizados 6306 dados coletados de produção *in vitro* de embriões das raças Angus (232), Brahman (463), Gir (1115), Guzerá (191), Holstein (967), Nelore (3123) e Tabapuã (215). Oócitos de grau 1 e 2 foram maturados *in vitro* por 22h utilizando meio TCM 199, acrescido de piruvato, FSH, LH, estradiol, soro fetal bovino e antibióticos. A fertilização ocorreu utilizando sêmen de reprodutores da mesma raça, selecionados por gradiente de Percoll por 12 minutos a 880 g. O meio Fert-Talp adicionado de BSA, piruvato, PHE, heparina e antibiótico foi utilizado na fertilização por 18 horas. O cultivo *in vitro* ocorreu por 7 dias em meio CR2 adicionado de BSA, soro fetal bovino, glutamina, alanina, glicina e antibiótico. Foram considerados embriões em estágio de transferência os blastocistos ou blastocistos expandidos no dia 7 de cultivo *in vitro*. A comparação foi realizada pelo teste Qui-quadrado com significância de 5%. O maior percentual de rotinas que não produziram embriões transferíveis foi observado na raça Angus (39,33%) sendo diferente estatisticamente ($p < 0,05$) em comparação com as outras raças. Holstein (22,23%) não é estatisticamente ($p > 0,05$) diferente em comparação com a raça Gir (20,18%). A raça Gir não difere estatisticamente ($p > 0,05$) da raça Guzerá (15,71%). A raça Nelore (10,92%) não difere estatisticamente ($p > 0,05$) em comparação a raça Tabapuã (7,91%). O menor percentual foi observado na raça Brahman (6,7%) que com exceção da raça Tabapuã difere estatisticamente ($p < 0,05$) das demais raças. O percentual observado nas raças pode ser associado a diversos fatores como o número de oócitos recuperados, as particularidades das raças/subspecies e a diferença no potencial de fertilização dos reprodutores utilizados. Conhecer dados de rotina comercial tem fundamental importância para avaliar a viabilidade da produção *in vitro* de embriões em diferentes raças, buscando por questionamentos que possam avaliar melhorias nos métodos de produção de embriões. Em conclusão, é possível relacionar os menores percentuais de rotinas que não apresentaram embriões aos zebuínos de corte, sendo que os animais taurinos de corte e leite ou zebuínos de aptidão leiteira apresentaram os maiores percentuais.

Palavras-chave: PIVE, raças, bovinos.

Keywords: IVP, breeds, bovine.



Efeitos da dexametasona no desenvolvimento, viabilidade e ultraestrutura de folículos secundários bovinos cultivados *in vitro*

Effects of dexamethasone on in vitro development of isolated bovine secondary follicles

Venância Antonia Nunes Azevedo^{1,*}, Pedro Alves Aguiar Barroso¹, Laís Raiane Paulino Feitosa¹, Laryssa Gondim Barrozo¹, Bianca Régia Silva¹, Anderson Weiny Barbalho Silva², Ana Liza Paz Souza², José Roberto Viana Silva²

¹Laboratório de Biotecnologia e Fisiologia Reprodutiva (LABIREP), Núcleo de Biotecnologia de Sobral (NUBIS), Universidade Federal do Ceará, Sobral, CE, Brasil; ²Programa de Pós-graduação em Biotecnologia (PPGB), Laboratório de Biotecnologia e Fisiologia Reprodutiva (LABIREP), Núcleo de Biotecnologia de Sobral (NUBIS), Universidade Federal do Ceará, Sobral, CE, Brasil.

*E-mail: venancianunes@gmail.com

Pesquisas que possibilitem o estudo do efeito de fármacos no desenvolvimento folicular *in vitro* são de grande relevância principalmente quando estes apresentam grande aplicação na clínica médica. A dexametasona é um glicocorticoide bastante utilizado como anti-inflamatório em bovinos, mas o seu uso indiscriminado pode ocasionar alguns efeitos adversos como os abortos prematuros, retenção placentária e a diminuição da frequência do pico de LH. Diante do exposto, são necessários estudos acerca do efeito da dexametasona durante o desenvolvimento de folículos pré-antrais bovinos, o que pode esclarecer se este glicocorticoide afeta negativamente ou positivamente o desenvolvimento folicular na fase pré-antral. Assim, o objetivo desse estudo foi avaliar os efeitos da dexametasona sobre a viabilidade, crescimento, formação de antro, e integridade ultraestrutural de folículos secundários bovinos cultivados *in vitro* por 18 dias. No laboratório, os folículos secundários com aproximadamente 150-200µm de diâmetro foram isolados e destinados ao cultivo *in vitro* em gotas de TCM-199⁺ sozinho ou suplementado com diferentes concentrações de dexametasona (1, 10, 100 e 1000ng/mL). Ao final do período de cultivo, os folículos cultivados foram destinados à avaliação da viabilidade com calceína-AM (viáveis) e etídio homodímero (não viáveis), bem como verificação dos diâmetros foliculares e formação de antro nos dias 0, 6, 12 e 18. Além disso, antes ou após cultivo *in vitro*, os folículos foram fixados para análise histológica e ultraestrutural. Os dados do crescimento folicular foram submetidos ANOVA, seguido do teste T, enquanto que para a análise da viabilidade folicular e formação de antro foi utilizado o teste Qui-quadrado, $p < 0,05$. Os resultados mostraram que os folículos cultivados com dexametasona em qualquer concentração apresentaram crescimento significativo até o 6º dia, mas somente aqueles cultivados com 1ng / mL e 1000ng / mL apresentaram crescimento contínuo até 12 dias de cultivo. No entanto, quando os tratamentos foram comparados entre si, não foi observada diferença significativa, mostrando que a dexametasona não influencia o desenvolvimento de folículos secundários *in vitro*. A formação da cavidade antral e o número de folículos normais ao final do período de crescimento foram observados em todos os tratamentos, mas não houve diferenças significativas entre os tratamentos. Os folículos cultivados na presença de dexametasona apresentaram coloração verde predominante (calceína), indicando viabilidade. A histologia e a ultraestrutura mostraram que os folículos cultivados com dexametasona tinham a ultraestrutura preservada. Pode-se concluir que a dexametasona não influencia o crescimento *in vitro* de folículos secundários bovinos, bem como a manutenção da viabilidade e ultraestrutura folicular.

Palavras-chave: dexametasona, folículos secundários, cultivo *in vitro*, bovinos.

Keywords: *dexamethasone, secondary follicles, in vitro culture, follicular development.*

Temperatura testicular e sua correlação com o exame andrológico em touros jovens da raça Nelore

Testicular temperature and its correlation with the andrological examination in young Nelore bulls.

**Ana Paula Luiz de Oliveira^{1,*}, Ricardo Andres Ramirez Uscategui²,
Yury Tatiana Granja Salcedo³, Marcelo Rezende Luz⁴, Jeanne Broch Siqueira²**

¹Graduando em Medicina Veterinária, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri – UFVJM, Unaí, MG, Brasil; ²Professores do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, UFVJM, Unaí, MG, Brasil; ³Departamento Zootecnia, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Jaboticabal, SP, Brasil; ⁴Professor da Escola de Veterinária, Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinárias, Setor de Reprodução Animal, Universidade Federal de Minas Gerais, UFMG, Belo Horizonte, MG, Brasil.

*E-mail: anapaulaluizdeoliveira@gmail.com

Métodos de avaliação não-invasivos, como a termografia digital infravermelha, são úteis na obtenção de dados confiáveis sem haver interferência direta nos sistemas orgânicos, reduzindo o estresse em diversos graus. A termografia é realizada por uma câmera infravermelha, ou termógrafo, que é um equipamento que registra a energia emitida na forma de cores. Essa ferramenta permite mensurar a temperatura de diferentes áreas do corpo dos animais e o monitoramento do estresse térmico que causa queda na fertilidade, assim, pode ser importante na avaliação reprodutiva do animal. Foram avaliados 13 animais, machos, não castrados da raça Nelore, com idade entre 18 e 20 meses, nos meses de agosto e outubro de 2018 no município de Unaí, MG, Brasil. Os animais foram contidos e as termografias foram obtidas a uma distância de 1m, na altura testicular, após a cauda do animal ser erguida, com termógrafo *FLIR E40*. Posteriormente, os animais foram submetidos ao exame andrológico. Foram analisadas as temperaturas de superfície das regiões correspondentes aos terços proximal, médio e distal dos dois testículos, cauda do epidídimo e cordão espermático de cada testículo software livre *FLIR Tools*. A análise estatística foi realizada com a ajuda do software R (*RTM Foundation for Statistical Computing*). As variáveis foram comparadas entre as distintas regiões e testículos pelo teste de *MannWitney* e, as que apresentaram resultados similares, foram calculadas as médias e utilizadas para a correlação com o resultado do exame andrológico pelo teste de *Spearman* ($\alpha=0.05$). Ao exame andrológico, sete animais foram considerados aptos à reprodução, representando 54% do total de animais; dois foram considerados aptos à regime de monta natural, 15% do total de animais; e quatro animais foram considerados temporariamente inaptos à reprodução, representando um total de 31% do total de animais. Dos quatro animais considerados temporariamente inaptos à reprodução, dois não responderam à eletroejaculação e um não apresentou número de células espermáticas no ejaculado suficiente para a realização da avaliação física do sêmen a e morfológica dos espermatozoides. Em relação à termografia, as temperaturas mensuradas nos testículos foram similares ($P > 0,05$) entre os testículos direito e esquerdo, para todas as áreas analisadas. Foram realizadas correlações entre o resultado do exame andrológico (aptos, aptos à regime de monta natural e temporariamente inaptos à reprodução) e as temperaturas obtidas pela câmera térmica, onde não foram encontradas diferenças pelo teste de *Spearman* ($\alpha=0.05$). Isso sugere que a temperatura na superfície escrotal não foi fator limitante para os touros, justificando a resistência da raça a temperaturas elevadas. Esse pode ser um dos motivos que contribui para a alta aceitabilidade desses animais pelos criadores de bovinos de corte no Brasil.

Palavras-chave: reprodução animal, bovino, termografia.

Keywords: animal reproduction, bovine, thermography.

Influencia do sêmen na produção *in vitro* de embriões bovinos Nelore em larga escala

Influence of semen on the in vitro production of large-scale Nelore bovine embryos

**Myrian Megumy Tsunokawa Hidalgo¹, Ana Beatriz Marques de Almeida²,
Fábio Luiz Bim Cavaliere³, Thales Ricardo Rigo Barreiros⁴, Maria Isabel Mello Martins^{5,*}**

¹Mestranda em Ciência Animal, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, PR, Brasil; ²Doutoranda em Ciência Animal, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, PR, Brasil; ³Departamento de Biotecnologia da Reprodução Animal, Centro Universitário de Maringá, Maringá, PR, Brasil; ⁴Laboratório de Biotecnologia da Reprodução Animal, Universidade Estadual do Norte do Paraná, Bandeirantes, PR, Brasil; ⁵Docente do Departamento de Clínicas Veterinárias, Universidade Estadual de Londrina, PR, Brasil.

*E-mail: imartins@uel.br

A fertilidade é um requisito primordial para a eficiência reprodutiva, por isso é necessário cuidado na escolha do touro, sendo fundamental conhecer as características espermáticas após a congelamento do semen realizada em larga escala. O baixo potencial fertilizante dos espermatozoides, a falha de fertilização e / ou mortalidade embrionária após inseminação artificial (IA) foi reconhecida como uma fonte potencial de perdas reprodutivas, ou seja, diminuição na taxa de prenhez. Para testar a taxa de fecundação dos espermatozoides, pode ser utilizada a taxa de produção *in vitro* de embriões (PIVE) ou mesmo a taxa de penetração dos espermatozoides ou taxa de clivagem. Com o objetivo de identificar a influencia dos touros nos resultados de produção embrionária em larga escala, foi calculada a mediana dos resultados da produção *in vitro* de embriões bovinos Nelore de até três vacas submetidas a OPU (Ovarium Pick up) com cada partida de semen, dividindo em grupos de alta e baixa produção de embriões. Os resultados acima da mediana determinou-se serem de touros de alta (TA) e os que apresentaram resultados abaixo da mediana, touros de baixa (TB) produção embrionária. Os grupos (TA e TB) foram submetidos a análise de variância (ANOVA) seguido do teste de Mann-Whitney ($p < 0,001$) pelo programa SigmaStat. Foram identificadas 245 partidas de TA e 261 partidas de TB. Os resultados mostraram que houve diferença ($P < 0,001$) entre os grupos de alta (TA) e de baixa (TB) produção para as relações embriões/oócitos (%); (TA: 46,5% versus TB: 20,0%) e embriões/vaca; (TA: 6,0 versus TB: 2,3), sugerindo que touros de alta produção apresentaram melhores resultados. Desta forma, este trabalho evidenciou a real importância em implementar um sistema de predição de fertilidade, como um método para incrementar a pesquisa dos parâmetros espermáticos de sêmen criopreservado na produção *in vitro* de embriões bovinos em larga escala, para obter melhores índices na taxa de prenhez.

Palavras-chave: criopreservação, bovino, espermatozoide.

Keywords: cryopreservation, bovine, spermatozoid.



Comparação das taxas de prenhez e perda gestacional de novilhas e primíparas taurinas de corte submetidas ou não a vacinação contra enfermidades reprodutivas previamente à IATF: Resultados preliminares

Pregnancy rate at FTAI and pregnancy loss of Bos taurus heifers and primiparous beef cows submitted to vaccination against reproductive diseases: Preliminary results

Carla Zilio Herculani^{1*}, Getulio José Milhoreto da Silveira¹, João Furtado Colombo¹, Marcelo Salbego Fernandes¹, Caio Henrique Schmidt¹, Giovani Pastre², Renato Zucco², Bruno Lima², Ana Paula Martini³, Gilson Antônio Pessoa³

¹Graduando do curso de Medicina Veterinária, Laboratório de Embriologia Animal (Embryolab), Universidade Federal de Santa Maria; ²Virbac do Brasil, São Paulo, SP, Brazil ³Professor do Departamento de Clínica de Grandes Animais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

*E-mail: carlazilio@hotmail.com

A interação entre aspecto sanitário e eficiência reprodutiva em bovinos é de grande importância, pois diferentes agentes infecciosos podem resultar em prejuízos diretos à reprodução, como morte embrionária, aborto e nascimento de bezerros fracos. O uso de vacinas reprodutivas pode ser a alternativa mais viável para proteger os rebanhos e evitar os problemas de perdas de gestação. O objetivo do trabalho foi avaliar a taxa de prenhez de novilhas e vacas primíparas taurinas de corte submetidas a protocolos de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) associado ou não à vacina reprodutiva BOVIGEN® Repro Total SE, além das perdas embrionárias, fetais e neonatais. O estudo foi realizado no ano de 2018 onde novilhas e vacas primíparas foram divididas em quatro grupos: novilhas (n=159) e primíparas (n=258) não vacinadas (Nvac), e novilhas (n=102) e primíparas (n=286) vacinadas (Vac). Realizou-se duas aplicações de 5 mL da vacina reprodutiva BOVIGEN via subcutânea no D-21 e no início do protocolo de IATF no D0 juntamente com a aplicação de 2mg de benzoato de estradiol intramuscular (im) e um dispositivo intravaginal de progesterona (1g). No D7, administrou-se 0,25 mg de cloprostenol sódico. No D9 1mg de Cipionato de estradiol e 300UI de eCG (Gonadotrofina Coriônica Equina, im) via im além da remoção da P4. A IA foi realizada no D11 com touros de fertilidade a campo comprovada distribuídos aleatoriamente em todos os grupos. O diagnóstico de gestação (DG) foi realizado por ultrassonografia transretal 30 (DG30), 70 (DG70) e 120 (DG120) dias após IATF. Os dados foram analisados usando o procedimento Glimmix do SAS. No DG30, primíparas e novilhas Nvac obtiveram taxa de concepção de 56,6% (90/159) e 62,8% (162/258) respectivamente, enquanto primíparas Vac 50% (51/102) e novilhas Vac 73,1% (209/286; P=0,86). No DG70 constatou-se que primíparas (62,9%; 100/159) e novilhas (73,6%; 190/258) Nvac apresentaram taxa de concepção inferior às primíparas (73,5%; 75/102) e novilhas (82,5%; 236/286) Vac (P=0,033). No DG120 a taxa de gestação encontrada nas novilhas Nvac foi de 86,1% (136/158) e nas primíparas Nvac de 70,5% (182/258); enquanto, novilhas e primíparas Vac apontaram maiores índices de 92,2% (94/102) e 82,5% (236/286), respectivamente (P=0,002). As perdas gestacionais foram avaliadas no período de 30-70 dias e 70-120 dias. No período de 30-70 dias primíparas Nvac tiveram 7,7% (7/90) e novilhas Nvac 9,8% (16/162), primíparas Vac 4,7% (4/51) e novilhas Vac 5,2% (11/209) de perda gestacional (P=0,07). A avaliação no período de 70-120 dias revelou perdas de 6% (6/100) para primíparas Nvac e de 3,7% (7/190) para novilhas Nvac, enquanto que primíparas Vac 1,3% (1/75) e novilhas Vac 2,1% (5/236; P=0,9). Houve similaridade na taxa de prenhez aos 30 dias (P=0,86), nas perdas gestacionais de 30-70 (P=0,07) e 70-120 dias (P=0,9). As fêmeas vacinadas obtiveram maior taxa de gestação acumulada ao final da estação reprodutiva (ER), concluindo que é benéfico o uso das vacinas no rebanho alcançando maiores taxas de gestação e reduzindo perdas causadas por doenças que afetam a reprodução dos animais.

Palavras-chave: IATF, prenhez, vacina.

Keywords: TAI, pregnancy, vaccine.



Avaliação de custos relacionados a diferentes manejos reprodutivos em vacas de corte lactantes submetidas à estação reprodutiva de 90 dias

Assessment of costs related to different reproductive management in suckled beef cows subjected to 90 days of breeding season

Aline Policarpo Baioco^{1,*}, Emídio Ferreira Machado Filho¹, Laura Rohde Brondani¹, João Furtado Colombo¹, Getúlio José Milhoreto da Silveira¹, Camille Lenz Bertão¹, Marcelo Salbego Fernandes¹, Trajano Gomes Jacques¹, Juliana Bastos Giudice¹, Ana Paula Martini², Gilson Antonio Pessoa²

¹Graduando do curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil;

²Professor do Departamento de Clínica de Grandes Animais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

*E-mail: alinebaioco@hotmail.com

O objetivo deste estudo foi avaliar os custos relacionados ao manejo reprodutivo e o impacto que a introdução de biotecnologias promove no sistema produtivo. Um total de 960 fêmeas bovinas lactantes, Angus e Brangus, foram divididas aleatoriamente em 4 manejos reprodutivos: G1) somente monta natural (MN; n=266); G2) IATF no início da estação de monta (EM) seguido de MN (IATF+MN; n=200); G3) IATF seguido de ressincronização (RE) 30 dias após a 1ª IATF e MN até o final da EM (IATF+RE30+MN; n=245) ou G4) IATF seguida de RE 22 dias após a 1ª IATF e MN até o final da EM (IATF+RE22+MN; n=249). No G1 as fêmeas foram expostas aos touros durante toda EM de 90 dias, enquanto no G2, G3 e G4 os touros foram introduzidos 10 dias após a última IATF. O diagnóstico de gestação (DG) foi realizado 30, 70 e 120 dias após o início da EM. A análise estatística foi realizada utilizando o PROC GLIMMIX do SAS. Os cálculos de custo de cada grupo basearam-se no valor aplicado em touros e no custo da sincronização e RE do estro e ovulação. Para o cálculo de custo do reprodutor foi considerado 1 touro para 20 vacas, sendo mensurado o valor de compra médio (R\$ 9.000,00) diluído em 4 anos de uso no rebanho (reposição de 25% ao ano), adicionado custo anual com alimentação, arrendamento da terra, sanidade e exame andrológico pré-EM. Do valor obtido subtraiu-se o preço de venda do touro ao final de sua vida útil reprodutiva. Assim, o valor anual de cada reprodutor foi de R\$ 2.202,55. O custo do protocolo de sincronização, sêmen, mão de obra e deslocamento foi R\$ 75,00/vaca, sendo adicionado R\$ 9,00/vaca no G4 onde as fêmeas receberam um dispositivo intravaginal de P4 e benzoato de estradiol sem prévio DG. O custo final ficou distribuído da seguinte forma: G1: R\$ 30.835,70; G2: R\$ 37.025,50; G3: R\$ 40.412,75; G4: R\$ 41.822,02. Para o valor individual da prenhez por grupo considerou-se o valor investido e a taxa de prenhez obtida aos 30, 70 e 120 dias. Aos 30 dias de EM o G1 resultou em menor taxa de prenhez (3%; 8/266) em relação ao G2 (40,0%; 80/200); G3 (40,0%; 98/245) e G4 (39,8%; 99/249). O custo da prenhez aos 30 dias foi superior para G1 (R\$ 3.864,12) e G2 (R\$ 462,82) em relação aos grupos de RE (G3: R\$ 412,38 e G4: R\$ 422,01). A taxa de prenhez aos 70 dias de EM nos grupos de RE foi superior (G3: 69,4%; 170/245 e G4: 66,3%; 165/249) quando comparados ao G1 (16,9%; 45/266) e G2 (48,0%; 96/200; P<0,001). O menor custo aos 70 dias foi obtido em G3 (R\$ 237,68) e G4 (R\$ 253,33) em comparação ao G1 (R\$ 685,94) e G2 (R\$ 385,68). A taxa de prenhez ao final da EM também foi maior nos grupos RE, G3 (83,7%a; 205/245) e G4 (81,5%a; 203/249), em relação ao G1 (45,1%c; 120/266) e G2 (71,0%b; 142/200). O valor individual da prenhez ao final da EM foi inferior em G3 (R\$ 197,07) e G4 (R\$ 206,09) quando comparados ao G1 (R\$ 257,04) e G2 (R\$ 260,74). Este trabalho demonstra que a adoção de biotecnologias dentro da cadeia produtiva da carne, aumenta a eficiência reprodutiva e diminui custos relacionados à reprodução com a utilização da RE, tanto de 30 quanto de 22 dias, além de concentrar a taxa de parição ao início da EM.

Palavras-chave: custo, prenhez, IATF, touro.

Keywords: cost, pregnancy, FTAI, bull.

Escore de condição corporal e sua influência na taxa de gestação de vacas nelore submetidas a inseminação artificial a tempo fixo em Marabá-Pará

Body condition and pregnancy rate in Nelore cows submitted at artificial insemination at fixed time in Marabá-Pará

Jerônimo Bryk Filho¹, Guilherme Machado Hölzlsauer¹, Fabrício Molina Pereira², Eunice Oba³, Edjalma Rodrigues da Silva-Junior^{1,3,*}

¹Faculdade de Ciências Sociais e Agrárias de Itapeva - FAIT, Itapeva, SP, Brasil. ²FF Consultoria Pecuária, Marabá-PA, ³Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, Brasil

*E-mail: edjalma.vet@hotmail.com

A inseminação artificial a tempo fixo (IATF), tem como objetivo reduzir os custos com o manejo, identificação do cio e gastos com recursos humanos. Entretanto, a sua aplicação em uma empresa rural depende de alguns fatores, como nutrição, manejo e condição corporal dos animais. Sendo assim, o objetivo do experimento foi avaliar a taxa de prenhes em fêmeas submetidas a IATF, num sistema de bovinocultura na região de Marabá-Pará. A coleta de dados foi realizada em fazendas da região de Marabá-PA, de janeiro a março de 2018, totalizando 2008 vacas nelore. O escore de condição corporal (ECC, escala 1 a 5) foi avaliado por um único técnico no momento e após 60 dias pós-parto. O protocolo de inseminação artificial seguiu-se com quatro passagens no tronco, no dia zero (D0) implante intravaginal de progesterona (Sincrogest, Ouro Fino[®]) + Benzoato de Estradiol (2 mg, Ouro Fino[®]); D7 – Prostaglandina (150 µg de clorprostenol, MSD Saúde Animal[®]); D9 – retirada do implante + Prostaglandina (150 µg de clorprostenol, MSD Saúde Animal[®]) + Cipionato de Estradiol (1 mg, Zoetis[®]) + Gonadotrofina Coriônica Equina (300 UI, MSD Saúde Animal[®]). Realizou-se a IATF no dia 11º do protocolo. O diagnóstico da gestação se deu 30 dias após a IATF, com ultrassonografia transretal (Mindray[®] DP-2200), observando a presença do embrião e líquidos fetais. Os dados foram computados em tabela de contingência e avaliados (GraphPad Prism Software Versão 5.0, San Diego, Califórnia, USA), pelo teste de Qui-quadrado, considerado nível de 5% de significância. As vacas que apresentaram ECC entre 2 e 4 apresentaram taxa de gestação satisfatórias nas condições experimentais (52,2%; 48,3%; 57,1%; 60,8%; 50%, respectivamente). Entretanto, os animais que apresentaram ECC 1 e 1,5, como já esperado (25% e 25%, respectivamente), não apresentaram resultados compatíveis para um sistema comercial para a produção de carne, nem apresentaram ECC na média do rebanho. Já as fêmeas que apresentaram ECC 4,5 e 5, da mesma forma que as que se apresentaram muito magras, não obtiveram resultados satisfatórios de fertilidade (41% e 0%, respectivamente). Tal fato, pode ser decorrente da não mobilização energética para o sistema reprodutivo, no caso das fêmeas muito magras. Já as fêmeas que foram consideradas obesas, o sistema reprodutivo pode ter desenvolvido resistência insulínica, decorrente do excesso de gordura corporal, prejudicando o desenvolvimento fisiológico dos gametas. Sendo assim, concluímos que há um limiar fisiológico que pode ser considerado ideal, para que as fêmeas tenham um bom índice de gestação, num sistema comercial para a produção de carne.

Palavras-chave: bovinocultura, fêmeas, zebuino.

Keywords: *cattle, female, zebu.*

Efeito da dose e momento de aplicação do eCG sobre dinâmica folicular de vacas de corte em anestro

Evaluation of dose and timing of eCG application on follicular dynamics in anestrous beef cows

Henrique Ravalha e Siqueira^{1*}, João Furtado Colombo¹, Carla Zilio Herculani¹, Jéssica Schopf¹, Emídio Ferreira Machado Filho¹, Aline Policarpo Baioco¹, Bruno Gonzalez de Freitas², Bruna Martin Guerreiro², Ana Paula Martini³, Gilson Antônio Pessoa³

¹Laboratório de Embriologia Animal (Embryolab) Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil; ²Ouro Fino Saúde Animal, Cravinhos, São Paulo, Brasil; ³Professor-Departamento de Clínica de Grandes Animais – EMBRYOLAB, UFSM.

*E-mail: henriqueravalha@hotmail.com

Através da inseminação artificial em tempo fixo (IATF), o emprego de protocolos hormonais na indução e sincronização de matrizes vem sendo um fator muito eficiente no melhoramento genético dos rebanhos brasileiros. A presença de matrizes em anestro durante a estação reprodutiva é um problema a ser solucionado nas propriedades, o uso de gonadotrofina coriônica equina (eCG) tem colaborado nestes tratamentos, promovendo maior crescimento folicular e conseqüente maior taxa de ovulação. Nesta linha de pesquisa, objetivou-se avaliar a influência de diferentes doses e momentos de aplicação do eCG durante o protocolo de IATF no crescimento folicular, taxa de estro, taxa de prenhez, ocorrência de codominância e ovulações duplas e gestações gemelares. O estudo foi realizado com 81 vacas taurinas múltiparas, idade média de 5 anos, escore de condição corporal (ECC) de $2,42 \pm 0,17$ (escala de 1 a 5), 45 dias pós-parto, acíclicas ao início do protocolo de IATF. Os animais foram randomizados em 4 grupos por ECC e diâmetro do maior folículo (DF) no D6 do protocolo. O grupo G1 (n=20) recebeu no dia 0 (D0) aplicação de 2mg de benzoato de estradiol im (BE; Sincrodiol®) e dispositivo intravaginal de progesterona de primeiro uso (DIP; Sincrogest®), no D7 aplicação de 25 mg de cloprostenol im (Sincrocio®), no D9, 0,6mg de cipionato de estradiol im (CE; SincroCP®) e 300UI de eCG (SincroeCG) realizando a IA no dia 11. O grupo G2 (n=21) foi similar ao G1, exceto que no D7 recebeu além de 25mg de cloprostenol uma dose de 200UI de eCG. O grupo G3 (n=20) recebeu no D0 aplicação de 2mg de BE im (Sincrodiol®) e DIP de primeiro uso (Sincrogest®), no D6 aplicação de 2ml de cloprostenol im (Sincrocio®), no D8, 0,6mg de CE e 300UI de eCG realizando a IA no D10. O grupo G4 (n=20) foi similar ao G3, porém no D6 recebeu além do cloprostenol uma dose de 200UI de eCG. Todos os animais foram inseminados com sêmen de uma única partida do mesmo touro com fertilidade a campo comprovada. Em todos os grupos foi realizada avaliação do DF no D6, D7, D8, D9, D10 e D11 e o diagnóstico de gestação foi realizado 30 dias após a IA. Os dados foram analisados através de Proc Glimmix do SAS. As maiores taxas de crescimento folicular diária foi verificada nos grupos que receberam eCG e cloprostenol antes da retirada do DIP, com G2 e G4 ($1,61 \pm 0,28$ mm e $1,6 \pm 0,21$ mm, respectivamente), enquanto G1 e G3 ($1,35 \pm 0,2$ mm e $1,28 \pm 0,33$ mm; $P=0,001$). O DF no momento da IA para G1, G2, G3 e G4 foram $14,53 \pm 0,78$; $14,7 \pm 0,7$; $13,2 \pm 1,1$ e $14,06 \pm 0,6$ mm, respectivamente ($P=0,001$). Já a taxa de cio e P/IA foram para G1 65% (13/20) e 50% (10/20), G2 76,2% (16/21) e 52,4% (11/21), G3 60% (12/20) e 40% (8/20) e G4 75% (15/20) e 50% (10/20), respectivamente. A codominância foi verificada nos grupos G2 (4,8%, 1/21), G3 (5%, 1/20) e G4 (10%, 2/20), porém nenhuma prenhez gemelar foi identificada aos 30 dias. Verificou-se ainda que a antecipação da dose de 200 UI de eCG proporcionou uma taxa de crescimento folicular diária similar ao uso de 300UI de eCG na retirada do dispositivo intravaginal de progesterona. Devido ao pequeno número de animais utilizados no trabalho, se faz necessário um estudo com maior número de matrizes para investigar a ocorrência de gestações gemelares, codominância e efeito sobre a prenhez.

Palavras-chave: IATF, anestro, vaca de corte.

Keywords: TAI, anestrous, beef cow.

Uso da progesterona injetável na indução da ciclicidade em novilhas pré-púberes: Taxa de prenhez a IATF

Injectable progesterone induces cyclicity in pre-pubertal beef heifers: pregnancy rate at TAI

Getúlio José Milhoreto da Silveira^{1,*}, Trajano Gomes Jacques¹, Fernando Pozzobon Bortoluzzi¹, Marcelo Salbego Fernandes¹, Carla Zilio Herculani¹, Jessica Schopf¹, Bruna Martins Guerreiro², Bruno Gonzalez de Freitas², Vanessa Buss³, Fabio Gallas Leivas³, Ana Paula Martini¹, Gilson Antônio Pessoa¹

¹Laboratório de Embriologia Animal (Embryolab) Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil;

²Ouro Fino Saúde Animal, Cravinhos, SP, Brasil; ³Universidade Federal do Pampa, Uruguaina, RS, Brasil.

*E-mail: getuliomilhoretosilveira@gmail.com

A utilização de biotecnologias da reprodução é uma ferramenta essencial para melhorar a produtividade da bovinocultura de corte. Dessa forma, o uso de protocolos de indução à ciclicidade e a avaliação do escore de trato reprodutivo (ETR) de novilhas taurinas prévia a estação reprodutiva (ER) podem elevar o índice de fêmeas gestantes e, conseqüentemente, proporcionar maior taxa de reposição e eficiência reprodutiva do rebanho. O objetivo foi avaliar a taxa de prenhez à IATF e prenhez final em novilhas que não apresentavam corpo lúteo (CL) no dia 0 (D0) da IATF, quando submetidas previamente a indução. O estudo foi realizado em 2018 em ER de 70 dias com 489 novilhas taurinas, com idade de 17,1±3,2 meses e ECC de 2,95±0,45 (D-50) e 3,46±0,28 (D-10) (1=magra e 5=obesa), nas quais se realizou a primeira avaliação de ETR 50 dias antes (D-50) e no dia de início do protocolo de IATF (D-10) através de ultrassonografia transretal (ETR 1=diâmetro de corno uterino ≤15mm e ausência de folículos; 2=diâmetro de corno uterino de 15 a 20 mm e folículos de 8mm; 3=diâmetro de corno uterino de 20 a 25 mm e folículos de 8 a 10 mm; 4=corno uterino ≥ 25mm e folículos ≥ 10mm; 5=corno uterino ≥ 25 mm e presença de CL). No D-50 os animais foram alocados em grupos: G1 com ETR de 3,47±0,45 (n=165) foram induzidas com 150mg de progesterona injetável (P4Inj.; Sincrogest®, Ouro Fino Saúde Animal), o G2 com ETR de 3,48±0,55 (n=173) foram induzidas com P4inj no D-50 e posterior aplicação de 1mg de cipionato de estradiol (CE; SincroCP®) no D-38 e um grupo controle que não recebeu nenhum tratamento (n=151) com ETR de 4,69±0,51, entre as quais já havia 61,6% (93/151) das novilhas cíclicas. No protocolo de IATF as novilhas receberam 2mg de benzoato de estradiol im (Sincrodiol®), 12,5mg im de Cloprostenol sódico (Sincrocio®) e dispositivo intravaginal de progesterona (DIP; Sincrogest® 1g) no D-10. No D-2 foi aplicado 1mg de CE, 300 UI de gonadotrofina coriônica equina im (Sincro eCG®), 25mg de Cloprostenol sódico e remoção do DIP. A IA ocorreu 48h após a remoção do DIP (D0). O diagnóstico de gestação foi realizado 30 dias após a IATF por ultrassonografia transretal, as novilhas não gestantes foram ressincronizadas. Os dados foram analisados usando o procedimento Glimmix do SAS. A taxa de ciclicidade no D-50 e D-10 no G1 foi de 0% e 62,5%; G2 de 0% e 66,5% e controle de 61,6% e 66,9%, respectivamente (P=0.0001). A prenhez à IATF no G1 foi 51,5% (85/165) [Anestro 29,5% (18/61), CL 64,4% (67/104)]; G2 50,3% (87/173) [Anestro 29,3% (17/58), CL (60,9% (70/115))] e controle 55,0% (83/151) [Anestro 15,7% (8/51), CL 75% (75/100)] (Anestro x CL, P=0,001). A prenhez final foi para G1 85,8% (109/127) [Anestro 75% (33/44), CL 91,6% (76/83)], G2 90,6% (116/128) [Anestro 74,4% (29/39), CL 97,8% (87/89) e controle 81,5% (123/151) [Anestro 56,9 (29/51), CL 94% (94/100)] (P=0.04). Os dois protocolos de indução foram eficientes em induzir a ciclicidade em novilhas taurinas. Os resultados demonstram que a indução de novilhas pré-púberes permite atingir índices similares as novilhas que já se encontravam cíclicas 50 dias antes do início da ER. Todavia, novilhas que iniciaram a ER acíclicas e não induzidas alcançaram índices menores de prenhez à IATF e ao final da ER.

Palavras-chave: IATF, novilhas, indução da ciclicidade.

Keywords: TAI, heifers, induce cyclicity.



Estudo retrospectivo sobre as características de 217 amostras de sêmen congelado de touros analisadas no Laboratório de Embriologia Animal (EMBRYOLAB) da Universidade Federal de Santa Maria

Characteristics of 217 samples of frozen semen from bulls analyzed at Federal University of Santa Maria - RETROSPECTIVE STUDY

Emídio Ferreira Machado Filho^{1,*}, Aline Policarpo Baioco¹, João Furtado Colombo¹, Laura Rohde Brondani¹, Getúlio José Milhoreto da Silveira¹, Fernando Pozzobon Bortoluzzi¹, Camille Lenz Bertão¹, Trajano Gomes Jacques¹, Juliana Bastos Giudice¹, Carla Zilio Herculani¹, Ana Paula Martini², Gilson Antonio Pessoa²

¹Graduando em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil; ²Professor do Departamento de Clínica de Grandes Animais, Embryolab, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

*E-mail: emidiofmachadofilho@gmail.com

O objetivo do presente estudo foi avaliar as principais características encontradas em amostras de sêmen bovino congelado destinadas ao uso em programas de IA e IATF. As amostras foram encaminhadas por fazendas ao Laboratório de Embriologia Animal (EMBRYOLAB) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) para que fossem avaliadas antes de sua utilização na estação reprodutiva. No total foram avaliadas 217 amostras de sêmen bovino congelado, dos anos de 2012 a 2019. No ano de 2012 (A12) foram avaliadas 22 amostras, em 2013 (A13): 12, 2014 (A14): 5; 2015 (A15): 7; 2016 (A16): 13; 2017 (A17): 43; 2018 (A18): 104 e no 1º trimestre de 2019 (A19): 11 amostras, totalizando 217 análises. As amostras foram avaliadas através dos parâmetros do Colégio Brasileiro de reprodução animal (CBRA), para o estudo foram utilizados o conjunto de dados de motilidade ao descongelamento (MOT 0h), motilidade após o teste de termo resistência (MOT TTR), vigor, concentração e morfologia espermática. Além disso, análise morfológica das amostras coradas através da coloração de Cerovsky e avaliadas em imersão com aumento de 1000x em microscópio óptico. Os resultados obtidos na avaliação de MOT 0h e MOT TTR foram respectivamente A12: $63,6 \pm 10,8$ % e $42,73 \pm 11,7$ %; A13: $18 \pm 22,1$ % e $22,5 \pm 22,7$ %; A14: $26 \pm 15,2$ % e $33 \pm 12,0$ %; A15: $32,86 \pm 20,6$ % e $21,43 \pm 15,7$ %; A16: $29,23 \pm 17,5$ % e $24,62 \pm 23,7$ %; A17: $35,12 \pm 18,2$ % e $36,16 \pm 20,9$ %; A18: $39,0 \pm 19,5$ % e $28,17 \pm 21,4$ %; A19: $31,8 \pm 11,7$ % e $26,36 \pm 20$ %. As amostras classificadas como aptas (n=132) apresentaram MOT 0h: $64,20 \pm 14,5$ % e vigor $3,1 \pm 0,66$; e as classificadas como inaptas (n=85) apresentaram $22,7 \pm 6,1$ % e vigor $1,9 \pm 0,9$ (P= 0,0005); quando as amostras foram avaliadas conforme a MOT TTR, as aptas apresentaram $43,3 \pm 14,9$ %; enquanto as inaptas $10,6 \pm 2,3$ % (P=0,001). Na avaliação morfológica as amostras classificadas como aptas obtiveram $9,1 \pm 2,0$ % de defeitos maiores enquanto as inaptas $16 \pm 9,6$ % (P=0,001). Na avaliação de defeitos menores as aptas apresentaram $11,7 \pm 1,7$ % e as inaptas $17,9 \pm 3,1$ % (P=0,04). Outro dado relevante na avaliação foi quanto ao tempo de armazenamento do material, as amostras avaliadas como aptas estiveram armazenadas após o seu congelamento em média por até $2,0 \pm 1,3$ anos, já as inaptas $3,9 \pm 2,3$ anos. Isto demonstra que as condições de armazenamento na propriedade e a manipulação das amostras ao longo do tempo pode alterar a viabilidade do sêmen congelado, inviabilizando o uso em programas de IATF. A avaliação laboratorial é extremamente importante, embora não possa prever a fertilidade, pode evitar o uso de sêmen fora dos padrões recomendados.

Palavras-chave: sêmen, avaliação, motilidade, morfologia.

Keywords: semen, evaluation, motility, morphology.



Produção cervical de IL1 β e IL6 comparado às demais regiões do trato reprodutivo de novilhas mestiças

Cervical production of IL1 β and IL6 compared to the other regions of the reproductive tract of crossbred heifers

Paula Batista de Alvarenga^{1*}, Vitor André Martinez², Amanda Lima Rezende¹, Dayane Olímpia Gomes¹, Antônio Bertolino Cardoso Neto¹, Deborah Ferreira Vaz², Sara Pedrosa Franco Barbosa², Ricarda Maria dos Santos³, João Paulo Elsen Saut³

¹Pós-graduandos em Ciências Veterinárias, Universidade Federal de Uberlândia (UFU), MG, Brasil; ²Graduandos do Curso de Medicina Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária (FAMEV), UFU, MG, Brasil; ³Laboratório de Saúde em Grandes Animais, FAMEV, UFU, MG, Brasil

*E-mail: paulabatista_alvarenga@hotmail.com

As infecções uterinas se destacam como problemas reprodutivos no pós-parto de vacas leiteiras até os 60 dias em lactação (DEL). Dentre as infecções, a cervicite tem incidência de 15 a 40% aos 30 DEL podendo acarretar atrasos reprodutivos significativos. Sabe-se que a correlação entre a secreção vaginal e endometrite clínica é considerada fraca (DUBUC et al. 2010. *JDS*, 93:5764-5771), sugerindo que essa secreção possa ser proveniente de cérvix e, portanto, a melhor denominação para esta condição tem sido descarga vaginal purulenta (DVP). Uma das formas de avaliação da resposta imune inata da cérvix é a dosagem da produção de citocinas pró-inflamatórias, como as interleucinas 6 e 1 β (IL6 e IL1 β). A hipótese deste estudo foi de que o cultivo *ex vivo* de cérvix, ao ser desafiado com lipopolissacarídeos (LPS), tem menor produção de IL6 e IL1 β na comparação com o endométrio. Objetivou-se neste estudo avaliar a resposta imune inata cervical e comparar com as demais regiões do trato reprodutivo de novilhas frente ao desafio de LPS em cultivos destes órgãos *ex vivo*. Para avaliar esta resposta imune inata cervical, foram coletados por meio de *punch* (8 mm) fragmentos de seis regiões do trato reprodutivo (vagina, transição vagina/cérvix, cérvix, transição cérvix/útero, carúnculas uterinas e região intercaruncular) de 43 novilhas nulíparas, agrupadas de acordo com a fase do ciclo estral em folicular (n=5) e luteínica (n=38). Os fragmentos foram cultivados por 24 horas nos seguintes tratamentos: controle e 1 μ g/mL LPS (*E. coli* 055:B5). Foi realizado o teste de ELISA para a dosagem das interleucinas no sobrenadante. A estatística utilizada foi análise de variância (*Two-way* ANOVA) com pós-teste de Bonferroni (P<0,05). Os resultados evidenciaram que há uma resposta imune inata cervical na fase luteínica frente ao desafio de LPS, com produção de IL1 β de 0,390 \pm 0,430 pg/mg (controle) *versus* 0,672 \pm 0,897 pg/mg (LPS) (P=0,0297) e, IL6 de 23,60 \pm 17,48 pg/mg (controle) *versus* 172,20 \pm 149,50 pg/mg (LPS) (P<0,0001). Na fase folicular, uma tendência de IL1 β de 0,153 \pm 0,183 pg/mg (controle) *versus* 0,597 \pm 0,548 pg/mg (LPS) (P=0,062) e, diferença significativa de IL6 de 10,56 \pm 6,13 pg/mg (controle) *versus* 134,04 \pm 115,36 pg/mg (LPS) (P=0,016). Ao se comparar a região cervical com as outras regiões do trato reprodutivo, a produção cervical de citocinas frente ao desafio com 1 μ g/mL LPS foi igual à apresentada pelas regiões vagina, transição vagina/cérvix, transição cérvix/útero e região caruncular, independente da fase do ciclo estral (luteal ou folicular). No entanto, a resposta de ambas as citocinas foi inferior à porção intercaruncular, tanto na fase folicular (IL1 β – P<0,001; IL6 – P<0,05) e luteínica (IL1 β – P<0,001; IL6 – P<0,001). Concluiu-se que a região cervical de novilhas responde com a produção de citocinas pró-inflamatórias ao desafio de LPS, porém monta menor resposta em relação à região intercaruncular do endométrio.

Palavras-chave: cervicite, doenças uterinas, interleucinas.

Keywords: *cervicitis, uterine diseases, interleukins.*



Occurrence of tubal and ovarian disorders in 504 discarded crossbred dairy cows
Ocorrência de alterações tubáricas e ovarianas em 504 vacas mestiças leiteiras descartadas

**Renata Barbosa Andrade¹, Paula Batista de Alvarenga^{1,*}, Amanda Lima Rezende¹,
Rafaela Cardoso Ribeiro¹, Thaisa Reis Santos¹, Nicolle Soares Pereira¹, Ricarda Maria dos Santos¹,
Selwyn Arlington Headley², João Paulo Elsen Saut¹**

¹Large Animal Health Laboratory, Faculty of Veterinary Medicine, Universidade Federal de Uberlândia, Minas Gerais, Brazil; ²Laboratory of Animal Pathology and Multi-User Animal Health Laboratory, Tissue Processing Unit, Department of Veterinary Preventive Medicine, Universidade Estadual de Londrina, Paraná, Brazil.

*E-mail: paulabatista_alvarenga@hotmail.com

Ovarian and tubal disorders can cause infertility and repetition of services in cows and although they occur less frequently than uterine affections, they can affect up to 10% of the animals (Rebhun, 2008. Diseases of dairy cattle). According to Sheldon et al. (2008. Vet J, 176: 115–121; 2009. Biol Reprod, 81:1025-32) up to 40% of dairy cows are affected by postpartum uterine diseases and therefore develop subfertility or infertility. The uterine tube is where fertilization occurs and any alteration of the tubal environment may directly interfere with the reproductive indices, even if the entire uterine environment is not compromised. In order to verify the occurrence of uterine diseases and the incidence of macroscopic alterations observed in the uterine tubes and ovaries, were collected the reproductive tracts of 504 dairy cows discarded by voluntary or involuntary reasons in a slaughterhouse in the city of Uberlândia, MG, Brazil. The reproductive tracts were stored in individual plastic bags and kept refrigerated until arriving at the laboratory, where they were examined until two hours after the collection. Uterine tubes and ovaries were inspected, and macroscopic alterations were diagnosed. In addition, fragments were collected for histopathological technique when it was not possible to identify the disorder only through macroscopic evaluation. The fragments collected were maintained in 10% formaldehyde and processed to make histological blades stained in Hematoxylin and Eosin (HE). The data were tabulated in Excel spreadsheets to proceed statistical analysis using the GraphPad Prism 5® Software. It was observed that 38.7% (195/504) of the animals presented macroscopic alterations, being 29.6% (149/504) in ovaries, 9.1% (46/504) in uterine tubes and 2.6% (13/504) in both structures. The changes observed in the ovaries were follicular cyst (122/149), para-ovarian cyst (8/149), hypoplasia (7/149), luteal cyst (2/149) and calcification (1/149). In tubes, the macroscopic alterations were adherence (29/46), paratubal cyst (10/46), hydrosalpinx (4/46), tubal cyst (2/46), presence of serous secretion (1/46) and fibrosis (1/46). The histological alterations were dystrophic calcification in the ovary (n=1) and intense lymphoplasmacytic infiltrate in the uterine tube (n=1). The occurrence of tube-ovarian diseases in discarded crossbred dairy cows is similar to that of postpartum uterine diseases described in the literature, and due to their impact on the reproductive performance it becomes evident the importance of further studies aimed at these structures.

Key words: dairy cows, histology, infertility, uterine infections, uterine tubes.

Palavras-chave: vaca leiteira, histologia, infertilidade, infecção uterina, tubas uterinas.



Panorama das importações de material genético bovino em 2018

Overview of imports of bovine genetic material in 2018

**Emanuela Almeida Gricio^{1,*}, Rubens Corrêa Junior², Gediendson Ribeiro de Araujo³,
Pedro Nacib Jorge Neto⁴**

¹Aluna do DMV-UFLA; ²LAE- FMVZ/USP; ³INBIO/UFMS, ⁴PPGRA-FMVZ/USP, São Paulo, SP, Brasil.

*E-mail: manugricio@yahoo.com

O comércio global de material genético viabilizou a transferência de germoplasmas entre países com maior biossegurança e com menor custo. A entrada de sêmen e embriões no Brasil possibilitou a melhoria genética para algumas raças nacionais e também a utilização de raças não existentes no país. As informações de importações de sêmen e embriões obtidas a partir do mercado são na sua grande maioria restritas e quando há publicações não contemplam as informações por um todo, isto é, importações de pequenas empresas ou importações realizadas diretamente por pecuaristas. A divulgação dessas informações permite orientar os pecuaristas a tomarem decisões assertivas e também informar os analistas do mercado agropecuário. Assim, através da tabulação de dados estatísticos de importações do Portal Siscomex, disponibilizados pela Receita Federal, os dados foram tratados e analisados com o objetivo de obter os números oficiais da importação de sêmen e embriões no ano de 2018. A primeira parte da análise do ano de 2018 não apontou importações de embriões bovinos. Em 2016 e 2017, o Brasil importou 330 e 141 embriões, respectivamente. A queda das importações de embriões de 2017 para 2018, uma vez que seu custo é maior que a dose de sêmen, tende a ser motivada pela instabilidade política e econômica no país. O aumento da importação de sêmen em relação aos anos de 2016 e 2017 demonstram a retomada do setor de pecuária de corte e leite após a crise brasileira que se intensificou em 2015. No período de janeiro a dezembro de 2018 foram importadas 8.017.452 doses, correspondendo a um montante de US\$27.496.761,59. A quantidade de doses importadas em 2016 e 2017 foram, respectivamente, 7,4 e 6,8 milhões de doses. Em 2018, o montante importado de doses foi 4,045 milhões para as raças de corte e 3,668 milhões para as raças de leite, movimentando na economia do país o valor total de US\$27,49 milhões. Na base de dados disponibilizada não possível identificar as raças doadoras de 303.042 doses. A dose com maior valor de custo foi da raça Brahman e a com menor custo foi da raça Angus. O preço médio das doses de sêmen para pecuária de leite foi 95% maior que o preço médio das doses para corte. As importações foram efetuadas dos seguintes países: Estados Unidos (61,5% total, 69,5% corte e 52,6% leite), Canadá (22,7% total, 10,3% corte e 35,2% leite), Argentina (6,9% total, 13,6% corte e 0,0% leite), Holanda (3,8% total, 0,0% corte e 8,3% leite), Espanha (2,7% total, 4,4% corte e 1,1% leite), Reino Unido (0,8% total, 1,4% corte e 0,2% leite), Nova Zelândia (0,7% total, 0% corte e 1,5% leite), França (0,5% total, 0,2% corte e 0,9% leite), Austrália (0,3% total, 0,3% corte e 0,3% leite), Uruguai (0,1% total, 0,3% corte e 0% leite) e Bolívia (0% total, 0,1% corte e 0% leite). A América do Norte representou 84,2% das importações totais de sêmen, enquanto a Europa representou apenas 7,8%. Portanto, com base nos dados mencionados é possível demonstrar a migração do mercado brasileiro para animais genômicos.

Palavras-chave: material genético, pecuária de corte, pecuária de leite, importação.



Does the activation of peroxisome proliferator- activated receptors improve the development of bovine embryos produced in vitro?

A ativação de receptores ativados por proliferador peroxismo melhora o desenvolvimento de embriões bovinos produzidos in vitro?

**Emanuela Almeida Gricio¹, Jesús Alfonso Sánchez Viafara¹, Renata Maculan¹,
Gisvani Lopes de Vasconcelos¹, Nadja Gomes Alves², Marcos Brandão Dias Ferreira³,
Mariana Aragão M. Donato¹, Mateus José Sudano¹, Gisele Zoccal Mingoti¹,
Giovana Barros Nunes¹, José Camisão de Souza^{2,*}**

¹DMV-UFLA; ²DZO-UFLA; ³EPAMIG, Belo Horizonte, MG, Brasil.

*E-mail: jcamisao@ufla.br

The aim of this study was to evaluate the effect of addition of L-165041 (selective agonist of PPAR- α) and of docosahexaenoic fatty acid (DHA) in the embryo culture medium on metabolism and embryonic development. Materials and methods: day 1 presumptive zygotes (control group n = 609; DHA group n = 611; and L165041 group n = 608) were randomly allocated for embryo culture. The cleavage rate was evaluated on day 2 (D2) and blastocyst production on day 7 (D7). Embryos were fixed for TUNEL on D7. Results: Blastocyst production on D7 was high in the control and L-165041 groups compared with the DHA group (P < 0.05). The proportion of ICM cells was greater, and the total apoptosis and ICM rates were lower in the L-165041 group compared to the control and DHA groups (P < 0.05). The DHA group had a lower proportion of ICM and higher total apoptosis and ICM rates compared to the control (P < 0.05). In the DHA group, the mitochondria exhibited signs of cell stress, and various cells exhibited intense vacuolization. In conclusion, the use of L-165041 in IVC is recommended, and the use of DHA in the IVC for bovine embryos should be avoided.

Keywords: blastocyst, apoptosis, L-165041, DHA, bovine.

Palavras-chave: blastocisto, apoptose, L-165041, DHA, bovino.



Comparação na taxa de prenhez na inseminação artificial em tempo fixo entre reprodutores Angus com sêmen analisado por sistema computadorizado

Comparison of artificial insemination rate in fixed time between reproducers and recordings by computerized system

Daniel Fernando Grochoski¹, João Filipi Scheffer Pereira^{1,*}, Ronério Augusto Bach², Clóvis Fazzano², Verena Baréa¹, Kamila Carrão¹, Liédge Camila Simioni Felício¹, Wellington Hartmann¹

¹Universidade Tuiuti do Paraná, Curitiba, Brasil; ²Fazembryo, Araçatuba, São Paulo, Brasil.

*E-mail: joao.filipi@gmail.com

As variações nos índices de prenhez de vacas submetidas a IATF estão associadas entre outros fatores a qualidade do sêmen utilizado. O sêmen quando congelado sofre danos a membrana durante o processo de diluição e curva de congelamento, além de injúrias causada pela formação de cristais de gelo e toxicidade dos crioprotetores. Correlação alta entre os parâmetros de qualidade do sêmen e prenhez na IATF foram descritas. O objetivo deste estudo é a comparação dos parâmetros espermáticos e o índice de prenhez entre reprodutores Angus. Foram utilizados três touros A, B e C. Para avaliação do sêmen foram utilizadas 5 doses de sêmen contendo 0,5 mililitros, descongelada a 46°C durante 12 segundos de cada reprodutor. Nesta avaliação foram analisados valores de concentração de espermatozoides por dose, vigor, motilidade subjetiva, motilidade total computadorizada, motilidade progressiva computadorizada, espermatozoides rápidos, integridade de membrana pelo método de fluorescência, número de espermatozoides com movimento total, defeitos maiores, defeitos menores e defeitos totais. A análise de motilidade subjetiva foi realizada através de microscopia óptica por um profissional treinado. Os demais pontos analisados foram realizados em um sistema computadorizado de avaliação de sêmen. As fêmeas Nelore foram submetidas ao programa de IATF, sincronizadas com mesmo protocolo hormonal de três manejos. Foram inseminadas 1934 fêmeas com o sêmen de mesma partida e lote do analisado, sendo inseminadas com reprodutor A (n=525), B (n=748) e C (n=661). A confirmação da prenhez foi realizada 30 dias após a IA através de ultrassonografia transretal. A análise estatística foi realizada utilizando o software StargraphicsXVII, os dados foram avaliados através da ANOVA com teste de Tukey com 5% de significância. A taxa de prenhez foi analisada através do teste Qui-quadrado. O reprodutor A apresentou diferença estatística significativa ($p < 0,05$) na motilidade subjetiva e motilidade computadorizada total, em comparação aos reprodutores B e C. Na motilidade computadorizada progressiva o reprodutor B apresentou diferença estatística significativa ($p < 0,05$) em comparação aos demais reprodutores. Não foram observadas diferenças estatísticas ($p > 0,05$) entre os reprodutores para número de espermatozoides em movimento total e vigor espermático. Os reprodutores A e B apresentaram diferença estatística significativa ($p < 0,05$) na avaliação de espermatozoides rápidos. A concentração espermática foi significativamente menor ($p < 0,05$) no reprodutor C em comparação ao reprodutor A. Não foram observadas diferenças estatísticas ($p > 0,05$) entre os reprodutores para defeitos maiores, defeitos menores, defeitos totais, integridade de membrana e índice de prenhez. Em conclusão, neste experimento as diferenças encontradas nos parâmetros de movimento espermático entre os reprodutores não influenciaram nos índices de prenhez.

Palavras-chave: IATF, prenhez, sêmen.

Key words: IATF, pregnancy, semen.



Efeitos do fator de crescimento epidermal (EGF) e progesterona no desenvolvimento *in vitro* de folículos secundários bovinos

Effects of epidermal growth factor (EGF) and progesterone on in vitro development of bovine secondary follicles

**Lais Raiane Feitosa Melo Paulino^{1,*}, Bianca Régia Silva¹, Francisco Taiã Gomes Bezerra¹,
Pedro Alves Barroso², Anderson Weiny Barbalho Silva³, Ana Liza Paz Souza³,
José Roberto Viana Silva³**

¹Discente do Programa de Pós graduação em Biotecnologia - RENORBIO; Docente do curso de Pós graduação de Biotecnologia-UFC; ²Laboratório de Biotecnologia e Fisiologia Reprodutiva-LABIREP- Núcleo de Biotecnologia de Sobral – NUBIS, Universidade Federal do Ceará, Sobral, CE, Brasil; ³ Docente do Programa de Pós-graduação em Biotecnologia (PPGB), Laboratório de Biotecnologia e Fisiologia Reprodutiva-LABIREP- Núcleo de Biotecnologia de Sobral – NUBIS, Universidade Federal do Ceará, Sobral, CE, Brasil.

*E-mail: lais_melo2@hotmail.com

O desenvolvimento *in vitro* de folículos secundários bovinos até a fase antral poderá fornecer informações sobre as exigências foliculares durante o crescimento *in vitro*, bem como viabilizar o uso de oócitos de folículos precoces em técnicas de reprodução. Diante disso, é necessário melhorar os sistemas de cultivo, adicionando novos fatores de crescimento e hormônios para otimizar o desenvolvimento *in vitro* de folículos secundários bovinos. Entre essas substâncias, destacam-se o EGF e a Progesterona por possuem um papel importante na foliculogênese ovariana, regulando vários processos, como proliferação de células da granulosa e atresia em várias espécies. O objetivo deste estudo foi investigar os efeitos da interação entre EGF e progesterona no desenvolvimento e sobrevivência de folículos secundários no cultivo *in vitro* por 18 dias. Folículos secundários (~ 0,2 mm) foram isolados do córtex ovariano e individualmente cultivados a 38,5 ° C, com 5% de CO₂, por 18 dias, somente em TCM-199 (controle cultivado) ou suplementados com 10 ng / ml de progesterona, 10 ng / ml de EGF ou ambos EGF e progesterona. Os efeitos desses tratamentos no crescimento, sobrevivência folicular, formação de antro e viabilidade foram avaliados. Os resultados mostraram que houve um aumento progressivo no diâmetro folicular em todos os tratamentos, mas apenas os folículos cultivados em meio suplementado com EGF apresentaram diâmetros significativamente maiores que aqueles cultivados no controle ao final do período de cultivo. Uma interação positiva entre EGF e progesterona não foi observada. Além disso, a presença de EGF, progesterona ou ambos no meio de cultivo não influenciaram na taxa de sobrevivência e formação de antro dos folículos. Em conclusão, o EGF promove o desenvolvimento de folículos secundários cultivados *in vitro* por 18 dias, mas nem a progesterona nem o EGF e a progesterona tiveram um efeito positivo no crescimento folicular.

Palavras-chave: folículos secundários, cultivo *in vitro*, bovino.

Keywords: *secondary follicles, cultivate in vitro, bovine.*

Suplementação de meio de cultura com soro nocaute substituinte (KSR) melhora a viabilidade de folículos secundários bovinos cultivados *in vitro*

*Supplementation of culture medium with knockout serum replacement (KSR) improves the viability of *in vitro* cultured bovine secondary follicles*

Laryssa Gondim Barrozo^{1,*}, Venancia Antônia Nunes Azevedo¹, Dandara da Silva Gomes¹, Miguel Fernandes de Lima Neto¹, Lais Rayane Feitosa Melo Paulino¹, Bianca Régia da Silva¹, Ana Liza Paz Sousa Batista², Jose Roberto Viana Silva²

¹Laboratório de Biotecnologia e Fisiologia Reprodutiva – LABIREP - Núcleo de Biotecnologia de Sobral - NUBIS, Universidade Federal do Ceará, Sobral, CE, Brasil; ²Programa de pós- graduação em Biotecnologia (PPGB), Laboratório de Biotecnologia e Fisiologia Reprodutiva – LABIREP - Núcleo de Biotecnologia de Sobral - NUBIS, Universidade Federal do Ceará, Sobral, CE, Brasil.

*E-mail: laryssa_barroso2014@hotmail.com

A suplementação dos meios de cultivos de folículos pré-antrais é de grande importância para aumentar as taxas de viabilidade e crescimento folicular. Dentre os suplementos mais utilizados estão a albumina sérica bovina (BSA) que tem como função transportar uma ampla variedade de moléculas endógenas, exógenas e auxilia no transporte de substâncias com propriedades farmacológicas. O soro fetal bovino (SFB) é também comumente utilizado como suplemento devido melhorar a proliferação, o metabolismo e a diferenciação celular *in vitro*. No entanto, o SFB é um suplemento cujos constituintes não são definidos, o que dificulta a padronização dos meios de cultivo. Já o soro nocaute substituinte (KSR) possui o diferencial de ter uma formulação definida e apresentar inúmeros efeitos positivos para as células cultivadas *in vitro* e contem substâncias essenciais como albumina rica em lipídios, transferrina, insulina, aminoácidos, vitaminas e antioxidantes. Assim, esse trabalho teve como objetivos avaliar os efeitos de diferentes concentrações de BSA, SFB e KSR na viabilidade e crescimento de folículos secundários bovinos cultivados *in vitro* por 12 dias. Para tanto, folículos secundários (150 – 200 µm) foram isolados e cultivados *in vitro* em meio TCM-199+ suplementado com ITS (1,0 µg / ml, insulina, 0,55 µg / ml de transferrina e 0,5 ng / ml de selênio), 5 µl / mL de ácido ascórbico, 3 mM de glutamina, 2 mM de hipoxantina, 10 µl / mL de penicilina, 10 µl / mL de estreptomicina e, ainda, com KSR (5% e 10%), SFB (5% e 10%) ou BSA (3 mg / mL) a 38,5 °C em uma atmosfera com 5% de CO². Foram realizadas trocas parciais de 60 µl de meio a cada dois dias e os diâmetros foliculares foram avaliados nos dias 0, 4, 8 e 12. Após 12 dias de cultivo, a análise de viabilidade foi realizada usando calceína-AM e homodímero de etídio. Antes e após o cultivo, os folículos foram fixados em paraformaldeído para avaliação histológica. Os resultados mostraram que a presença de KSR, BSA e SFB promoveram o crescimento folicular após 12 dias de cultivo, porém, sem diferença significativa entre os tratamentos (p<0,05). Ainda, foi possível observar que, os folículos cultivados na concentração de 5% de KSR apresentaram maiores taxas de viabilidade quando comparados aos demais tratamentos enquanto que os folículos cultivados em meio com 5% de SFB apresentaram a menor taxa de viabilidade entre os tratamentos analisados (p<0,05). A análise histológica mostrou que, entre os tratamentos testados, os folículos cultivados na presença de 5% de KSR tinham oócitos esféricos preservados, células da granulosa justapostas e membrana basal intacta; os folículos cultivados nos demais tratamentos apresentaram danos como ruptura na membrana basal, retração folicular, células da granulosa desorganizadas, além de ausência ou degeneração oocitária. Em conclusão, a suplementação de meio de cultivo com 5% de KSR promove o aumento do diâmetro, da viabilidade e melhora a histologia de folículos secundários bovinos cultivados *in vitro*.

Palavras-chave: cultivo *in vitro*, folículos secundários, vaca.

Keywords: *in vitro* culture, secondary follicles, cow.

Aplicação de PGF2 α no momento da inseminação artificial em tempo fixo em vacas mestiças de corte

Application of PGF2 α at the moment of artificial insemination at time fixed in crossbred beef cows

**Jéssica Cristina dos Santos Marques^{1,*}, Bethânia Gonçalves Queiroz¹, Kele Amaral Alves²,
Benner Geraldo Alves³, Ricarda Maria dos Santos⁴**

¹Graduanda de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG, Brasil; ²Pós-doutoranda do Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG, Brasil; ³Professor Visitante da Universidade Federal de Goiás, Jataí, GO, Brasil;

⁴Professora do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG, Brasil;

*E-mail: bethaniaqueiroz95@hotmail.com

A inseminação artificial em tempo fixo (IATF) é e uma biotecnologia da reprodução que compreende a sincronização dos ciclos estrais com tratamentos hormonais e têm como objetivo predizer o momento da ovulação das fêmeas possibilitando a inseminação artificial (IA) sem a detecção do estro. Com a finalidade de elevar a taxa de concepção dos rebanhos bovinos propõe-se a aplicação de GnRH ou PGF2 α no momento da IATF. Atualmente, já está evidenciado o aumento da taxa de concepção pela aplicação de PGF2 α no momento da IATF em vacas tratadas com protocolos a base de PGF2 α e GnRH, entretanto ainda não há relatos conclusivos que haja aumento desta taxa em vacas de corte submetidas a protocolo a base de progesterona (P4) e benzoato de estradiol (BE). Neste trabalho foram selecionadas 326 fêmeas bovinas para serem submetidas ao protocolo de IATF. As vacas foram separadas em 2 grupos, sendo: Grupo 1 - controle (n=163), que no dia da IATF recebeu uma aplicação de 2 mL de solução placebo e o Grupo 2 – PGF (n=163): que foi tratado com 10 mg (2 mL) de Dinoprost Trometamina no dia da IATF. A taxa de concepção foi semelhante ($P > 0,05$) os grupos tratados (63,1%) e não tratados com PGF2 α (61,30%) no momento da IATF. As variáveis touro e tipo do dispositivo intravaginal de progesterona não influenciaram na taxa de concepção ($P > 0,05$). Nas categorias novilhas (78,8%) e pluríparas (65,9%) foram encontradas as maiores taxas de concepção ($P < 0,05$) quando comparado as primíparas (47,7%). Além disso, animais de maior escore apresentaram as melhores taxas de concepção ($P < 0,05$), ou seja, animais classificados com ECC valor 3,0 (100%) obtiveram melhores resultados, seguidos por ECC 2,75 (81,1%) e ECC 2,5 (36,0%). Conclui-se que a aplicação de PGF2 α no dia da inseminação artificial no protocolo de IATF não resulta em maior taxa de concepção, porém observa-se a influência do escore de condição corporal e categoria animal sobre a taxa de concepção.

Palavras-chave: eficiência reprodutiva, ovulação, prostaglandina, vaca de corte.

Keywords: *beef cow, ovulation, prostaglandin, reproductive efficiency.*



Efeitos da melatonina no desenvolvimento de folículos primordiais durante o cultivo *in vitro* de tecido ovariano bovino

Effects of melatonin on development of primordial follicles during in vitro culture of bovine ovarian tissue

Danisvânia Ripardo Nascimento^{1,*}, Laís Raiane Feitoza Melo Paulino¹, Bianca Régia Silva¹, Bárbara Nunes Cavalcante¹, Ernando Igo Teixeira de Assis¹, Anderson Weiny Barbalho Silva², Ana Liza Paz Sousa Batista², José Roberto Viana Silva²

¹Laboratório de Biotecnologia e Fisiologia Reprodutiva-LABIREP- Núcleo de Biotecnologia de Sobral – NUBIS, Universidade Federal do Ceará, Sobral, CE, Brasil; ²Programa de Pós-graduação em Biotecnologia (PPGB), Laboratório de Biotecnologia e Fisiologia Reprodutiva-LABIREP- Núcleo de Biotecnologia de Sobral – NUBIS, Universidade Federal do Ceará, Sobral, CE, Brasil.

*E-mail: danisvania.ripardo@hotmail.com

A melatonina é um hormônio produzido pela glândula Pineal e que possui dois tipos de receptores distintos (melatonina 1A (MT1) e 1B (MT2)), além de possuir livre passagem por todas as membranas celulares, tal hormônio possui capacidade antioxidante que é capaz de reduzir os níveis de Ros (espécies reativas ao oxigênio) *in vitro*. Devido ao estresse oxidativo durante a cultura dos tecidos corticais ovarianos e dos folículos pré-antrais ocorre a peroxidação lipídica de membranas e danos ao DNA no oócito, tornando a suplementação do meio com substâncias antioxidantes de extrema importância. A melatonina é um excelente antioxidante com uma forte ação contra os radicais livres, o que contribui para o desenvolvimento de oócitos e embriões de bovinos e humanos. Este estudo tem como objetivo investigar o efeito de diferentes concentrações de melatonina na sobrevivência, ativação e crescimento de folículos primordiais inclusos em tecido ovariano bovino cultivado *in vitro* por seis dias. Fragmentos ovarianos foram cultivados em meio de controle (α -MEM^T) sozinho ou suplementados com diferentes concentrações de melatonina (250, 500, 1000 e 2000 pM). Os tecidos não cultivados (controle fresco) e cultivados foram processados para análise histológica para avaliação dos efeitos da melatonina na morfologia dos folículos ovarianos bovinos. De acordo com os estágios de desenvolvimento, os folículos foram classificados como folículos primordiais (uma camada de células de granulosa achatadas ou achatadas e cubóides ao redor do oócito) ou em desenvolvimento (primário: uma camada de células de granulosa cubóide e secundária: duas ou mais camadas de células granulosas de cubóide ao redor do oócito). Além disso, os folículos foram classificados como morfológicamente normais ou degenerados. Em geral, cerca de 100-160 folículos foram avaliados em cada tratamento. As porcentagens de folículos primordiais e em desenvolvimento, bem como de folículos normais ou degenerados, foram comparadas pelo teste exato de Fisher (GraphPad PR). As diferenças foram consideradas significativas quando $P < 0,05$. Os resultados mostraram que o cultivo de tecido ovariano em meio suplementado com 1000 pM e 2000 pM melatonina promove uma redução na porcentagem de folículos primordiais e um aumento na porcentagem de folículos de desenvolvimento, quando comparados aos folículos cultivados em meio de controle. Por outro lado, a presença de 250 ou 500 pM melatonina no meio de cultivo não mostrou um efeito significativo sobre a porcentagem de folículos primordiais e em desenvolvimento. A presença de 500, 1000 e 2000 pM de melatonina no meio de cultivo mantém o percentual de folículos morfológicamente normais semelhantes ao grupo controle e controle fresco. Além disso, o tecido ovariano cultivado na presença de 1000 pM melatonina mostrou uma maior porcentagem de folículos morfológicamente normais quando comparados aos folículos cultivados na presença de 250 pM melatonina. Em conclusão, a melatonina (1000 e 2000 pM) promove a ativação dos folículos primordiais bovinos e mantém a morfologia folicular durante o cultivo *in vitro* do tecido cortical ovariano.

Palavras-chave: antioxidante, melatonina, desenvolvimento folicular, viabilidade.

Keywords: *antioxidant, melatonin, follicular development, viability.*



Efeito da somatotrofina recombinante bovina (rbST) na taxa de concepção em fêmeas bovinas submetidas à IATF

Effect of bovine recombinant somatotropin (rbST) on bovine female conception rate submitted to IATF

Rafael Artur da Silva Júnior^{1,*}, Antônio Santana dos Santos Filho², Lorivaldo Rodrigues da Silva³, Carlos Andre Barbosa de Oliveira Filho², Wasim Al Shebli³, Antonio Jorge Del Rei Moura⁴, Caio Tarcito Gomes Álvares⁵, Mayumi Santos Botelho Ono¹, Cláudio Coutinho Bartolomeu¹

¹Departamento de Medicina Veterinária-UFRPE, Recife, PE, Brasil; ²Estação Experimental de Arcoverde – IPA, Arcoverde, PE, Brasil; ³Médico Veterinário autônomo; ⁴Departamento de Tecnologia Rural e Animal - UESB, Itapetinga, BA, Brasil; ⁵Departamento de Ciências Agrárias e Ambientais - UESC, Ilheus, BA, Brasil.

*E-mail: artur_rjs@hotmail.com

Vários fármacos têm sido associados a protocolos de inseminação artificial, dentre estes, podemos destacar o hormônio somatotropina recombinante bovina (rbST) tem se destacado em particular na produção de gado leiteiro. Objetivou-se avaliar a taxa de concepção de vacas submetidas a IATF utilizando rbST no protocolo de sincronização. Foram selecionadas 502 fêmeas bovinas mestiças da raça Gir e Holandesas, com ECC entre 2,5 e 3,5 e condição reprodutiva favorável, divididas em dois grupos, o grupo rbST (n=360) e o grupo controle (n=142). O estro foi sincronizado em ambos os grupos utilizando o seguinte protocolo: no dia 0 (D0) os animais receberam um dispositivo intravaginal de progesterona (PRIMER®) e 2mg de benzoato de estradiol (RIC-BE®) via intramuscular, após oito dias (D8) o dispositivo intravaginal foi retirado e foi aplicado 1mg de Cipionato de Estradiol (FertilCare ovulation®) mais 0,15mg de Cloprostenol (PROLISE®) via intramuscular, após 48 horas da retirada do dispositivo (D10) foi realizada a Inseminação artificial. O grupo rbST recebeu duas doses com 500mg de somatotropina recombinante bovina (Boostin®) por via intramuscular no D0 e D8 do protocolo de sincronização. O diagnóstico de gestação foi realizado por meio de ultrassonografia 30 dias após a IATF. A análise estatística foi realizada utilizando o teste Qui-quadrado, com nível de significância de 5% utilizando o Microsoft Excel®. A taxa de gestação geral foi de 23,3% (61/239), sendo 43,66% (117/502) no grupo controle e de 15,27% (55/360) no grupo rbST. Foi observado diferença significativa ($p < 0,05$) na taxa de concepção entre os grupos, evidenciando o efeito negativo da utilização de 500mg de rbST nos protocolos IATF. Os dados obtidos nesta pesquisa são análogos aos observados na literatura onde administrações de 125mg e 250mg de rbST na sincronização do estro gerou taxa de concepção numericamente menor que os animais que não receberam o produto. Vários autores relatam o efeito benéfico da utilização de somatotropina recombinante bovina em vacas receptoras de embriões e em protocolos sincronização. Se faz necessário um aprofundamento das doses de rbST utilizadas nos protocolos de IATF para confirmar seu efeito, podendo a quantidade utilizada neste experimento ter sido fundamental para os baixos resultados de concepção. Com base nas condições em que foi realizado, conclui-se que a utilização de 500mg de rbST no D0 e D8 do protocolo de sincronização de estro e inseminação artificial não promove o aumento da taxa de concepção de fêmeas bovinas.

Palavras-chave: inseminação, prenhez, sincronização de estro.

Keywords: *insemination, pregnancy, estrus synchronization.*

Lipoperoxidação da membrana espermática e níveis de Glutathiona reduzida em sêmen criopreservado de touros suplementado com ácido oleico

Lipoperoxidation of sperm membrane and reduced levels of glutathione in cryopreserved semen of bulls supplemented with oleic acid

Marlon de Araújo Castelo Branco^{1,*}, Yndyra Nayan Teixeira Carvalho Castelo Branco², Jefferson Hallysson Lustosa da Silva³, Filipe Nunes Barros³, Leopoldina Almeida Gomes⁴, Isolda Márcia Rocha do Nascimento⁵, Antônio de Sousa Júnior⁵, Felipe de Jesus Moraes Júnior⁶, José Adalmir Torres de Souza⁷

¹Professor da Faculdade Maurício de Nassau, Teresina, PI, Brasil; ²Professora do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Sergipe, Nossa Senhora da Glória, SE, Brasil; ³Alunos de Pós-Graduação em Ciência Animal, Teresina, PI, Brasil; ⁴Professora do curso de zootecnia, Instituto Múltiplo de Ensino Superior, Timon, MA, Brasil; ⁵Professores do Colégio Técnico de Teresina, Teresina, PI, Brasil; ⁶Professor do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, MA, Brasil; ⁷Professor do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Piauí, Teresina, PI, Brasil.

*E-mail: marlon704@gmail.com

Em bovinos o principal constituinte espermático afetado pelo processo de criopreservação é a membrana plasmática, sobretudo devido à alteração na composição lipídica, com perda de fosfolípidios totais, podendo ser atribuída essa perda a reações de peroxidação lipídica induzida por substâncias reativas de oxigênio (ROS). A suplementação de ácido oleico ao meio diluidor para criopreservação do sêmen de touros tem demonstrado aumento na viabilidade, integridade da membrana plasmática e na capacidade antioxidante total de espermatozoides. Objetivou-se avaliar a atividade antioxidante do ácido oleico na criopreservação do sêmen de touros. Foram utilizados vinte ejaculados de quatro bovinos Curraleiro Pé-Duro, obtidos a partir de eletroejaculação, os quais foram diluídos em Tris-Gema, pré-estabelecendo três diferentes concentrações: Controle (0 μM) e ácido oleico (50 μM e 100 μM), adicionadas ao diluidor Tris-Gema. Posteriormente as amostras foram envasadas em palhetas de 0.25 mL e criopreservadas em máquina TK 3000®. Após descongelação a 37°C as amostras foram analisadas quanto a quantificação da lipoperoxidação da membrana espermática, pela detecção de malonaldeído (MDA), e quantificação da glutathiona reduzida (GSH). Os dados foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA), seguida por Tukey como teste post hoc, na probabilidade de 5%. As análises foram realizadas utilizando o software GraphPad Prism 6.01 (GraphPad Software, USA, 2012). Os resultados demonstraram uma redução (0,7 $\mu\text{M}/\text{ml}$ de MDA) nas concentrações de MDA quando os espermatozoides foram criopreservados em meio suplementado com ácido oleico na concentração de 50 μM quando comparado ao grupo controle (1,3 $\mu\text{M}/\text{ml}$ de MDA) e ao tratamento oleico 100 μM (1,2 $\mu\text{M}/\text{ml}$ de MDA) ($P < 0,05$). A atividade da enzima Glutathiona reduzida (GSH) foi elevada (1,4 $\mu\text{M}/\text{ml}$ de GSH) quando os espermatozoides foram criopreservados em meio suplementado com ácido oleico na concentração de 100 μM , quando comparados ao controle (0,3 $\mu\text{M}/\text{ml}$ de GSH) e ao tratamento oleico 50 μM (0,4 $\mu\text{M}/\text{ml}$ de GSH) ($P < 0,05$). Os resultados desse experimento, mostraram que a suplementação do meio diluidor com 100 μM de ácido oleico foi capaz de aumentar proporcionalmente tanto os níveis de MDA quanto da atividade de GSH, assim, o aumento na peroxidação lipídica, pode ser compensado pela ação dos antioxidantes. Em conclusão, a suplementação de 50 μM de ácido oleico ao diluidor TRIS-Gema, reduz os níveis de MDA e a concentração de 100 μM de ácido oleico aumenta os níveis de GSH.

Palavras-chave: bovinos, glutathiona reduzida, malonaldeído.

Keywords: bull, reduced glutathione, malonaldehyde.

Integridade das membranas de espermatozoides criopreservados na presença do ácido oleico

Integrity of membranes of cryopreserved spermatozoa in the presence of oleic acid

Marlon de Araújo Castelo Branco^{1,*}, Yndyra Nayan Teixeira Carvalho Castelo Branco², Jefferson Hallysson Lustosa da Silva³, Filipe Nunes Barros³, Leopoldina Almeida Gomes⁴, Isolda Márcia Rocha do Nascimento⁵, Antônio de Sousa Júnior⁵, Felipe de Jesus Moraes Júnior⁶, José Adalmir Torres de Souza⁷

¹Professor da Faculdade Maurício de Nassau, Teresina, PI, Brasil; ²Professora do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Sergipe, Nossa Senhora da Glória, SE, Brasil; ³Alunos de Pós-Graduação em Ciência Animal, Teresina, PI, Brasil; ⁴Professora do curso de zootecnia, Instituto Múltiplo de Ensino Superior, Timon, MA, Brasil; ⁵Professores do Colégio Técnico de Teresina, Teresina, PI, Brasil; ⁶Professor do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, MA, Brasil; ⁷Professor do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Piauí, Teresina, PI, Brasil;

*E-mail: marlon704@gmail.com

Em bovinos o principal constituinte espermático afetado pelo processo de criopreservação é a membrana plasmática, sobretudo devido à alteração na composição lipídica, com perda de fosfolípidios totais, podendo ser atribuída essa perda a reações de peroxidação lipídica induzida por substâncias reativas de oxigênio (ROS). A membrana plasmática dos espermatozoides bovinos é rica em ácidos graxos, os quais tem a função de fornecer energia e regular proteínas plasmáticas, contudo, durante o congelamento e descongelamento esses ácidos graxos são reduzidos. Objetivou-se avaliar o efeito do ácido oleico na criopreservação do sêmen de touros. Foram utilizados vinte ejaculados de quatro bovinos Curraleiro Pé-Duro, obtidos a partir de eletroejaculação, os quais foram diluídos em Tris-Gema, pré-estabelecendo três diferentes concentrações: Controle (0 μM) e ácido oleico (50 μM e 100 μM), adicionadas ao diluidor Tris-Gema. Posteriormente as amostras foram envasadas em palhetas de 0.25 mL e criopreservadas em maquina TK 3000®. Após descongelação a 37°C as amostras foram analisadas quanto a quantificação a integridade da membrana plasmática, utilizando o corante DCF/IP e Integridade do acrossoma, utilizando o corante FITC-PNA. Os dados foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA), seguida por Tukey como teste post hoc, na probabilidade de 5%. As análises foram realizadas utilizando o software GraphPad Prism 6.01 (GraphPad Software, USA, 2012). Os resultados demonstraram que a adição de diferentes concentrações de ácido oleico (50 μM e 100 μM) não incrementou o percentual de células com membranas plasmática e acrossomal intactas e não estabilizou as membranas quando os tratamentos foram comparados ao grupo controle. O não incremento do percentual de células espermáticas com membranas plasmática e acrossomal intactas pode ser explicado pela falta de incorporação eficaz de ácido palmítico e ácido oleico na membrana do espermatozoide. Os ácidos graxos, podem ser transportados através da membrana plasmática, uma vez que eles atravessam a membrana externa e ao entrar no núcleo hidrofóbico, são protonados, permitindo-lhes a partição no folheto interno. Outra explicação pode ser uma redução na quantidade de ácidos graxos saturados ou absorvido passivamente ligado à membrana plasmática, o que aumenta a proporção de ácidos graxos poli-insaturados. Em conclusão, a suplementação de diferentes concentrações de ácido oleico (50 μM e 100 μM) não influencia na integridade da membrana plasmática e integridade acrossomal de espermatozoides bovinos.

Palavras-chave: bovinos, ácido oleico, espermatozoides, integridade de membrana plasmática e acrossomal.

Keywords: bovine, oleic acid, spermatozoa, plasma and acrosomal membrane integrity.



Efeito da progesterona pós inseminação artificial em tempo fixo sobre a taxa de prenhez em vacas Girolandas

Effect of progesterone post-fixed artificial insemination on the pregnancy rate in Giroland cows

**Marana Poncion Portela Guimarães^{1,*}, Leopoldina Almeida Gomes²,
Luiz Harliton Cavalcante Monteiro Mota³, Felipe Pereira da Silva Barçante²,
Jefferson Hallisson Lustosa da Silva³, Isolda Márcia Rocha do Nascimento⁴,
Marcílio Nilton Lopes da Frota⁵, Marlon de Araújo Castelo Branco⁶,
Yndyra Nayan Teixeira Carvalho Castelo Branco⁷, Raniel Lustosa de Moura²,
Micherlene da Silva Carneiro Lustosa², José Dantas e Silva Neto¹**

¹Graduado em Zootecnia, Instituto de Ensino Superior Múltiplo, MA, Brasil; ²Professores do Curso de Zootecnia, Instituto de Ensino Superior Múltiplo, MA, Brasil; ³Pós-graduandos em Ciência Animal, Universidade Federal do Piauí, PI, Brasil; ⁴Professora em Agropecuária, Colégio Técnico de Teresina, UFPI, PI, Brasil; ⁵Analista, Embrapa Meio Norte, PI, Brasil; ⁶Professor no Curso de Enfermagem, Faculdade Mauricio de Nassau, PI, Brasil; ⁷Professora, Núcleo de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Sergipe, SE, Brasil;

*E-mail: marana_poncion@hotmail.com

Os programas de inseminação artificial em tempo fixo têm como uma de suas grandes vantagens proporcionarem o aumento da taxa de serviço e produtividade do rebanho. Para que ocorra sucesso no estabelecimento de uma gestação é necessário que o embrião se desenvolva corretamente. Nesse contexto, um dos principais hormônios envolvidos no controle da manutenção da gestação é a progesterona (P4), que estimula tanto o crescimento do embrião quanto as secreções endometriais, benéficas para o desenvolvimento embrionário. Objetivou-se verificar o efeito da progesterona (P4) exógena administrada no 4º dia pós IATF sobre a taxa de prenhez em vacas Girolandas. Realizado entre setembro de 2017 a maio de 2018, utilizando 200 vacas, peso médio de 400 Kg, e idade entre 4 a 6 anos, submetidas à avaliação da condição corporal (CC). Divididas em quatro grupos: G1 (n=50) foram suplementadas com sal mineral, G2(n=50) receberam sal mineral e aplicação de P4 pós IATF, G3(n=50) receberam sal mineral e concentrado e no G4 (n=50) sal mineral e concentrado com aplicação de P4 após inseminação artificial em tempo fixo. Para o protocolo aplicou-se implante intravaginal no D0 contendo 700g de progesterona e 2mg de Benzoato de estradiol. No D7 150mg de prostaglandina e no D9 foram retirados os implantes e aplicado 400UI de gonadotrofina coriônica equina e 0,5mL de cipionato de estradiol, IM. No D11 foram inseminadas 48h após a retirada dos implantes, utilizando amostras de sêmen congelado e no D15 as fêmeas dos grupos 2 e 4 receberam 1mL de progesterona injetável. Ultrassonografia para avaliação da taxa de prenhez no 40º dia pós IATF. Quando se comparou a utilização de P4 injetável 4 dias pós IATF em vacas lactantes suplementados apenas com sal mineral, observou-se que não houve diferença significativa entre o grupo controle (46 % -23/50) e o tratamento-P4 (50 %-25/50). A suplementação com P4 de longa ação não alterou a fertilidade nas vacas lactantes que receberam apenas sal mineral. Atribui-se este resultado pela maioria dos animais encontrar-se em status reprodutivo favorável, pela presença de corpos lúteos em quantidades e tamanhos favoráveis. Entretanto quando comparado com o G4, suplementadas com sal mineral e concentrado e P4 (56 % - (28/50) observou-se aumento da taxa de prenhez. Tal aumento foi atribuído aos efeitos embriotróficos do hormônio, especialmente em vacas com baixas concentrações no momento da suplementação. A administração de P4 de longa ação no quarto dia após a IATF aumenta a fertilidade em vacas Girolandas, quando suplementadas com sal mineral e concentrado, apresentando melhoria nas taxas de prenhez.

Palavras-chave: progesterona, inseminação, vacas, suplementação.

Keywords: progesterone, insemination, cows, supplementation.



Maturação oocitária e desenvolvimento embrionário após a inibição meiótica de oócitos bovinos com Butirolactona I

Oocyte maturation and embryonic development after meiotic inhibition of bovine oocytes with Butyrolactone I

**Ana Carolina Leite^{1,*}, Eliane Beatriz Magalhães Silva², Teresa Rodrigues Passos³,
Luiz Sérgio de Almeida Camargo⁴, Alan Maia Borges⁵**

¹Aluno de Doutorado EV/UFMG; ²Técnica de Laboratório –EV/UFMG; ³Aluna de Graduação do curso de Medicina Veterinária – EV/UFMG; ⁴Pesquisador da EMBRAPA-CNPGL; ⁵Prof. EV/UFMG, Belo Horizonte, MG, Brasil.

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

A qualidade do oócito bovino e a capacidade dos sistemas de maturação *in vitro* de mimetizar os eventos fisiológicos são um dos fatores determinantes da eficiência da produção de embriões *ex-vivo* e da sobrevivência pós-transferência. O objetivo desse trabalho foi avaliar a eficiência da Butirolactona-I (BUT-I), inibidor da maturação espontânea *in vitro*, em promover o bloqueio reversível da meiose, possibilitando mais tempo para os oócitos acumularem moléculas importantes para o desenvolvimento embrionário inicial, melhorando potencialmente a eficiência de produção *in vitro* de embriões. Oócitos bovinos imaturos, imediatamente após a aspiração de folículos ovarianos, foram mantidos em estágio de vesícula germinativa (VG) por 12 horas pela adição de 10 μ M, 25 μ M, 50 μ M e 100 μ M, respectivamente, de BUT-I ao meio de maturação (tratamentos BUT 10 μ M, BUT 25 μ M, BUT 50 μ M e BUT 100 μ M). Em seguida os oócitos foram submetidos à maturação por 24 horas em condições convencionais. Foi avaliada a maturação nuclear e citoplasmática dos oócitos após o período de inibição da meiose, bem como o número de embriões clivados e total de blastocistos produzidos a partir destes oócitos submetidos à pré-maturação com BUT-I comparado ao grupo Controle que não foi submetido ao controle previamente à maturação. Variáveis normais foram submetidas à ANOVA, utilizando-se nível de significância de 5%, seguido de análise de contingência por meio dos testes de Exato de Fisher para as variáveis relacionadas à maturação oocitária e Qui-quadrado para os parâmetros relacionados à produção *in vitro* de embriões. Na avaliação da maturação nuclear todas as concentrações de BUT-I avaliadas foram eficientes em manter os oócitos em prófase I durante as 12 horas de pré-maturação. Na maturação citoplasmática apenas os tratamentos BUT 10 μ M e BUT 50 μ M conseguiram manter um baixo percentual de oócitos com distribuição heterogênea de mitocôndrias, conforme esperado para oócitos imaturos. A clivagem embrionária no tratamento BUT 50 μ M (92,5%) foi superior às demais concentrações de BUT-I (p<0,05; BUT 10 μ M 60,63%, BUT 25 μ M 31,29%, BUT 100 μ M 64,15%) e semelhante ao Controle (p>0,05; 92,39%). A produção de embriões em relação aos clivados foi superior nos tratamentos BUT 10 μ M e BUT 50 μ M (p<0,05; 58,76% e 58,11% respectivamente) em relação às demais concentrações de BUT-I e inferior ao Controle (p<0,05; 70,59%). No parâmetro produção de embriões em relação ao total de oócitos o grupo Controle apresentou a maior taxa de produção de embrião (p<0,05; 62,62%), seguido pelo tratamento BUT 50 μ M que produziu mais embriões do que os outros tratamentos avaliados (p<0,05; 50,53%). Apesar do encurtamento da maturação que comumente ocorre nos sistemas de produção *in vitro* potencialmente derivar em danos estruturais aos oócitos, a inibição da maturação pela BUT-I na concentração de 50 μ M não conseguiu incrementar a produção de embriões, resultando em taxas de blastocistos semelhante aos oócitos não controlados. As demais concentrações de BUT-I apesar de terem sido eficientes em promover o bloqueio da maturação nuclear apresentaram menores taxas de produção de embrião.

Palavras-chave: maturação *in vitro*, Butirolactona I, bloqueio da meiose, oócito bovino, desenvolvimento embrionário.

Key-words: *in vitro* maturation, Butyrolactone I, inhibition of meiosis, bovine oocyte, embryo development.

Uso da IATF em bloco aliado ao protocolo de indução de ciclicidade em duas estações de monta de 32 dias avaliando a taxa de reconcepção de primíparas da raça Nelore

Use of the IATF in block together with the protocol of induction of cyclicity in two stations of mount of 32 days evaluating the rate of reconception of primiparous of the nellore breed

Matheus Martins Pereira^{1,*}, Faider Alberto Castano Villadiego³, Lauany Santos Almeida³, Vanderlei Toledo Rosa¹

¹Graduandos de Medicina Veterinária, União de Ensino Superior de Viçosa, Viçosa, MG, Brasil; ²Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, Brasil; ³Graduanda de Medicina Veterinária, Universidade Vila Velha, Vila Velha, ES, Brasil.

*E-mail: matheus.mp@live.com

O experimento foi realizado no Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, durante a estação de monta objetivou avaliar a taxa de reconcepção de primíparas submetidas a protocolo de indução de ciclicidade. Foi realizado protocolo de sincronização de 50 animais com aproximadamente 25 meses de idade, mantidas em condições de manejo a pasto. Em 2017 foi feito protocolo de indução de ciclicidade onde no D0 receberam implante intravaginal de progesterona (p4) e 2 mg de benzoato de estradiol (BE), no D9 removeu-se o implante, aplicou-se 1 mg de BE, e após 12 dias receberam protocolo de IATF, onde no D0 colocou-se implante de 1g de p4, 2 mg de BE, no D8 0,15 mg de prostaglandina (PGF2 α), 300 UI de gonadotrofina coriônica equina (eCG), no D10 aplicação de 1 mg de BE e no D11 animais que possuíam folículos acima de 11 mm receberam 0,05 mg de GnRH, acima de 15 mm a Inseminação Artificial (IA) foi realizada 48 após o D8, folículo de 10 a 14,9 mm 56 horas após o D8, de 8 a 9,9 mm 72 horas após o D8 e animais abaixo de 7,9 não foram inseminados. Em 2018 o protocolo de indução de ciclicidade foi igual ao feito em 2017, porém as que possuíam folículos acima de 14 mm a IA foi realizada 48 após o D9, de 11 a 13,9 mm 56 horas após D9, de 8 a 10,9 mm 72 horas após o D9, abaixo de 7,9 não foram inseminados. Por ultrassonografia (US) avaliou-se o diâmetro de folículo pré-ovulatório (DFPO) sendo maiores que 15 mm preconizou-se a IA 48 horas após o D8, entre 10 a 14,9 mm 56 horas após o D8, entre 8 e 9,9 mm 72 horas após o D8, abaixo de 7,9 mm não foi realizado IA. Após 22 dias da primeira IA foi feita ressincronização, os animais com DFPO maiores que 14 mm foram inseminados 48 horas após o D9, entre 11 a 13,9 mm 56 horas após o D9, entre 8 e 10,9 mm 72 horas após o D9, abaixo de 7,9 mm não foi realizado IA. Animais cíclicos receberam aplicação de 2 mg de PGF2 α , animais acíclicos no D0 receberam o implante de 3^o uso, 2 mg de BE a fim de induzir a ciclicidade, no D9 foi retirado o implante e aplicado 1 mg de BE. Posteriormente, foi feito protocolo de sincronização de estro e ovulação. No D0 colocou-se o implante de p4 (1,0 g) aplicou-se de 2 mg de BE, no D9 removeu-se o implante, aplicou-se 0,15 mg de PGF2 α e 300 UI de eCG, no D10 aplicou 1 mg de BE e no D11, realizou-se US para avaliação do DFPO, e aplicação de 0,05 mg de Acetato de Gonadorelina nos animais que apresentarem DFPO acima de 11 mm. Nos animais com DFPO maiores que 14 mm foram inseminados 48 horas após o D9, entre 11 a 13,9 mm 56 horas após o D9, entre 8 e 10,9 mm 72 horas após o D9, abaixo de 7,9 mm não se fez IA. Em todos os animais foi colocado o implante intravaginal de p4 de 1g (2^o uso), 2 mg de BE, no D8 foi retirado o implante, nos animais com DG negativo foi aplicado 0,15 mg de PGF2 α no D9, 1 mg de BE e no D10 foi feito US avaliando DFPO, a IA foi feita de acordo com a metodologia mencionada anteriormente. Conclui-se que dos 50 animais avaliados no final da estação, de 28 animais, 20 apresentaram DG positivo, e em 2018 dos 22 animais avaliados 16 apresentavam DG positivo, viabilizando a técnica de indução de ciclicidade.

Palavras chave: folículo, sincronização, bovino.

Keywords. follicle, synchronization, bovine.

Qualidade oocitária de vacas holandesas submetidas à aspiração folicular no Oeste de Santa Catarina e Sudoeste do Paraná

Oocyte quality of Holstein cows from west of Santa Catarina and southwest of Parana herds subjected to OPU

Rafael Arcenio da Costa^{1,2,*}, Jorge Souza², Ione Castro² e Flavia Regina Oliveira de Barros¹

¹Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Câmpus Dois Vizinhos, PR, Brasil; ²Fertiliza Embryo Reprodução Animal, Chapecó, SC, Brasil.

*E-mail: rafaeldacostacenio@gmail.com

O intensivo trabalho de melhoramento genético da raça holandesa tem permitido modificar a interação de certos genes relacionados à produção leiteira resultando em animais com maior mérito genético. Percebe-se, nessa acepção, que a produção *in vitro* de embriões (PIV) potencializa a produção de progênies de animais com alto valor zootécnico, podendo chegar a um número superior de 100 bezerras de uma única fêmea. A fertilização *in vitro* pode, assim, antecipar pelo menos três gerações ou cerca de 10 anos de seleção. Diante da importância comercial da fertilização *in vitro*, entre os meses de Junho e Novembro de 2018, avaliou-se a morfologia de 2835 oócitos obtidos pela técnica OPU (*ovum pick-up*) de 160 vacas holandesas em lactação proveniente de grupo genético homogêneo, com idade de 2 a 5 anos e peso vivo médio de 570 kg, provenientes de 8 propriedades leiteiras situadas na região Oeste de Santa Catarina e Sudoeste do Paraná. Todos os dados foram colhidos como parte dos procedimentos da rotina de campo do laboratório de fertilização *in vitro* Fertiliza Embryo – Reprodução Animal (Chapecó-SC). Os animais submetidos à OPU apresentaram em média $3,63 \pm 0,04$ oócitos viáveis/ fêmea sendo obtidos $18,13 \pm 1,72$ oócitos/ fêmea (dados apresentados como média \pm erro padrão da média). A classificação de oócitos viáveis foi realizada através da observação de sua morfologia em Graus 1, 2 e 3 (camada do *cumulus* completa, parcial ou expandida, respectivamente). 79,97% dos oócitos recuperados apresentaram algum tipo de defeito em sua morfologia ($10,97 \pm 0,96$ oócitos degenerados, $0,64 \pm 0,12$ atrésicos, $2,99 \pm 0,98$ sem *cumulus*/desnudo/ fêmea) e houve uma notável diferença de resposta entre cada propriedade ($p \leq 0,0001$). Considerando os programas para a seleção de vacas holandesas nas últimas décadas, a produção de leite foi, sem dúvida, a característica mais utilizada. Entretanto, estudos atuais têm mostrado um grande declínio da eficiência reprodutiva dessas fêmeas que pode estar associado ao aumento dessa produção, decorrente de um maior desafio metabólico. A baixa eficiência reprodutiva nos plantéis atualmente foi evidente nesse estudo, no qual praticamente 80% dos oócitos aspirados apresentaram algum tipo de defeito morfológico. Embora os 160 animais aspirados e analisados nesse estudo tenham acompanhamento zootécnico próprio e as 8 propriedades adotem regime nutricional similar composto por silagem de milho, pré-secado, ração concentrada, farelo de soja e sal mineral forçado nas linhas de cocho, diferentes sistemas de ambiência e conforto animal são utilizados em cada uma das propriedades analisadas. Assim, estudos complementares são necessários para investigar a possível influência de diferentes variáveis (nutrição, manejo, sanidade, ambiência bem-estar) na produção de oócitos das vacas leiteiras com o intuito de melhorar o desempenho reprodutivo e produtivo desses animais.

Palavras-chave: Aspiração folicular, morfologia oocitária, eficiência reprodutiva.

Keywords: *Ovum pick-up*, *oocyte morphology*, *reproductive efficiency*.

Alcaloide pirrolizidínico proveniente do *Senecio brasiliensis* prejudica o desenvolvimento embrionário inicial em bovinos

Pyrrolizidine alkaloid from Senecio brasiliensis impairs early embryo development in cattle

Gislaine dos Santos¹, André Fontana Goetten^{1,2}, Alceu Mezzalana², Valério Marques Portela³ Marcos Henrique Barreta^{1,*}

¹Laboratório de Fisiologia da Reprodução Centro de Ciências Rurais Campus Curitibanos, Universidade Federal de Santa Catarina, Curitibanos, SC, Brasil; ²Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal Centro de Ciências Agroveterinárias, Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, SC, Brasil; ³Laboratório de Biotecnologia e Reprodução Animal - BioRep, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

*E-mail: marcos.barreta@ufsc.br

O *Senecio brasiliensis* é uma planta altamente resistente e está difundida por toda a América do Sul, sendo uma das principais causas de morte entre bovinos na região sul do Brasil. Nesta região a maioria dos bovinos são criados em sistemas extensivos, o que facilita a ingestão da planta pelos animais. O *Senecio ssp* possui altas concentrações de alcaloides pirrolizidínicos que quando biotransformados em pirróis no fígado causam intoxicação, podendo levar a casos de subfertilidade e consequentemente perdas econômicas muito expressivas. O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da Senecifilina (alcaloide pirrolizidínico encontrado no *Senecio ssp*) sobre o desenvolvimento embrionário in vitro em bovinos. Para isso, ovários de bovinos foram obtidos em abatedouro e transportados ao laboratório em solução salina (0,9% NaCl; 30°C) contendo penicilina (100 UI/ml) e estreptomicina (50 µg/ml). Folículos com diâmetro entre 3 e 8 mm foram aspirados para obtenção dos Complexos Cumulus-oócito (CCOs). Cinco grupos de CCOs (n=30/grupo) foram maturados em meio TCM 199 suplementado com FSH, LH, piruvato de sódio, soro fetal bovino (SFB; 10%), penicilina e estreptomicina e foram mantidos em incubadora por 24 h (38,5°C; 5% CO₂). Para fertilização in vitro (FIV), os oócitos foram cultivados por 18 h (38,5°C; 5% CO₂) em meio TALP-Fert com espermatozoides previamente selecionados por um gradiente descontínuo de percoll (45 e 90%). Após a FIV as células do cumulus foram removidas por vortex. Os zigotos foram cultivados em meio SOF, suplementado com 5% de SFB, por 7 dias (5% CO₂; 5% O₂; 90% N₂; 38,5°C). A Senecifilina foi adicionada durante a FIV (0, 0,1, 1, 10, 100 ng/ml) e as taxas de clivagem e blastocisto foram avaliadas no D2 e D8 de cultivo, respectivamente. Foi observado que a adição de Senecifilina durante a FIV não alterou a taxa de clivagem (p>0,05). Porém, demonstramos que a taxa de desenvolvimento até o estágio de blastocisto foi reduzida em todos os grupos tratados com Senecifilina em comparação ao grupo controle (p>0,05). Novos estudos estão sendo realizados para avaliar se outros alcaloides pirrolizidínicos provenientes do *Senecio ssp* também prejudicam a capacidade de desenvolvimento embrionário e quais mecanismos celulares estão envolvidos neste processo. Dessa forma, conclui-se que a Senecifilina compromete o desenvolvimento embrionário inicial, sugerindo um potencial efeito negativo sobre a taxa de concepção do rebanho.

Palavras-chave: *Senecio ssp*, blastocisto, PIV, FIV, oócito.

Keywords: *Senecio ssp*, blastocyst, IVP, IVF, oocyte.

Perfis da dinâmica folicular ovariana no pós-parto recente de vacas Gir amamentando

Ovarian follicular dynamics profile during postpartum period of lactating Gyr cows

Márcio Henrique Viana¹, Alan Maia Borges^{2,*}, José Reinaldo Mendes Ruas³,
Ciro Alexandre Alves Torres⁴, Arismar de Castro Menezes⁵, Vicente Ribeiro Rocha Júnior³,
Rita de Cássia Ferreira Tameirão Palhares¹

¹Aluno de Mestrado da EV/UFMG; ²Prof. EV/UFMG; ³Prof. Unimontes; ⁴Prof. DZO/UFV; ⁵Fazenda Experimental de Felixlândia (EPAMIG), MG, Brasil.

*E-mail: alanmborges@hotmail.com

Estudos da dinâmica folicular pós-parto recente são escassos e possibilitam o entender do perfil de crescimento e regressão foliculares, permitindo propor protocolos indutores do estro e ovulação. Objetivou-se caracterizar, por ultrassonografia diária, a dinâmica folicular no pós-parto recente (4^o ao 40^o dia) de 15 vacas Gir recém-paridas, mantidas em pastejo amamentando os bezerros. Vacas foram pesadas e tiveram o escore corporal (ECC; escala 1 a 5) avaliados semanalmente. Aplicou-se ANOVA (SAEG 9.1) para verificar possíveis diferenças entre pesos vivos (PV) e características foliculares e, quando presentes, médias foram comparadas por teste SNK a 5%. O ECC foi analisado pelo teste de Kruskal-Wallis. Verificou-se que vacas Gir podem ser agrupadas em três diferentes perfis de crescimento folicular pós-parto, sendo: G1 (n=5): vacas com crescimentos foliculares esporádicos, em intervalos irregulares, sem aparente perfil de ondas foliculares, sem dominância e subordinação, e o diâmetro máximo do maior folículo não ultrapassou 7mm; G2 (n=5): vacas com crescimentos foliculares regulares, com perfil de ondas foliculares e subordinação e, em pelo menos três, o folículo dominante chegou a diâmetro máximo entre 8 e ≤ 10 mm; e G3 (n=5): vacas com crescimentos foliculares regulares, e com perfil de ondas foliculares e subordinação, e com folículos cujos diâmetros máximos foram iguais ou superiores a 10mm, em pelo menos três ondas nos quarenta dias pós-parto. O PV não diferiu (P>0,05) dentro do dia de avaliação entre vacas dos diferentes grupos, porém, diferiu (P<0,05) entre os diferentes dias para vacas do G1, a partir da 4^a semana avaliada (PV inicial 448,0 ± 29,6kg vs PV na 4^a semana de 386,2 ± 26,9kg). ECC não diferiu (P>0,05) dentro do dia de avaliação entre vacas dos diferentes grupos, mas variaram (P<0,05) entre a primeira e a sexta avaliações nas vacas do G1 (4,30 ± 0,14 vs 2,75 ± 0,50) e G2 (4,31 ± 0,13 vs 3,05 ± 0,39). Na dinâmica folicular ovariana verificou-se diferença (P<0,05) para o diâmetro máximo do maior folículo (6,1 ± 0,8; 8,6 ± 1,0 e 10,1 ± 1,1 mm), comprimento do crescimento/onda folicular (5,5 ± 2,2, 8,8 ± 2,7 e 12,0 ± 3,3 dias), duração do crescimento folicular (2,5 ± 1,3, 4,1 ± 1,9 e 5,2 ± 2,0 dias), persistência do maior folículo (1,6 ± 1,6, 3,5 ± 1,2 e 4,7 ± 1,0 dias), diâmetro do segundo maior folículo (5,1 ± 0,9, 6,0 ± 0,7 e 6,7 ± 0,9 mm), respectivamente para G1, G2 e G3. O diâmetro do maior folículo aos quatro dias pós-parto (4,2 ± 0,4 vs 6,6 ± 1,5 e 6,0 ± 1,6mm) e a taxa de crescimento folicular (0,8 ± 0,3 vs 1,2 ± 0,6 e 1,2 ± 0,4 mm/dia) diferiram (P<0,05) entre vacas do G1 em relação a G2 e G3. Existem perfis diferenciados na dinâmica folicular ovariana de vacas Gir, desde a primeira semana pós-parto, que se manteve durante o experimento. Vacas do G1 perderam mais ECC, demonstraram crescimento folicular esporádico, irregular e sem dominância e subordinação, menor diâmetro máximo e baixa taxa de crescimento foliculares, diferentemente de G2 e G3. O G3 se destacou pela capacidade de manterem melhor ECC durante o experimento e diferenciado perfil de dinâmica folicular, com maior capacidade de crescimento folicular. Esse perfil folicular poderia explicar a ausência ou baixa resposta na indução de ovulação de um percentual de fêmeas em anestro pós-parto. Como a raça Gir apresenta primeira ovulação tardia e longos períodos de serviço e intervalo de partos, pode-se utilizar mais precocemente protocolos hormonais para antecipação da primeira ovulação, ao se agregar a capacidade de crescimento folicular e bom ECC nos primeiros 30 dias pós-parto de, pelo menos, 66% das vacas, uma vez que fêmeas Gir possuem maior capacidade ovulatória de folículos maiores ou iguais a 8mm.

Palavras-chave: bovinos, dinâmica folicular, pós-parto, raça Gir, zebu.

Keywords: bovine, follicular dynamics, postpartum, Gyr breed, zebu.

Consumo alimentar residual e desempenho reprodutivo de novilhas Brangus aos 13/15 meses de idade

Residual feed intake and reproductive performance of Brangus heifers at 13/15 months of age

**Carolina Silveira da Silva^{1,*}, Adriana Kroef Tarouco³, Lúcio Franciosi Carvalho¹,
Fernanda Dornelles Feijó¹, João Luiz Benavides Costa¹, Verônica Machado Rolim²,
Carolina Bremm³, José Fernando Piva Lobato¹, Jaime Urdapilleta Tarouco¹**

¹Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Departamento de Zootecnia, Porto Alegre, Brasil;

²Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Estação Agronômica da UFRGS, Eldorado do Sul, Brasil;

³Secretaria da Agricultura, Pecuária e Desenvolvimento Rural, Departamento de Diagnóstico e Pesquisa Agropecuária, Porto Alegre, Brasil.

*E-mail: carolina.silveira@hotmail.com

A pecuária de corte brasileira, apesar do crescimento da demanda de carne bovina, apresenta baixa eficiência nos sistemas de cria, com elevada idade ao primeiro serviço e ao parto. Com isso, o custo de recria aumenta e o retorno econômico se torna tardio. A alimentação corresponde ao maior custo da produção animal (65%); necessitamos de fêmeas mais precoces, com nível nutricional e fertilidade adequados, sem que isto aumente os custos com alimentação. O Consumo Alimentar Residual (CAR) vem se destacando como medida de eficiência alimentar, característica independente do peso adulto e do ganho de peso. É obtido através da diferença entre o consumo observado e o consumo predito, estimado em função do peso vivo médio metabólico e no ganho médio diário em peso. Estudos sugerem que a seleção para CAR repercute no desempenho reprodutivo, sendo necessário verificar as suas relações com a precocidade sexual de novilhas e seu desempenho reprodutivo. Foram utilizadas 59 fêmeas Brangus, pertencentes ao rebanho da Estação Experimental Agronômica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), submetidas ao teste de consumo alimentar residual no pós-desmame, com média de idade de 311±16 dias e com média de peso 229±25,68 kg. Os valores de CAR foram calculados através de regressão linear, onde o CAR ajustado para gordura subcutânea entre a 12^a e 13^a costelas medida por ultrassom (CARfat) foi definido como o resíduo da regressão do consumo de matéria seca sobre o ganho diário médio, peso metabólico no meio do teste e espessura de gordura subcutânea final. O ranqueamento dos animais se baseou no desvio padrão (DP) sobre a média dos valores de CAR, em que: CAR baixo < 0,5 DP, CAR médio ±0,5 DP e CAR alto >0,5 DP. Também foi avaliado o escore de trato reprodutivo (ETR) por ultrassom, classificando-se em impúberes, peripuberais e púberes, e de condição corporal (ECC), além de: peso vivo (PV), idade, *frame*, taxa de Kleiber (TK), taxa de crescimento relativo (TCR), espessura de gordura entre a 12^a e 13 costelas (EGSUS) e na picanha (EGPUS), ambas por ultrassom. As variáveis foram ajustadas pelo método dos quadrados mínimos e comparadas entre os níveis das medidas de eficiência alimentar pelo teste Tukey-kramer, a 5% de probabilidade. A equação de regressão CAR ajustado para EGSUS final observada foi: $CMS_{predito} = 1,5021 + 0,4166 * GDM + 0,0378 * PMMT + 0,1973 * EGSUS$, $R^2 = 0,25$. Não houve diferença de taxa de concepção entre os níveis de CARfat ($P = 0,7019$). Esta, ao final da estação reprodutiva, foi de 76,27%. Novilhas classificadas como peripuberais, 30 dias antes da estação reprodutiva, apresentaram maior *frame*, valor de ETR e taxa de crescimento em comparação às impúberes. A seleção destas fêmeas para CAR, no modelo CARfat, não afetou o desempenho reprodutivo. A EGPUS, entre as variáveis estudadas, foi a que mais influenciou as taxas de concepção (7 a 10%), por atuar como um sinalizador do *status* nutricional (via leptina) para o eixo neuroendócrino e, com isso, impactar sobre o início da puberdade de novilhas.#

Palavras-chave: desempenho reprodutivo, correlação, novilhas de reposição, taxa de crescimento.

Key words: *reproductive performance, correlation, replacement heifers, growth rate.*



Influência da administração de eCG em protocolo de IATF em novilhas de corte (*Bos taurus*)

*Influence of eCG administration on IATF protocol in beef heifers (*Bos taurus*)*

**Geórgia Camargo Góss, Bruno Afonso Rivero, Igor Moraes de Oliveira, Leonardo Trentin Chaves,
Martin Valério Teixeira, Carlos Alexandre da Silva Zambiasi, Cláudia Acosta Duarte,
Fabrizio Desconsi Mozzaquatro***

Universidade Federal do Pampa – Campus Uruguaiana, RS, Brasil.

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

A inseminação artificial em tempo fixo (IATF) é uma biotécnica que está sendo amplamente utilizada como ferramenta para melhorar os índices produtivos na bovinocultura. Entretanto, os resultados desta são bastante variáveis, dependendo de diversos fatores, como por exemplo, a saúde reprodutiva da fêmea e do macho, a categoria animal protocolada, as condições ovarianas e uterinas e a condição nutricional dos indivíduos. Várias composições hormonais vêm sendo utilizadas a fim de contornar alguns destes fatores, possibilitando assim, melhor crescimento e maturação folicular. Uma destas alternativas, é a gonadotrofina coriônica equina (eCG), cuja aplicação tem como objetivo propiciar um ambiente folicular adequado, produzindo conseqüentemente, gametas de melhor qualidade. O objetivo deste trabalho foi verificar a influência da administração de eCG em novilhas de corte durante protocolo de IATF. Para este trabalho foram utilizadas 76 novilhas *Bos taurus* com escore de condição corporal (ECC) igual a $2,6 \pm 0,28$. O protocolo de IATF utilizado foi semelhante entre os grupos Controle (n=38) e eCG (n=38) e consistiu na inserção de dispositivo intravaginal de liberação de progesterona e aplicação de 2 ml de benzoato de estradiol (D0). No D8, retirada do implante, aplicação de 0,5 ml de cipionato de estradiol e 2 ml de prostaglandina F₂ α , ambos IM. Nas novilhas pertencentes ao grupo eCG foi aplicado 400UI de eCG no D8. A IATF foi realizada 48h após a retirada do implante (D10) em ambos os grupos e o diagnóstico ultrassonográfico de gestação foi realizado 35 dias após a inseminação. Foi realizado o teste de Qui-quadrado no pacote estatístico IBM SPSS Statistics 20, a um nível de significância de 5% para os dados referentes à taxa total de prenhez, bem como para as taxas de prenhez em relação ao ECC entre os grupos. A taxa total de prenhez observada foi de 28,9% (22/76). Quando observados os grupos separadamente, a porcentagem de novilhas prenhes no Controle foi de 10,5% (4/38), enquanto no Grupo eCG foi de 47,4% (18/38), sendo o grupo eCG superior ao controle ($p < 0,01$). No que se refere ao ECC, não houve influência do eCG nas taxas de prenhez de novilhas com escore 3 ou mais. Já nas novilhas com ECC inferior a 3, a aplicação de eCG resultou em diferença estatística na prenhez ($p < 0,01$). Estudos utilizando eCG em vacas Nelore (*Bos indicus*) com baixo ECC, apresentaram resultados positivos nas taxas de prenhez, porém, quando utilizado em vacas com alto ECC estes resultados não foram significantes. Sendo assim, conclui-se que a administração de eCG em novilhas de corte *Bos taurus* influencia positivamente nos índices de prenhez.

Palavras-chave: Inseminação artificial, prenhez, *Bos taurus taurus*.

Keywords: Artificial insemination pregnancy, *Bos taurus taurus*.



Diferentes apresentações de duplicidade cervical identificadas em peças do aparelho reprodutor feminino de bovinos

Different presentations of cervical duplicity identified in parts of the female bovine reproductive tract

Gustavo Garcia Soares^{1,*}, Gabriel Brocsewisk Strada¹, Gustavo Tuerlinckx Vaz da Rosa¹, Igor Teixeira Costa¹, Patrícia Freitas Salla²

¹Graduandos de Medicina Veterinária, Centro Universitário da Região da Campanha, Bagé, RS, Brasil; ²Docente do Curso de Medicina Veterinária e Titular do Laboratório de Reprodução Animal, Centro Universitário da Região da Campanha, Bagé, RS, Brasil.

*E-mail: gustavosoares1998@hotmail.com

O aumento da demanda por proteína animal ao redor do mundo fez com que os índices zootécnicos da bovinocultura se tornassem melhores e para isso a pecuária contou com o desenvolvimento de inúmeras biotecnologias que aprimoraram diversas etapas do processo produtivo, dentre elas, destacam-se as biotecnologias reprodutivas. Para viabilizar essas técnicas é fundamental que o aparelho reprodutor da fêmea bovina encontre-se íntegro, sendo constituído por ovários, trompas, útero, cérvix, vagina, vulva, vestibulo e glândulas anexas. A cérvix ou colo do útero dos bovinos adquiriu com o advento das biotécnicas mencionadas uma maior relevância, pois além de atuar como barreira química e física do sistema reprodutor feminino, selecionar, armazenar e permitir a passagem dos espermatozoides, e sua evidente dilatação durante o trabalho de parto, passou a ser caminho para o desenvolvimento da pecuária. Nesta porção uterina problemas congênitos ou adquiridos reduzem ou impossibilitam a atividade reprodutiva da fêmea. A duplicidade cervical é uma patologia congênita e hereditária que ocorre por uma má formação dos Ductos de Müller, ainda no desenvolvimento embrionário, podendo atingir até 2% das fêmeas. Os casos identificados pelo laboratório de reprodução animal são cinco e foram visualizados nas peças de aparelho reprodutor feminino, provenientes de frigorífico local. O primeiro se apresenta como duplicidade apenas da abertura cervical porção vaginal, possuindo um colo de útero unido em conduto simples, ou seja, se apresenta em forma de Y; o segundo caso apresentou com duplicidade de canal cervical propriamente dita e apenas um dos condutos era contínuo, apresentando no lado direito, que se apresentava também mais curto, apenas um fundo de saco; o terceiro caso é semelhante ao anterior, porém possui os condutos simétricos e o conduto direito não se comunicava com um corno uterino, e se apresentava também em fundo de saco; o quarto caso possuía um aparelho reprodutor que era destituído de corpo uterino, e cada um dos canais se comunicava apenas com um corno uterino, ou seja, o corno direito só era acessado pelo canal esquerdo e o canal direito só dava acesso ao corno esquerdo, apresentando um formato em X; no quinto caso, a duplicidade era de canal cervical e o corpo do útero dava continuidade aos dois canais sem comunicarem-se, sendo assim semelhante ao quarto relato. Concluímos com estes dados que embora rara, a patologia relatada ainda é realidade e pode ser uma potencial causadora de prejuízos e entraves para o desenvolvimento tanto das tecnologias aplicadas à reprodução na bovinocultura quanto à própria pecuária, embora o diagnóstico seja de fácil obtenção e a recomendação seja, como nas demais patologias congênitas, de que o indivíduo portador seja eliminado da reprodução.

Palavras-chave: duplicidade cervical, útero, bovinos.

Keywords: *cervical duplicity, uterus, cattle.*

Freemartinismo e hermafroditismo verdadeiro em bovino: relato de caso

Freemartinism and true hermaphroditism in bovine: a case report

Éllen Gabriela Krik^{1,*}, Jéssica Taborda França¹, Esther Devantier Mendes

¹Graduandas do curso de Medicina Veterinária, Faculdade Guarapuava, Guarapuava, PR, Brasil; ²Professora do Curso de Medicina Veterinária, Faculdade Guarapuava, Guarapuava, PR, Brasil.

*E-mail: ellengkrik@gmail.com

Freemartinismo e hermafroditismo são dois fenômenos de intersexo que podem ocorrer nos animais. Em bovinos, dentre as anomalias citadas, o freemartin é mais comumente observado. Na gestação gemelar existe troca de fluídos como sangue, hormônios e antígenos em uma membrana placentária, então gestações gêmeas de produtos com sexo distintos cerca de 95% das fêmeas são inférteis. Consequência das alterações sofridas pelo feto feminino, que geneticamente trata-se de uma fêmea, contudo apresenta características físicas de macho. Os ovários da freemartin não se desenvolvem corretamente, não produzem hormônios necessários para induzir o sinal de cio, seu útero está hipodesenvolvido, assim como seus órgãos sexuais externos com vulva pequena e mamas atrofiadas. No macho nada é alterado, sua fertilidade continua íntegra. O hermafroditismo é um erro que ocorre na determinação de sexo, são anomalias do desenvolvimento onde ocorre discordância entre os sexos genéticos, fenotípicos e gonadal. Geralmente as estruturas não são funcionais e observa-se vulva pouco desenvolvida. Este caso trata-se de um animal da espécie bovina, sexo feminino, oito dias de vida, doada para estudo pelo proprietário G.R.G. Filha de uma vaca holandesa, quatro anos, múltipara, oriunda de cruzamento com um boi charolês por monta natural controlada. Foi descoberto gestação gemelar apenas no momento do parto, quando houve o nascimento de um macho natimorto e logo após uma fêmea. Ambos com tamanho normal. Nenhum exame complementar foi realizado no período de oito dias, contudo, após cinco dias a bezerra demonstrava sinais clínicos neurológicos, como ataxia, acinesia, além de permanecer apática, apenas em decúbito e sem se alimentar. Devido ao agravamento do quadro o animal entrou em óbito e foi encaminhada para o laboratório de anatomia veterinária da Faculdade Guarapuava onde foi realizada a necropsia. O animal foi colocado em decúbito lateral esquerdo e realizado um corte longitudinal. Observaram-se diversos órgãos como traqueia, esôfago, sistema cardiorrespiratório e digestório que estavam dentro dos padrões de normalidade, quanto aos linfonodos estavam todos edemaciados. Ao examinar o sistema reprodutor foi observado o útero e ovários hipoplásicos, fundo de saco vaginal com comprimento de 3 cm (fundo cego) e vulva pequena com tufo de pelos. Além disto, foi encontrada dentro da cavidade abdominal do animal um pênis envolto por tecido prepucial com suas glândulas sexuais acessórias. Ou seja, a bezerra possuía gônadas femininas e masculinas, comprovando, portanto, que a mesma, além de ser freemartin, tratava-se de um hermafrodita verdadeiro.

Palavras-chave: freemartin, hermafroditismo, bovinos.

Keywords: *freemartin, hermaphroditism, bovine.*

Efecto de un antagonista de los opioides (naloxone) en la maduración ovocitaria, clivaje y desarrollo embrionario en bovino

Effect of an opioid antagonist (Naloxone) on bovine oocytes maturation, cleavage and embryonic development

**Veronika Niedhammer^{1,2,*}, Clara Noelia Amarilla², Zulma González², Oscar Valiente³,
María Paz Benítez Mora², Rosa Minoia²**

¹Tesista de Posgrado, Maestría en Zootecnia con énfasis en sistemas pecuarios, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Asunción, Paraguay; ²Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Asunción. Programa PROCIENCIA, CONACYT, Paraguay; ³Maestría en Zootecnia con énfasis en sistemas pecuarios, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Asunción, Paraguay. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Asunción, Paraguay.

*E-mail: veroniedhammer@gmail.com

El estrés es uno de los factores que afecta negativamente a la maduración ovocitaria y al desarrollo embrionario, tanto en vivo como *in vitro*. En una situación de estrés, los niveles de opioides endógenos circulantes (sobre todo de beta endorfina) se elevan y se ligan a sus receptores específicos (mu opioid receptor); este sistema ligando receptor, bloquea los canales L y D del calcio, afectando así todas las funciones calcio mediadas y dependientes. El Naloxone utilizado a la concentración de 10^{-8} M, rompe la unión de beta endorfina-receptor μ opioide, reactivando las funciones mencionadas (Minoia P et al. 2001). Se ha demostrado que gametos y embriones expresan los receptores opioides μ , como también que el uso del naloxone durante la maduración de ovocitos bovinos mejora significativamente los porcentajes y la calidad de la maduración (Dang-Nguyen TQ et al. 2013). En nuestro estudio evaluamos el efecto del naloxone en la maduración ovocitaria bovina y su posterior clivaje y desarrollo embrionario. Un total de 240 ovocitos fueron asignados aleatoriamente entre dos grupos: grupo control (150 ovocitos), grupo naloxone (90 ovocitos). Luego de las 20 horas de maduración los ovocitos fueron fertilizados *in vitro* con semen descongelado de pajuelas, posteriormente, después de 9 horas, los cigotos fueron transferidos al medio de cultivo embrional. En el grupo control, el 62,5% de los ovocitos demostró el clivaje a las 24h contra el 74,1% del grupo naloxone. Al quinto día el 11,1% del grupo de control presentaba más de 8 células contra el 19,7% del grupo naloxone. Al sexto día el 14,4% del grupo de control presentaba morfología de blastocisto contra el 16,7% del grupo naloxone. No se encontraron diferencias significativas entre los porcentajes de clivaje, y desarrollo embrionario entre los grupos. Aunque confrontando los porcentajes de ovocitos con completa expansión de la granulosa, a través de la prueba de chi cuadrado, la diferencia es significativa por $p < 1,944$ de manera que podría existir una influencia del naloxone, de tipo cualitativa más que tipo cuantitativo. Efectivamente, el grupo control presentaba los ovocitos en diferentes grados de expansión de la granulosa, por el contrario, el grupo naloxone presentaba ovocitos o con nula o con buena expansión, sin presentar grados intermedios. Comparando los porcentajes del clivaje entre grupos, la diferencia resulta significativa por $p < 0,001$ resultando que en el grupo naloxone hay menos ovocitos no fertilizados. Nuestros resultados preliminares confirman la presencia de los receptores μ para los opioide a nivel de ovocitos y en los primeros estadios de desarrollo embrionario, además que confirman un efecto positivo del naloxone sobre la cualidad de la expansión de la granulosa. En conclusión, el receptor μ para los opioides participa en las señales cumulus-ovocitos asociadas con la maduración ovocitaria; con un efecto positivo sobre la fertilización. En futuros ensayos proponemos aumentar el número de ovocitos evaluados además de focalizar nuestra atención en la calidad de la maduración, fertilización y desarrollo embrionario investigando con métodos cualitativo como evaluación de núcleo apoptótico (TUNEL), condición mitocondrial, y calidad del blastocisto.

Palabras clave: maduración *in vitro*, naloxone, estrés.

Keywords: *in vitro* maturation, naloxone, stress.

Viabilidad post descongelación de ovocitos en bovinos criollos según diámetro folicular

Viability post thawing of oocytes in creole breed bovines according to follicular diameter

**Lucy Sulca Ñaupas^{1,*}, Yeni Allcca Lujan², Alfredo Herrera Conde², Alfredo Pozo Curo³,
Arturo Rodriguez Zamora³**

¹Mestranda programa de post graduación en ciencias veterinarias Universidad estadual de Ceará Fortaleza Ceará Brasil; ²universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga, Laboratorio de Biotecnología y Reproducción Animal, universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga facultad de ciencias agrarias, Escuela Profesional de Medicina Veterinaria, Ayacucho Perú.

*E-mail: hani_@1092hotmail.com

En el censo agropecuario del 2012 el vacuno criollo representaba el 63% del ganado total existente en el Perú. En realidad, ese porcentaje engloba al ganado criollo con diferentes grados de cruzamiento con otras razas introducidas al país. Pues se estima que el ganado bovino Criollo mantenido como puro representaría una cifra mucho menor, que oscilaría alrededor del 20% situación muy preocupante, toda vez que se trata de una población muy heterogénea en morfotipos, con adaptaciones a diversos ecosistemas, resistencia a enfermedades, altitud, rusticidad, sobriedad y con alto valor potencial como fuente de genes útiles, encontrándose amenazada al someterse a cruzamientos indiscriminados con otras razas e por ausencia de planes de conservación, perdiéndose como material genético puro. Por lo tanto, urge la necesidad de implementar biotecnologías reproductivas orientadas a la preservación. Para eso los vacunos criollos fueron seleccionados por características morfotípicas antes mortem. Los ovarios recuperados fueron transportados en solución salina fisiológica (0.9%) a 37°C y aspirados teniendo en cuenta, los parámetros foliculares considerados de D1 ($\geq 1\text{mm} < 3\text{mm}$), D2 ($\geq 3\text{mm} < 5\text{mm}$) y D3 ($\geq 5\text{mm} < 7\text{mm}$); el aspirado fue colocado en medio de manipulación suplementado con 2% de suero fetal bovino y los ovocitos seleccionados fueron de calidad excelente y buena esto estandarizados por el número de capas de las células del cúmulo y homogeneidad del citoplasma. Durante el proceso de congelación lenta automatizada estos fueron expuestos a un crioprotector comercial (etilenglicol + sucrosa), cargados en pajuelas de 0.25 ml para luego ser sumergidos en nitrógeno líquido. La evaluación post descongelación realizada fue la de viabilidad haciendo uso la tinción azul de tripán (0.05%). Obteniendo los siguientes resultados: A la evaluación los diámetros D1 ($\geq 1\text{mm} < 3\text{mm}$) y D2 ($\geq 3\text{mm} < 5\text{mm}$) fueron de mayor viabilidad que D3 ($\geq 5\text{mm} < 7\text{mm}$), obteniendo una diferencia estadística significativa ($p < 0.05$), comparado con otros trabajos no se tiene información de la congelación de ovocitos relacionado al diámetro folicular pero sí a la maduración ovocitaria, donde demostró que ovocitos obtenidos de diámetros foliculares de 1 a 5mm fueron quienes más porcentajes de vesícula germinal y Metafase II obtuvieron. Con eso se concluye que el diámetro folicular influye en la viabilidad de los ovocitos Apos congelación, siendo recomendado congelar ovocitos aspirados de folículos con diámetro ($\geq 1\text{mm} < 5\text{mm}$), estos resultados ayudarán a estandarizar protocolos de congelación de ovocitos. Para la formación de bancos de germoplasma de esta especie amenazada.

Palabras clave: vacuno criollo, diámetro folicular, ovocitos, congelación.

Key words: bovine creole, follicular diameter, oocytes, freezing.



Eficiência reprodutiva em vacas nelore e cruzada submetidas a administração de acetato de melengestrol (MGA) após protocolos de IATF

Reproductive efficiency in Nelore and crossbred cows submitted to administration of melengestrol acetate (MGA) after FTAI protocols

Alan Gabriel Valero¹, Danielle Andressa Oliveira Sestari¹, Carlos Renato de Freitas Guaitolini¹, Patricia Franco Previato do Amaral¹, André Maciel Crespilho², Rosiara Rosaria Dias Maziero^{1,*}

¹Universidade Paranaense, Umuarama, PR, Brasil; ²Universidade de Santo Amaro, São Paulo, SP, Brasil; ³Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, SP, Brasil; ⁴Cooperativa Agropecuária Caiuá; ⁵Universidade Estadual de Londrina.
*E-mail: rosiaramaziero@prof.unipar.br

Um dos principais cruzamentos utilizados no Brasil é entre fêmeas Nelore e raças selecionadas para produção de carne, principalmente as britânicas, como a Angus. Estes cruzamentos acontecem, pois as condições ambientais brasileira afetam a eficiência da produção do rebanho, principalmente, na capacidade de conter ou minimizar o aumento da temperatura corporal, nas condições de calor e umidade elevadas. Assim, este estudo teve como objetivo avaliar a influência do fornecimento de 2,28 g de MGA® Premix entre o 13º e 20º dia após a inseminação artificial em tempo fixo (IATF), nas taxas de concepção e gestação de vacas da raça Nelore e cruzadas (Nelore x Angus), pluríparas. Foram usadas 349 vacas Nelore (*Bos taurus indicus*) e 270 vacas cruzadas, ou seja, animais da raça Nelore e Angus (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*). Divididas em: 1) grupo Nelore (n= 176): vacas Nelore submetidas a protocolo de IATF, sem suplementação de MGA® Premix; 2) grupo Nelore MGA (n= 173): vacas Nelore submetidas a protocolo de IATF, com suplementação por 7 dias, de MGA® Premix 2,28 g de MGA®, a partir do 13º da IA até o 20º dia, na quantidade de 0,28 g/UA/dia; 3) grupo cruzadas (n= 119): vacas cruzadas (Nelore x Angus): submetidas a protocolo de IATF, sem suplementação de MGA; 4) grupo cruzadas MGA (n= 151): vacas cruzadas (Nelore x Angus) submetidas a protocolo de IATF, com suplementação por 7 dias, de MGA® Premix 2,28 g de MGA®, a partir do 13º da IA até o 20º dia, na quantidade de 0,28 g/UA/dia. Para a análise estatística foi utilizado os programas MIXED e GLIMMIX do SAS (SAS Inst., Inc., Cary, NC). Os animais mestiços apresentam maiores taxas de concepção e gestação ao final da estação de monta (P<0,05), não havendo diferença na utilização de MGA® Premix (P>0,05). Verificamos também que, as fêmeas Nelore apresentaram menor taxa de concepção (P<0,05), com o uso de MGA® Premix, mas taxas similares de gestação ao final da estação de monta (P>0,05). Concluímos que a suplementação com MGA® Premix possibilita maior eficiência reprodutiva em fêmeas cruzadas.

Palavras-chave: bovinos, concepção, gestação, mestiços, Nelore, progesterona exógena.

Key words: bovine, conception, gestation, mestizos, Nelore, exogenous progesterone.

Influência da administração de eCG na taxa de crescimento folicular em novilhas de corte (*Bos taurus*)

Influence of ECG administration on follicular growth rate in beef heifers (Bos taurus)

Leonardo Trentin Chaves, Geórgia Camargo Góss, Irina Lubeck, Bruno Belmonte Silveira, Grazielle Salgueiro da Silva, Igor Moraes de Oliveira, Fabricio Desconsi Mozzaquatro*

Universidade Federal do Pampa, Campus Uruguaiiana, RS, Brasil.

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

A gonadotrofina coriônica equina (eCG) tem sido amplamente utilizada em protocolos de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) em bovinos, promovendo melhor desenvolvimento folicular. O objetivo deste trabalho foi verificar a influência da administração de eCG na taxa de crescimento folicular em novilhas de corte *Bos taurus*. Foram utilizadas 76 novilhas *Bos taurus*, com ECC $2,6 \pm 0,28$, que foram submetidas a IATF. As fêmeas foram separadas em dois grupos, Controle (n=38) e Grupo eCG (GeCG; n=38). O protocolo de três manejos foi conduzido da seguinte maneira, no D0, foram aplicados 2 ml de benzoato de estradiol por via intramuscular (IM) e foi introduzido um dispositivo intravaginal impregnado com progesterona (P4) em todas as novilhas. No D8, foram retirados os implantes e aplicados 0,5 ml de cipionato de estradiol e 2 ml de prostaglandina, ambos IM, em todos os animais. Nesta ocasião, o GeCG recebeu também 400 UI de eCG (IM). Foi utilizado um ultrassom Chison 8300VET, com transdutor linear ajustado em 5MHz para mensuração dos folículos dominantes e pré-ovulatórios no D8 e D10, respectivamente. Os dados de comparação do tamanho folicular nas duas mensurações (D8 e D10) dentro de cada grupo e entre os grupos, bem como, a taxa de crescimento folicular foram analisados utilizando teste t de *student* do pacote estatístico IBM SPSS Statistics 20. O tamanho médio dos folículos dominantes observados no D8 foi de $9,23 \pm 3,04$ mm (Controle) e $8,55 \pm 3,31$ mm (GeCG). Já no D10, a média observada foi de $9,82 \pm 2,76$ mm (Controle) e $10,9 \pm 2,54$ mm (GeCG). O diâmetro folicular nos dias D8 e D10 no Controle não foram diferentes ($P=0,33$). Porém no GeCG esta diferença foi marcante ($P<0,01$). A comparação dos diâmetros no D8 entre os grupos Controle e GeCG não foram diferentes ($p=0,31$). Quando realizamos a mesma comparação no D10 entre os folículos pré-ovulatórios entre os grupos observa-se uma tendência de maior diâmetro ovulatório para o GeCG ($p=0,06$) no comparativo aos folículos do grupo Controle. Foi analisado ainda a taxa de crescimento folicular onde os valores médios encontrados foram de $0,95 \pm 1,43$ mm e $2,46 \pm 2,89$ mm nos Grupos Controle e GeCG, respectivamente ($p<0,01$). Estes resultados demonstram a influência positiva do eCG no crescimento folicular. Embora o tamanho do folículo dominante não tenha apresentado diferença estatística entre os grupos, o maior diâmetro folicular observado no GeCG tende a proporcionar um melhor ambiente folicular e conseqüentemente melhor maturação oocitária o que resultaria em melhores taxas de ovulação e prenhez. Conclui-se que o uso de eCG no dia oito do protocolo de IATF aumenta a taxa de crescimento e o diâmetro folicular em novilhas *Bos taurus*.

Palavras-chave: folículo dominante, IATF, maturação oocitária.

Keywords: *dominant follicle, IATF, oocyte maturation.*

Virilismo em vaca decorrente de cisto folicular com concomitância de estrutura ecogênica heterogênea: Relato de caso

*Virilism in cow as a result of follicular cyst and concomitant heterogeneous echogenic structure:
Case report*

**Amanda Ribeiro de Paula^{1,*†}, Fernanda Camila da Silva Gularte^{2,†}, Kássila Fernanda Bertogna^{3,‡},
Lílian Rigatto Martins^{4,†}**

¹Graduanda do Curso de Medicina Veterinária; ²Residente da Área de Reprodução Animal e Obstetrícia Veterinária; ³Mestranda do Programa de Pós-graduação em Zootecnia; ⁴Professora de Reprodução Animal do Curso de Medicina Veterinária. †Instituto de Ciências da Saúde - ICS. Universidade Federal de Mato Grosso. Câmpus de Sinop.

‡Instituto de Ciências Agrárias e Ambientais - ICAA. Universidade Federal de Mato Grosso. Câmpus de Sinop.

*E-mail: amandardp@hotmail.com

A ocorrência de cistos ovarianos contribui para com falhas na eficiência reprodutiva e causam impacto negativo na produtividade dos rebanhos. Embora frequentemente observados em fêmeas destinadas à produção de leite, também acometem fêmeas zebuínas, como vacas da raça Nelore. Os cistos ovarianos de maior relevância clínica são o cisto folicular e o cisto luteínico ou folicular luteinizado, sendo ambos capazes de alterar os padrões de produção hormonal na fêmea bovina. O cisto folicular ocorre em consequência de diversos mecanismos que culminam na não ovulação e na consequente permanência de uma estrutura anovulatória com diâmetro igual ou superior a 20 mm, presente em um ou em ambos ovários por mais de dez dias. Clinicamente, os animais acometidos por cistos ovarianos podem apresentar ninfomania ou anestro em decorrência de alterações nos padrões de produção de estrógeno e progesterona, respectivamente e, em casos de persistência da estrutura cística, as vacas podem aumentar o nível de produção de testosterona e consequentemente apresentar virilismo, condição em que a fêmea exibe comportamento sexual masculinizado, agressividade e até mesmo alterações na conformação da musculatura. Dentre os fatores predisponentes ao desenvolvimento de cistos ovarianos podemos citar causas hereditárias; idade avançada; nutrição inadequada e até mesmo estresse. Objetivou-se relatar o caso de uma vaca da raça Nelore, múltipara, de 13 anos de idade, que apresentou comportamento de virilismo associado a não manifestação de estro. As alterações ultrassonográficas, fenotípicas e comportamentais persistiram por mais de 30 dias. O comportamento era caracterizado por monta insistente em outras fêmeas; hipertrofia muscular generalizada, porém facilmente perceptível nas regiões do pescoço e da cabeça; elevação da base da cauda; vocalização excessiva e agressividade. Ao exame ultrassonográfico, observou-se no ovário direito, uma estrutura folicular cística e um folículo com diâmetro médio de 24,1 mm e 11,6 mm respectivamente, enquanto que no ovário esquerdo, havia uma estrutura ecogênica heterogênea e um folículo com diâmetro médio 28,1 mm e 11,6 mm, respectivamente. Embora não tenha sido possível fazer um diagnóstico preciso da estrutura presente no ovário esquerdo por meio de exame histopatológico, ela era compatível com tumor de células da granulosa em fase inicial de desenvolvimento em decorrência de seu aspecto ultrassonográfico. O útero apresentava diâmetro médio luminal de 10,9 mm e conteúdo de aspecto anecoico, que pôde ser visualizado externamente e caracterizado como muco. Foram ainda mensuradas as concentrações séricas de testosterona e de progesterona pelo método de quimioluminescência, por meio de duas coletas de sangue da veia epigástrica superficial caudal, com intervalo de doze horas. Os valores obtidos para testosterona foram de 0,58 ng/mL e 0,53 ng/mL e para progesterona foram 0,60 ng/mL e 0,30 ng/mL. Acredita-se que a idade avançada da fêmea tenha favorecido o desenvolvimento destas patologias e que as alterações relacionadas à masculinização puderam ser evidenciadas em decorrência da não identificação precoce e consequente ausência de tratamento da estrutura cística.

Palavras chave: gado, testosterona, virilização.

Keywords: cattle, testosterone, virilization.

Avaliação da produção *in vitro* de embriões bovinos utilizando o co-cultivo com células estromais multipotentes endometriais

Evaluation of in vitro production of bovine embryos using co-culture with multipotent endometrial stromal cells

Gabriel Corrêa de Camargo*, Ludimila Cardoso Zoccal Janini, Laís do Nascimento Cintra, Alice Pereira Maciel, Fernanda da Cruz Landim

Laboratório de Reprodução Avançada e Terapia Celular (LANÇA) do Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária da FMVZ – UNESP, Botucatu.

*Email: gabrielcamargo9606@gmail.com

O Soro Fetal Bovino (SFB) é um dos suplementos mais utilizados pelos laboratórios de produção *in vitro* de embriões (PIVE) durante o cultivo embrionário. Embora contenha nutrientes essenciais e fatores de crescimento para o embrião, estudos tem demonstrado que a exposição destas estruturas ao SFB de forma prolongada pode afetar seu metabolismo e bioquímica, ocasionando alterações epigenéticas que podem estar associadas com o aumento do peso do feto ao nascimento. A fim de diminuir os efeitos deletérios advindos do SFB, uma alternativa para os protocolos de PIVE é o co-cultivo de embriões com células somáticas. Neste sentido, a utilização de células estromais multipotentes derivadas do endométrio (eCTMs), devido ao grande número de fatores secretados, pode auxiliar na otimização dos protocolos de PIVE, aumentando assim a fertilidade de animais de interesse econômico. O objetivo deste estudo foi verificar a viabilidade da produção de embriões bovinos utilizando o co-cultivo com eCTMs. As eCTMs usadas no experimento foram previamente isoladas, caracterizadas e mantidas em banco criobiológico à -196°C. As células foram descongeladas e plaqueadas em meio de cultivo composto de DMEM Alta Glicose/F12 e, após atingirem confluência de 90% na garrafa de cultivo, foram alocadas em criotubos compostos de 90% de SFB filtrado + 10% de DMSO (SIGMA®), os quais foram armazenados à -196°C. Os ovários utilizados na produção *in vitro* foram coletados em abatedouros locais e aspirados com seringa de 20 mL e agulha 40x12 mm para a obtenção dos oócitos. Após a seleção, oócitos grau 1 e 2 foram colocados para maturação. A fertilização *in vitro* foi realizada depois de 24 horas e após 18 horas as estruturas foram divididas em 4 grupos para o cultivo embrionário, sendo estes: Grupo 1 (Controle negativo – sem soro) composto de Meio SOFaaci + BSA, Grupo 2 (Controle padrão – com soro), composto de Meio SOFaaci + BSA + SFB, Grupo 3 (eCTMs – sem soro), composto de Meio SOFaaci + BSA + 10⁴ eCTMs e Grupo 4 (eCTMs – com soro), composto de Meio SOFaaci + BSA + SFB + 10⁴ eCTMs. Os prováveis zigotos foram cultivados em placas de 4 poços contendo até 25 estruturas/poço. As taxas de clivagem e de produção de blastocisto foram avaliadas em D3 e D8, respectivamente. Dez rotinas foram realizadas, totalizando 276 estruturas distribuídas entre os grupos experimentais. A taxa de clivagem em D3 foi de 66,15% em Grupo 1, 55,2% em Grupo 2, 64,8% em Grupo 3 e 71,2% em Grupo 4. A produção de blastocisto em D8 foi de 20% para o Grupo 1, 25,4% em Grupo 2, 28,1% em Grupo 3 e 35,6% para o Grupo 4. Concluiu-se, com os dados obtidos até o momento, que a produção de embriões utilizando o co-cultivo é possível, atingindo taxas de clivagem e de produção de blastocisto equivalentes e possivelmente superiores à produção de embriões utilizando SFB.

Palavras-chave: células estromais multipotentes, cultivo embrionário, co-cultivo, bovinos.

Keywords: multipotent stromal cells, embryo culture, co-culture, bovines.



Análise da viabilidade celular de fibroblastos bovinos editados no gene TFAM por CRISPR/Cas9

Cellular viability analysis of TFAM gene edited bovine fibroblasts by CRISPR/Cas9

**Clesio Gomes Mariano Junior^{1,*}, Gabriel Sassarão Alves Moreira², Carlos Eduardo Ambrósio²,
Vanessa Cristina de Oliveira²**

¹Graduando de Ciências Biológicas, Centro Universitário da Fundação de Ensino Octávio Bastos, São João da Boa Vista, SP, Brasil; ²Departamento de Medicina Veterinária, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA), USP, Pirassununga, SP, Brasil.

*E-mail: clesiogmm@gmail.com

As mitocôndrias, organelas essenciais em todo o processo biológico celular, vêm sendo estudadas há décadas e conforme as pesquisas avançam alterações em sua quantidade e funcionamento são relacionadas a um número crescente de patologias, inclusive podendo inviabilizar o desenvolvimento embrionário e conseqüente nascimento do indivíduo. O gene TFAM (Fator de Transcrição A mitocondrial) é um gene que codifica uma proteína pertencente à subfamília HMGB que se liga a promotores do DNA mitocondrial (mtDNA) e cuja ausência é letal. É um gene de fundamental importância, pois faz a manutenção, replicação e transcrição do mtDNA, assim como o controle do número de cópias. Neste contexto foi desenvolvido um novo modelo de estudo através da edição do gene TFAM pela engenharia CRISPR/Cas9 em fibroblastos bovinos, a fim de compreender a fundo os processos de controle e manutenção do número de cópias de mtDNA e conseqüentemente do funcionamento mitocondrial. Clones dos fibroblastos pós editados gerados foram congelados para futura caracterização. A partir desses clones, este projeto tem como objetivo caracterizar os fibroblastos bovinos (clones) pós editados no gene TFAM com o propósito de avaliar seu potencial *in vitro*. Realizamos o descongelamento dos clones editados, expansão, viabilidade celular, curva de crescimento e doubling time, utilizando como controle fibroblastos não editados. Observamos uma diferença significativa entre as células editadas e as não editadas em relação ao seu tempo de vida em cultura (expressado através da curva de crescimento e do Doubling Time) e confirmamos a viabilidade como modelo de estudo, já que foi possível mantê-las cultura após o processo de edição e criopreservação. Concluímos até o momento que esta diferença de viabilidade e manutenção em cultura das células editadas versus as não editadas (células-alvo versus controle) pode ser explicada pela alteração no número de cópias de DNA mitocondrial promovida pela edição gênica. O prosseguimento desta pesquisa visa confirmar os resultados obtidos até agora, pelo qual daremos continuidade na proposta através da realização do ensaio de citotoxicidade, podendo finalizar a caracterização desta nova linhagem celular e confirmando assim seu potencial de estudo.

Palavras-chave: TFAM, CRISPR/Cas9, fibroblastos, bovino.

Keywords: TFAM, CRISPR/Cas9, fibroblasts, bovine.

Ovariectomia unilateral em novilha gestante com presença de neoplasia de cordão sexual

Unilateral ovariectomy in pregnant heifer with presence of sexual cord neoplasia

Faider Alberto Castaño Villadiego¹, Glauco Barra Villela², Vitor de Ávila Martins², Guilherme Costa Fausto³, João Paulo Machado³, Giancarlo Magalhães dos Santos^{3,*}

¹Pós doutorando em Reprodução Animal, Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa, MG, Brasil; ²Graduandos em Medicina Veterinária, Faculdade de Ciências Biológicas e da Saúde (FACISA), Viçosa, MG, Brasil; ³Professores do curso de Medicina Veterinária, Faculdade de Ciências Biológicas e da Saúde (FACISA), Viçosa, MG, Brasil.

*E-mail: gianmagalhaes@hotmail.com

Alterações ovarianas são descritas como causas de sub ou infertilidade em animais domésticos, gerando grandes prejuízos em animais de produção seja leite ou corte. As principais alterações encontradas nos ovários de fêmeas bovinas são fibroses, aderência, cistos, ooforites, hipoplasias e neoplasias. Dentre as neoplasias ovarianas destacam-se as neoplasias de cordões sexuais ou tumor estromal, podendo ser denominado luteoma, tecoma ou tumor de células da granulosa, de acordo com o tipo de origem celular. Na maioria dos casos, esses tumores não são malignos, têm acometimento unilateral e apresentam-se hormonalmente ativos, havendo produção de esteroides com consequente sinais clínicos decorrentes da produção anormal de estrógeno e/ou testosterona, sendo raramente descritos em animais gestantes. Os sinais clínicos citados nestes casos são ninfomania, masculinização, ciclos irregulares, anestro prolongado ou podem não apresentar sinais clínicos. Este trabalho objetivou-se relatar uma neoplasia de cordão sexual, encontrado em uma novilha da raça Girolando (1/2 sangue), 27 meses de idade, peso médio 380 kg, gestante. Localizado na região de Porto Firme, MG. Foi realizada avaliação ginecológica por palpação transretal, suspeitou-se de uma alteração neoplásica no ovário esquerdo, de consistência firme e volume alterado. Posteriormente foi realizado exame com auxílio da ultrassonografia do modo color doppler, foi possível visualizar uma massa homogênea e ecogênica em toda extensão ovariana, além do aumento expressivo no fluxo sanguíneo. O animal foi contido em estação, foram realizadas tricotomia e antissepsia da região da fossa paralombar esquerda e bloqueio anestésico paravertebral com lidocaína 2%. Após incisão de pele, músculos abdominais e peritônio, o ovário esquerdo foi identificado e exteriorizado para realização da ligadura no pedículo ovariano e posterior remoção deste. O ovário retirado foi pesado e realizada coleta de amostras para envio ao laboratório, para realização do exame histopatológico e imuno-histoquímica para diagnóstico definitivo. Macroscopicamente, o ovário removido apresentava-se com superfície externa irregular, altamente vascularizada, com áreas de coloração amarelada, avermelhada e outras acinzentadas, pesando 1797g e com dimensões de 18.0 x 14.0 x 11.2 cm. Internamente havia regiões sólidas amareladas, além de cavidades com a presença de líquido que fluía ao corte. No exame histopatológico, com aumento de 40x observaram-se células com crescimento denso, septadas por filetes de tecido conjuntivo e presença de vasos sanguíneos em seu interior, com as bordas em crescimento neoplásico mais expansivo que infiltrativo, multinoduloso e ocasionalmente septado sob o parênquima conjuntivo, além de regiões que evidenciam crescimento em trabéculas. Em aumento de 400x foi observada intensa angiogênese, células de origem epitelial com nucléolos em anisocariose, pleomorfismo celular, cromatina grosseira e mitose atípica com material genético irregular, além de grande quantidade de leucócitos na luz do vaso sanguíneo. Após o exame histopatológico foi possível identificar uma neoplasia estromal, entretanto, devido à perda da integridade tecidual, só é possível fazer a diferenciação celular e chegar ao diagnóstico definitivo por meio da imuno-histoquímica. Portanto, foram enviadas amostras para realização do exame. O fato de a neoplasia acometer apenas o ovário esquerdo possibilitou que a novilha viesse a conceber de uma ovulação proveniente do ovário direito.

Palavras-chave: cirurgia, ovário, prenhez, tumor estromal.

Keywords: *Stromal tumor, pregnancy, ovary, surgery.*

Características reprodutivas de novilhas F1 HG da pré-puberdade à primeira gestação *Reproductive characteristics of the F1 HG heifers from pre-puberty to the first gestation*

Adolfo Pérez Fonseca^{1*}, Bruna Rios Coelho Alves², Mariana Magalhães Campos³, Raquel de Melo Costa⁴, Fernanda Samarini Machado³, Luiz Gustavo Ribeiro Pereira³, Thierry Ribeiro Tomich³, Felipe Zandonadi Brandão⁵, Rita de Cássia Ferreira Tameirão Palhares¹, Alan Maia Borges⁶

¹Alunos de PG EV/UFMG; ²Profa. University Nevada/USA; ³Pesq. EMBRAPA CNPGL; ⁴Aluna UESB; ⁵Prof. UFF; ⁶Prof. EV/UFMG, Belo Horizonte, MG, Brasil.

*E-mail: adolfoperezfonseca.mvz@gmail.com

No Brasil, as fêmeas da raça Girolando, cruzamento Holandês e Gir (HG), são utilizadas para produção de leite por se adaptarem às condições tropicais e, também, como alternativa para incrementarem índices reprodutivos dos rebanhos. Objetivou-se avaliar parâmetros reprodutivos até a primeira concepção, incluindo idade e peso à puberdade, dinâmica folicular ovariana e ovulações, detecção de estros, resposta a protocolos hormonais e fertilidade. O experimento foi realizado na EMBRAPA-CNPGL e foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (n.3403210316). Em 35 novilhas F1HG semi-confinadas, a dinâmica folicular foi estudada durante um ciclo estral natural, após um estro induzido com prostaglandina F_{2α} (PGF_{2α}) e após protocolo com progesterona (P4) e estrógeno (E2). A observação de estro ocorreu três vezes ao dia (7:00 às 7:30h; 12:00 às 12:30h e 17:00 às 17:30h) e, após a detecção, as novilhas foram submetidas a exames ultrassonográficos a cada seis horas até ovulação e, posteriormente, uma vez ao dia durante todo o ciclo estral para caracterizar a dinâmica folicular ovariana e o intervalo estro-ovulação. Após o estro induzido com 150µg de PGF_{2α} foram realizados exames ultrassonográficos a cada seis horas até ovulação. Ao final do experimento utilizou-se protocolo a base de P4 e E2 visando inseminação artificial (IA) 12 horas após a detecção do estro, com sêmen de mesmo touro. Análises estatísticas (SAEG 9.1) foram aplicadas para as variáveis diâmetros de cornos uterinos e foliculares, levando-se em consideração o período de mensuração como variável independente, e médias foram comparadas por teste SNK a 5%. Os intervalos estro-ovulação e ovulatórios foram comparados em função tipo de estro (natural ou induzido), e o dia de início da luteólise, pelo teste F. O percentual de ciclos estrais com duas ou três ondas foliculares foi caracterizado de modo descritivo. A idade e peso à puberdade foram, em média, de 340,2 ± 27,6 dias e 342 ± 25,0 kg, respectivamente, que corresponde a 61,7% do peso adulto de uma fêmea F1HG. Os percentuais de detecção de estro foram de 94%, 84% e 100% para os estros naturais, induzidos com PGF_{2α} e após protocolo com P4, respectivamente. Os diâmetros dos cornos uterinos em novilhas pré-púberes, no estro e diestro foram de 14,7 ± 2,4, 17,22 ± 2,35 e 15,02 ± 1,7mm, respectivamente, diferindo (P<0,05) de novilhas púberes e entre as fases do estro e diestro. Nos ciclos estrais naturais verificou-se 60,6% e 39,4% de novilhas com três e duas ondas foliculares, respectivamente. Os intervalos de ovulações e diâmetros dos folículos ovulatórios diferiram (P<0,05) e foram de 18,8 ± 1,0 e 21,8 ± 1,8 dias e de 15,7 ± 1,4 e 14,7 ± 1,1 mm para novilhas com duas e três ondas, respectivamente. Os intervalos dos estros às ovulações não diferiram (P>0,05), sendo de 25,4 ± 4,1 e 25,3 ± 6,2h para estros naturais ou induzidos, respectivamente. O intervalo da aplicação da PGF_{2α} ao estro foi de 94,9 ± 29,8h. Houve diferença (P<0,05) na duração e o dia do início da regressão do corpo lúteo, de 15,4 ± 1,5 e 17,9 ± 2,0 dias e 15 ± 1,2 e 17,3 ± 2 dias para novilhas com duas e três ondas, respectivamente. A taxa de gestação à primeira IA foi de 80%, sem perdas embrionárias. Conclui-se que novilhas F1HG possuem capacidade de atingir a puberdade antes do primeiro ano de idade, e apresentam padrões de ondas foliculares semelhantes aos encontrados em animais puros de raças taurinas e zebuínas, além de alta fertilidade após um protocolo indutor de ovulação, seguido pela IA após detecção do estro.

Palavras-chave: dinâmica ovariana, puberdade, reprodução, fertilidade.

Keywords: ovarian dynamic, puberty, reproduction, fertility.

Efeito da vitamina E no sêmen congelado de touros Bonsmara

Effect of vitamin E on frozen semen in Bonsmara bulls

Pedro Augusto Alves Alcantara*, Marcelo George Mungai Chacur, Felipe Rydygier Ruediger, Fernanda Luiza Guinossi Barbosa Deak, Rafaela Bonatti Brambilla, Leandro Freitas Gedolin, Pedro Ivo Assis Manganaro

Laboratório de Reprodução Animal, Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente-SP, Brasil.

*E-mail: pedro.alcantara.a@hotmail.com

O uso da biotecnologia na reprodução da espécie bovina, em especial, a criopreservação de sêmen, é considerada como um dos pilares para o crescimento consistente da pecuária. A avaliação da qualidade do sêmen congelado de touros é importante para colaborar com a taxa de prenhez em programas de inseminação artificial com detecção de cios, inseminação artificial em tempo fixo, transferência de embriões e fertilização *in vitro*. Objetivou-se estudar o efeito na qualidade do sêmen de diferentes doses de vitamina E na composição de meios diluentes utilizados na congelação de ejaculados de touros da raça Bonsmara. Foram realizadas colheitas de sêmen por eletroejaculação (Autoejac®, Neovet, Brasil) em 25 touros aprovados no exame andrológico, segundo normas do Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA, 2013). Posteriormente, os 25 ejaculados foram alíquotados e congelados com os meios diluentes: meio 1 (TRIS); meio 2 (TRIS + 200 mM de vitamina E); e meio 3 (TRIS + 500 mM de vitamina E). As análises pós-descongelamento foram: motilidade espermática (%), vigor espermático (1 a 5) e defeitos espermáticos menores, maiores e totais em %. Os dados foram submetidos à análise de variância, teste de Tukey e correlação de Pearson, a 5%. As variáveis estudadas no sêmen pós-descongelado revelaram as seguintes médias: motilidade espermática com o meio 1 (46,47±18,79%); meio 2 (45,17±20,28%); e meio 3 (42,50±17,18%). Vigor espermático com o meio 1 (2,78±0,48); meio 2 (2,46±0,77); e meio 3 (2,43±0,69). Defeitos espermáticos menores: meio 1 (9,27±2,46%); meio 2 (8,93±2,12%); e meio 3 (8,93±2,39%). Defeitos espermáticos maiores: meio 1 (8,93± 3,31%); meio 2 (8,79±2,80%); e meio 3 (8,56± 2,96%). Não houve diferenças significativas ($P>0,05$) entre os três meios diluentes para as variáveis de motilidade, vigor e defeitos espermáticos. Concluiu-se que as diferentes concentrações de vitamina E adicionadas aos meios diluentes à base de TRIS, não influenciaram na melhoria das variáveis estudadas na pós-descongelamento do sêmen.

Palavras-chave: sêmen bovino, meio diluente, biotecnologia da reprodução.

Keywords: *bovine semen, extender, reproduction biotechnology.*

Análise de transcritos de receptores de interferon do tipo II em células polimorfonucleares do sangue periférico no início da gestação em novilhas Nelore

Analysis of type II interferon receptor transcripts in peripheral blood polymorphonuclear cells at the beginning of pregnancy in Nelore heifers

**Leonardo Marin Ferreira Pinto^{1*}, Gabriela Dalmaso de Melo², Igor Garcia Motta²,
Cecilia Constantino Rocha², Guilherme Pugliesi²**

¹Graduando de Medicina Veterinária, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA), USP, Pirassununga, SP, Brasil; ²Departamento de Reprodução Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, USP, Pirassununga, SP, Brasil.

*E-mail: leonardomfp@usp.br

O reconhecimento materno da gestação em bovinos depende da liberação de interferon-tau (IFNT) pelo concepto e sua ação em receptores em diversos tecidos para modulação da resposta imune materna e manutenção do corpo lúteo no período de perimplantação embrionária. Objetivou-se com o presente estudo analisar a abundância de um transcrito de receptor de IFNT do tipo II (IFNAR II) em células imunes polimorfonucleares do sangue periférico (PMNs) em novilhas Nelore no início da gestação. Vinte e nove novilhas (18-20 meses) tiveram seu ciclo estral sincronizado e foram submetidas a inseminação artificial em tempo fixo (IATF) no dia 0 (D0). O diagnóstico da gestação foi realizado pela ultrassonografia transretal nos D25 e 28, por meio da detecção da vesícula e batimentos cardíacos embrionários. Nos D 0, 10, 14, 16, 18 e 20 após a IATF, 25 ml de sangue foram colhidos em tubos heparinizados por punção da veia jugular para o isolamento de PMNs. O isolamento foi feito pelo gradiente Ficoll® Paque Plus (GE Healthcare), em um método adaptado (Jientaweeboon S et al. 2011.ReprodBiol and Endoc., 9:79-89). Amostras de 8 novilhas gestantes e 9 novilhas não gestantes foram submetidas à extração de RNA usando o kit Direct-Zol RNA Miniprep (Zymo Research) de acordo com as instruções do fabricante. Três genes de referência (GAPDH, PPIA e ACTB) foram quantificados por reação em cadeia da polimerase em tempo real (RT-qPCR), e por meio do software NormFinder, os dois genes com expressão mais estável (GAPDH e ACTB) foram selecionados. A expressão do gene alvo IFNAR II foi normalizada em relação aos dois genes de referência por meio do método comparativo de Ct. A abundância dos transcritos foi avaliada por análise de variância (ANOVA) com medidas repetidas de tempo, considerando o efeito aleatório da novilha e os efeitos fixos de grupo, dia e interação entre grupo e dia utilizando o software PROC MIXED do SAS (Versão 9.2; SAS Institute). Os resultados demonstraram que não houve diferença entre os grupos ($P=0,61$; $0,38\pm 0,04$ vs $0,44\pm 0,04$), e interação entre grupo e tempo ($P= 0,59$). Entretanto, foi detectado efeito de tempo ($P= 0,01$), caracterizado pelo aumento da abundância do transcrito para IFNAR II entre os D10 e D16, seguido de redução progressiva nos D18 e D20. O aumento na expressão neste período coincide com o início do período de reconhecimento materno da gestação, momento crítico para manutenção embrionária em função da inibição da liberação pelo útero de pulsos proeminentes de prostaglandina $F_{2\alpha}$ e consequente luteólise. Entretanto, há ausência de diferença entre os grupos gestantes e não-gestantes e interação entre grupo e tempo, indicam que o aumento na expressão do receptor de interferon do tipo II pode ser influenciado mais pelo perfil hormonal do que pela presença do concepto bovino. Mais estudos são necessários para elucidar as possíveis causas de alteração na expressão desse gene, entre elas, fatores endócrinos e moleculares. Conclui-se que não há diferença na expressão de IFNAR II entre novilhas gestantes e não gestantes no início da gestação, mas há aumento na expressão independente do status gestacional no D16 após a IATF, indicando que esse estímulo não é causado pela presença do concepto.

Acknowledgments: FAPESP (2015/10606-9; 2017/13472-9; 2018/25393-9).

Palavras-chave: interferon-tau, novilhas, polimorfonucleares, embrião, gestação.

Keywords: *interferon-tau, heifers, polymorphonuclear, embryo, pregnancy.*

Utilização de vitamina C e análogo da vitamina E na criopreservação do sêmen de bovinos pantaneiros

Use of vitamin C and vitamin E analogue on Pantaneiro breed bovine semen cryopreservation

**Everton Santos Souza^{1,*}, Tathiana Ferguson Motheo³, Luciana Keiko Hatamoto-Zervoudakis³,
Thaiany Oliveira Martins², Luiz Eduardo Senra e Silva¹**

¹Pós-graduando do Programa de Pós Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT), Cuiabá – MT; ²Graduanda de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Mato Grosso (UFMT), Cuiabá, MT, Brasil, ³Docente da Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Mato Grosso (UFMT), Cuiabá, MT, Brasil.

*E-mail: evertonsantosmedvet@gmail.com

O bovino pantaneiro (*Bos taurus taurus*) tem sua origem na Península Ibérica e foi introduzido no Brasil no período colonial. Ao longo dos séculos foi adquirindo características de rusticidade e resistência, as quais permitiram sua sobrevivência às condições adversas do Pantanal. Porém, com a introdução da raça Nelore na região, estes animais atualmente encontram-se ameaçados de extinção. O presente estudo teve como objetivo avaliar a qualidade espermática do sêmen criopreservado de touros do grupamento genético Pantaneiro após a suplementação do meio de criopreservação com vitamina C e análogo da vitamina E (Trolox[®]). Foram utilizados 5 touros Pantaneiros, em idade reprodutiva, provenientes da mesma propriedade, com condição corporal média de 3,5 (escala de 1,0 a 5,0, sendo 1,0 muito magro e 5,0 muito gordo) e livres de ectoparasitas. Os ejaculados foram coletados através do método de eletroejaculação e posteriormente diluídos em meio base composto de meio comercial Triladyl[®], gema de ovo e água miliQ (proporção 1:1:3, respectivamente). As amostras foram divididas em 4 tratamentos: Controle: meio base (MB) sem suplementação; TE: MB + 0,25 mM de Trolox[®]; TC: MB + 3,5 mg/mL de vitamina C; TEC: MB + 0,25 mM de Trolox[®] e 3,5 mg/mL de vitamina C. O sêmen foi envasado manualmente em palhetas de 0,5mL, onde a dose inseminante foi fixada em 20x10⁶ espermatozoides por palheta. O resfriamento foi realizado a 4°C/ 4 horas e em seguida, o processo de congelamento foi feito em vapor de nitrogênio (N₂) por 15 minutos. Em seguida, as palhetas foram imersas em N₂, e armazenadas em botijão criogênico até análise. O descongelamento foi realizado a 37°C/ 30 segundos e as amostras submetidas à análises de motilidade (MOT%), motilidade progressiva (MOTP%), velocidade média da trajetória (VAP), linearidade (LIN) e amplitude de deslocamento lateral da cabeça (ALH) por meio do sistema computadorizado de análise de sêmen (CASA). O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado e as médias analisadas através de análise de variância (ANOVA) e comparadas pelo teste de média de Tukey com nível de significância de 5%. A suplementação do meio diluidor com vitamina C, vitamina E e suas combinações, não alteraram (com níveis de significância P > 0,05) as características de movimento entre as variáveis analisadas quando comparadas ao grupo controle. Os resultados encontrados para MOT (%) foram: MB (14,8 ± 3,58), TE (9,80 ± 3,17), TC (9,50 ± 6,9) e TCE (7,90 ± 7,7); para MOTP (%) foram: MB (12,90 ± 7,4), TE (10,90 ± 2,5), TC (8,90 ± 6,7) e TCE (9,30 ± 6,8); para VAP (µm/s) foram: MB (67,8 ± 8,9), TE (67,6 ± 7,0), TC (65,9 ± 11,2) e TCE (71,8 ± 3,9), para LIN (%) foram: MB (52,6 ± 5,0), TE (51,0 ± 10,7), TC (43,0 ± 7,5) e TCE (45,8 ± 3,7); e para ALH (µm) foram: MB (5,4 ± 0,9), TE (6,1 ± 1,5), TC (6,3 ± 1,0) e TCE (6,3 ± 1,5). A partir dos resultados obtidos nas condições experimentais do presente trabalho, a suplementação do meio diluidor com vitamina C, vitamina E individualmente ou em combinações, não apresentou diferenças benéficas ou deletérias na qualidade espermática do sêmen criopreservado de bovinos pantaneiros.

Palavras-chave: espermatozoide, motilidade, tucura.

Keywords: sperm, motility, tucura.

O estresse térmico afeta as células espermáticas em bovinos: uma abordagem cronológica/temporal

Heat stress affects bovine sperm cells: a chronological/temporal approach

Laura Nataly Garcia-Oliveros, Rubens Paes de Arruda, Leonardo Batissaco, Vitor Hugo Guilger Gonzaga, Vinícius José Moreira Nogueira, Shirley Andrea Florez-Rodriguez, Flávia dos Santos Almeida, Maíra Bianchi Rodrigues Alves, Sâmara Cristine Costa Pinto, Marcilio Nichi, João Diego de Agostini Losano, Giulia Kiyomi Vechiato Kawai, Eneiva Carla Carvalho Celeghini*

Departamento de Reprodução Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

*E-mail: celeghin@usp.br.

O estresse térmico testicular afeta a qualidade e a fertilidade dos espermatozoides. No entanto, seu efeito cronológico ainda é desconhecido e é fundamental para fornecer informações que intervenham adequadamente. Este estudo tem como objetivo estabelecer os efeitos sequenciais causados pelo estresse térmico testicular sobre a qualidade espermática em touros. Para isso, foram utilizados 18 touros adultos da raça Nelore distribuídos em dois grupos: controle (CO) e estresse térmico testicular (HS, por insulação escrotal/96 horas) e submetidos a colheitas de amostras de sêmen e sangue em intervalos semanais. As amostras de sêmen foram avaliadas quanto à motilidade, morfologia, integridade das membranas plasmática e acrossomal, função da membrana mitocondrial, peroxidação lipídica e fragmentação do DNA. Os plasmas seminal e sanguíneo também foram avaliados quanto à peroxidação lipídica. Os dados foram analisados pelo programa *Statistical Analysis System* (SAS 9.3), considerando dois períodos e tempos diferentes: pré-estresse térmico testicular (-7 e -14 dias) e pós-estresse térmico testicular (0, 7, 14, 21 e 28 dias), sendo 0 o dia da retirada da bolsa. As variáveis foram submetidas ao procedimento MIXED, adicionando o fator tempo usando-se o comando REPEATED. Foi considerado o valor de $p \leq 0,05$. Os grupos foram similares no período pré-estresse térmico testicular. No entanto, no período pós-estresse térmico notou-se efeito do tempo. A análise temporal mostrou que os defeitos morfológicos espermáticos são as primeiras alterações notadas no sêmen após o estresse térmico. Verificou-se aumento dos defeitos no grupo HS em relação ao grupo CO a partir de 7 dias após o estresse térmico testicular ($26,66 \pm 4,93 \times 11,11 \pm 6,01\%$), sendo que este aumento se manteve nos dias 14 ($49,33 \pm 7,06 \times 13,22 \pm 8,25\%$), 21 ($57,56 \pm 9,25 \times 7,94 \pm 4,44\%$) e 28 ($52,25 \pm 9,88 \times 15,75 \pm 10,79\%$). Foi observado aumento da peroxidação lipídica espermática ($8.218.015,96 \pm 916.195,82 \times 4.017.975,24 \pm 956.794,73$) e do plasma seminal ($239,03 \pm 110,66 \times 97,50 \pm 7,33$) no dia 14 no grupo HS quando comparado ao grupo CO. O potencial de membrana mitocondrial apresentou redução no dia 14 para o grupo HS ($70,94 \pm 6,19\%$) em relação ao CO ($87,39 \pm 2,54\%$) e subsequentemente houve queda da integridade da membrana plasmática no dia 21 (HS: $39,68 \pm 8,72$ e CO: $73,51 \pm 4,62$), assim como aumento da fragmentação do DNA no dia 28 (HS: $6,62 \pm 4,99$ e CO: 0 ± 0). A peroxidação lipídica tanto no espermatozoide quanto no plasma seminal sugere a presença de estresse oxidativo no sêmen promovido pelo estresse térmico testicular, evidenciando que os efeitos cronológicos do estresse térmico testicular são precedidos por alterações na peroxidação lipídica e na função mitocondrial, seguidas por alterações na integridade da membrana plasmática e após da fragmentação do DNA. Além disso, devido ao baixo custo, facilidade de execução e eficiência das técnicas, as ferramentas aplicadas no presente estudo podem ser utilizadas em análises rotineiras de sêmen, melhorando o diagnóstico do potencial de fertilização espermática.

Palavras-chave: espermatozoide, plasma seminal, degeneração testicular, peroxidação lipídica, TBARs.

Keywords: spermatozoa, seminal plasma, testicular degeneration, lipid peroxidation, TBARs.



Efeito do tratamento exógeno de melatonina sobre a recuperação da injúria testicular por estresse térmico em touros

Effect of exogenous melatonin treatment on the recovery of testicular injury from thermal stress in bulls

Leonardo Batissaco, Rubens Paes de Arruda, Laura Nataly Garcia-Oliveros, Vitor Hugo Guilger Gonzaga, Vinícius José Moreira Nogueira, Shirley Andrea Florez-Rodriguez, Flávia dos Santos Almeida, Maíra Bianchi Rodrigues Alves, Sâmara Cristine Costa Pinto, Gabriela Marques de Rezende e Eneiva Carla Carvalho Celeghini*

Departamento de Reprodução Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

*E-mail: celeghin@usp.br

O estresse térmico testicular leva a uma série de alterações na homeostase testicular, culminando na queda da qualidade espermática e, conseqüentemente, na fertilidade. Diversos tratamentos têm sido estudados a fim de reduzir o tempo de retomada da qualidade espermática. A melatonina tem alto potencial como tratamento, devido a seu alto fator antioxidante, além de atuar na proteção ao DNA espermático e na regulação da apoptose. O presente estudo teve por objetivo avaliar os efeitos do tratamento exógeno com melatonina de longa ação sobre a recuperação do quadro de degeneração testicular em touros da raça Nelore. Para tal foi avaliado o tratamento com melatonina sobre a degeneração testicular em touros, utilizando dose pré-estabelecida de 18mg/50 kg de peso vivo. A degeneração testicular foi induzida pela colocação de bolsas insuladoras por 96 horas. Foram utilizados 24 touros da raça Nelore distribuídos em quatro grupos: CON - touros não induzidos à degeneração testicular e não tratados (n=6); DT - touros induzidos à degeneração testicular e não tratados (n=6); ME - touros não induzidos à degeneração testicular e tratados com melatonina exógena (n=6); e DTME - touros induzidos à degeneração testicular e tratados com melatonina exógena (n=6). Foram realizadas colheitas de sêmen e sangue semanalmente, iniciando-se duas semanas antes da colocação das bolsas testiculares; no dia da retirada; e por mais 11 semanas após. Foram analisadas as características clínicas, tais como perímetro escrotal, consistência testicular, homogeneidade testicular (presença de pontos hipercóicos) e hemodinâmica do parênquima e plexo pampiniforme e índice de resistência vascular. As características seminais avaliadas foram volume, concentração, motilidade e vigor subjetivos, análise computadorizada dos espermatozoides, membranas plasmáticas, acrossomal e mitocondrial, morfologia espermática, peroxidação lipídica e bioquímica do sêmen. O plasma sanguíneo foi utilizado para avaliar a peroxidação lipídica e componentes bioquímicos (proteína total, albumina, GGT, AST, ALT, creatina quinase, triglicérides, colesterol, HDL, BHB e NEFA). Os dados foram analisados utilizando o software Statistical Analysis System, pela ANOVA, adicionando-se o fator medidas repetidas no tempo. As probabilidades de interações ao longo do tempo foram determinadas pelo comando RANDOM (PROC GLIMMIX do SAS), com nível de significância de 5%. A insulação provocou queda na consistência testicular, motilidade, integridade das membranas plasmática e acrossomal e no potencial de membrana mitocondrial, bem como aumentou os defeitos espermáticos e a peroxidação lipídica. O tratamento com melatonina não mostrou influência sobre as características clínicas; contudo, apresentou melhora no vigor ($p=0.05$), na motilidade total ($p=0.05$) e no potencial mitocondrial ($p=0.003$) 15 dias após a aplicação da melatonina. Além disso, a melatonina diminuiu os valores de HDL, colesterol e BHB séricos. O tratamento da degeneração testicular em touros (28 dias após a insulação) utilizando melatonina exógena em veículo de liberação lenta, na dose de 18 mg/kg, é eficiente em melhorar características de vigor, motilidade e potencial mitocondrial espermático.

Palavras-chave: melatonina, estresse térmico, bovinos, sêmen.

Keywords: melatonin, heat stress, bovine, semen.



Efeito de um diluidor à base de *Aloe vera* na membrana plasmática de espermatozoides epididimários bovino sob curva de refrigeração

The effect of Aloe vera-based extender on plasma membrane of epididymal bovine spermatozoa in cooled-curve

Camilla Flávia Avelino de Farias¹, André Luiz Pereira Tork², Sildivane Valcácia Silva^{3,*}

¹Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal - Universidade Federal da Paraíba, Areia, PB;

²Graduando do Bacharelado em Biotecnologia, Centro de Biotecnologia - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB; ³Docente do Bacharelado em Biotecnologia (CBIOTEC/UFPB) e do Programa de Pós-Graduação em

Ciência Animal (PPGCAn/UFPB), João Pessoa, PB, Brasil.

*E-mail: sildivane@cbiotec.ufpb.br

Para aumentar a eficácia da criopreservação de gametas, diluidores são adicionados com substâncias capazes de proteger a estrutura dos espermatozoides das crioinjúrias provenientes de baixas temperaturas. A *Aloe vera* (AV) é formada, em sua maioria, por água e fração sólida composta por açúcares, saponinas, enzimas, ácidos salicílicos, aminoácidos, esteróis e vitaminas, que pode ser uma possível fonte substituta à gema de ovo, um substrato de origem animal. Desta forma, objetivou-se testar diferentes concentrações de AV para produção de um diluidor à base de origem vegetal para refrigeração de espermatozoides epididimários bovinos. Amostras obtidas de epidídimos bovinos foram recuperadas e homogeneizadas para formação do *pool*. Quatro grupos experimentais foram formados: GC=Grupo Controle (Tris tampão com 20% de gema, meio comercial utilizado para a criopreservação de sêmen bovino); G5=5% de AV+Tris; G10=10% de AV+Tris; G20=20% de AV+Tris. As amostras foram submetidas às avaliações de integridade e funcionalidade da membrana plasmática através, respectivamente, do teste de dupla coloração com eosina-nigrosina e o teste hiposmótico (HOST) nos períodos T0, após formação dos grupos, e T2, ao atingir 5 °C após curva de refrigeração. Este experimento foi realizado quatro vezes, em duplicata. Os dados foram submetidos à Análise de Variância, seguido de Teste de Tukey, com nível de significância de 5%. Não houve diferença significativa ($P>0,05$) entre o GC e os grupos AV para a integridade (GC: T0=84,40±7,68 e T2=79,90±7,49; G5: T0=87,70±7,56 e T2=83,70±4,96; G10: T0=82,70±9,23 e T2=82,00±4,62; G20: T0=88,60±6,80 e T2=80,60±6,40) e funcionalidade (GC: T0=75,00±12,18 e T2=69,08±11,92; G5: T0=64,50±14,43 e T2=60,25±11,67; G10: T0=63,75±17,30 e T2=56,83±7,79; G20: T0=60,75±16,11 e T2=66,41±11,67) da membrana plasmática. Os componentes bioativos presentes nos grupos contendo AV como colesterol e fitoesterol, aminoácidos, vitaminas e enzimas que contém ação antioxidantes protegeram os espermatozoides a baixas temperaturas, mantendo a integridade e funcionalidade da membrana plasmática. Baseado no exposto, conclui-se que a adição do extrato bruto da *Aloe vera* interfere positivamente na integridade e funcionalidade da membrana plasmática de espermatozoides epididimários de bovino submetidos à refrigeração. Estudos continuados vêm sendo realizados para identificação dos componentes presentes no extrato bruto da *Aloe vera* que atuam efetivamente na proteção da membrana plasmática durante o processo de criopreservação espermática.

Palavras-chave: *Aloe vera*, criopreservação, epidídimo.

Keywords: *Aloe vera*, cryopreservation, epididymis.



Postpartum vaginal citology evaluation of primiparous females of the Gir dairy cattle
Avaliação da citologia vaginal no período de pós parto em fêmeas Gir leiteiro

**Giovanna de Moraes Rizzo¹, Bruna Isabella Reis Cesário², Emmanuel Arnhold³,
André Penido Oliveira⁴, João Paulo Elsen Saut⁵, Alice Maria Melville Paiva Della Libera¹,
Paula Maria Pires do Nascimento-Penido^{1,3,*}**

¹Veterinary Clinical Immunology Research Group – Veterinary Clinic, Veterinary Medicine and Zootechny College, São Paulo University; ²College Associates of Uberaba; ³Veterinary and Zootechny School, Goiás Federal University; ⁴Agricultural Research Company of Minas Gerais; ⁵Large Animals Health Laboratory, Medical Clinic Department, Uberlândia Federal University, Uberlândia, MG, Brasil.

*E-mail: paulampn@gmail.com

Zebu breeds is the most of important percentage of cattle in Brazil with the Gir dairy cattle being the most commonly used in crossbreeding with European breeds to the milk production. The puerperal period goes from birth to the first estrous cycle compatible with a new pregnancy. This phase plays, therefore, an important role in the indexes of reproductive efficiency of a herd. After calving, the uterus needs to go back to its previous state for a new conception to be likely to occur. This will only be possible, however, through the uterine involution process. Vaginal citology is one of the main methods used to evaluate the postpartum uterine environment. Thus, this work aims to monitor vaginal cytology during the puerperal period of primiparous Gir milk cows. 23 females with an average age of 24 months and a body condition score of $3,5 \pm 0,25$ were monitored. Samples were collected from postpartum day 7 to 56 once a week, which totaled 8 recovery. The vaginal content was collected through the cytobrush technique, spread onto slide and stained by panoptic technic. A 40x magnification microscope was used to study the content and 100 cells were found on each slide by a same observer. Uterine cells (basal, parabasal, young intermediate, old intermediate, nuclear superficial and anuclear superficial) as well as neutrophils were counted. It was possible to observe that both basal and parabasal cells as well as neutrophils were predominant at the beginning of postpartum and faded over time. Intermediate cells, on the other hand, continuously grew throughout the days of observation. From postpartum day 7 to 14, the predominance of basal and paranasal cells was compatible with the anestrous phase these animals were experiencing, as it is known that these cells are the first layer of the stratified uterine epithelium. With regard to a presence of neutrophils up to day 21, this decrease was exactly what had been expected, given that a persistence of these immune system cells in the uterine environment for a long period of time after calving may indicate subclinical endometritis. Finally, from day 21 to 56, the number of young and old intermediate cells, which signal proestrus or metaestrus, significantly grew, demonstrating a possible return of the females to heat. The findings of this study makes us infer that vaginal cytology is the most reliable method to help determine the estrous cycle phase of primiparous females of the Gir milk cattle breed during postpartum period.

Keywords: puerperium, uterine desquamation cells, zebu cattle.

Palavras-chave: puerpério, células de descamação uterina, zebu.

Utilização de antioxidante na avaliação da congelabilidade de espermatozoide da cauda do epidídimo de bovinos

Use of antioxidant in the evaluation of the freezing of spermatozoa of the epididymis bulls

Gabriela Passamani da Cruz¹, Carlos Renato de Freitas Guaitolini¹, Ana Paula Zanfrilli dos Santos¹, André Maciel Crespilho², José Antônio Dell'Aqua Junior³, Maycon Araujo Ruivo⁴, Amanda Formigoni da Silva¹, Ricardo Magalhães¹, Danielle Andressa Oliveira Sestari¹, Maria Isabel Mello Martins⁵, Ana Beatriz Marques⁵, Myrian Megumy Tsunokawa Hidalgo⁵, **Rosiara Rosaria Dias Maziero^{1,*}**

¹Universidade Paranaense, Umuarama, PR, Brasil; ²Universidade de Santo Amaro, São Paulo, SP, Brasil; ³Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, SP, Brasil; ⁴Cooperativa Agropecuária Caiuá; ⁵Universidade Estadual de Londrina.

*E-mail: rosiaramaziero@prof.unipar.br

A recuperação de espermatozoides da cauda do epidídimo é uma biotécnica reprodutiva em crescente ascensão. Entretanto, é importante que exista a viabilidade dos espermatozoides após a morte do animal, para o sucesso desta biotecnologia. Assim, este estudo tem como objetivo avaliar o efeito da melatonina, adicionada a meio diluidor de congelação comercial, sobre a viabilidade dos espermatozoides da cauda do epidídimo de bovinos. A melatonina é o maior removedor de moléculas reativas, tanto à base de oxigênio, quanto nitrogênio. Além disto, elimina os produtos da decomposição de peroxinitritos, possui alta eficiência como removedor dos radicais hidroxila, peroxila, assim como, do ânion superóxido, peróxido de hidrogênio, ácido hipocloroso e óxido nítrico. A melatonina pode, ainda, estimular a atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase, catalase, glutathione peroxidase e glutathione reductase. Portanto, além de reduzir o número de radicais livres e ROS, também aumenta a produção de outras moléculas que protegem as células espermáticas do estresse oxidativo. Para tanto, foram realizadas 5 rotinas, cada uma delas composta por 8 epidídimos, recuperados de touros adultos, da raça Angus, abatidos em frigorífico da cidade de Umuarama, Paraná. Para a obtenção de espermatozoides, da cauda do epidídimo, foi realizada o fatiamento desta estrutura em placa de vidro, contendo meio diluidor comercial para congelação Botubov® (Botupharma Biotecnologia Animal). As amostras colhidas foram divididas em 4 grupos, com concentração de 80×10^6 espermatozoides por mL. No grupo 1, as amostras foram diluídas diretamente em meio de congelação comercial Botubov®. No grupo 2, as amostras foram centrifugadas a 600 g por 10 minutos e em seguida, o pellet foi ressuscitado em meio de congelação comercial Botubov®. No grupo 3, as amostras foram diluídas diretamente em meio de congelação comercial Botubov®, contendo melatonina na concentração de 100 pM. Já no grupo 4, as amostras foram centrifugadas a 600 g por 10 minutos e em seguida, o pellet foi ressuscitado em meio de congelação comercial Botubov®, acrescida de melatonina na concentração de 100 pM. Em seguida, as amostras foram envasadas em palhetas de 0,5 mL com concentração de 40×10^6 espermatozoides viáveis. Ato contínuo, as amostras permaneceram por 4 hora em estabilização a 5°C. Logo após, transferidas para o vapor de nitrogênio durante 20 minutos, e por fim, mergulhadas em nitrogênio e armazenadas em botijão criogênico. As palhetas foram descongeladas a 46°C por 15 segundos. Foram avaliados os parâmetros de cinética espermática. Não houve diferença nos parâmetros de motilidade total (MT, %), motilidade progressiva (MP, %), velocidade linear progressiva (VSL; $\mu\text{m/s}$), velocidade curvilínea (VCL; $\mu\text{m/s}$), linearidade (%) e percentagem de espermatozoides rápidos (%) entre os grupos estudados. Porém, observou-se diferença entre as rotinas realizadas. Estes dados demonstram que, o protocolo para congelação de espermatozoide da cauda de epidídimos bovinos é aplicável, entretanto, existe influência dos epidídimos utilizados, para a melhor eficácia desta biotecnologia.

Palavras-chave: cinética espermáticas, cauda do epidídimo, congelação, touros.

Keywords: cauda epididymis, dogs, freezing, sperm analysis.

Parâmetros seminais pós descongelamento de touros Nelore suplementados com óleo de soja e palma

Nelore bulls' post-thaw seminal parameters supplemented with soybean oil and palm

Pedro Paulo Tsuneda¹, Daniel Nobre Maia^{2,*}, Luciana Keiko Hatamoto Zervoudakis³,
Joanis Tilemahos Zervoudakis³, Tathiana Ferguson Motheo³,
Walter Augusto dos Santos Marinho¹, Joana de Medeiros Farias¹,
João Diego de Agostini Losano⁴, Marcilio Nichi⁴, Adriano Felipe Perez Siqueira⁴

¹Pós-graduando do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT), Cuiabá, MT; ²Graduando de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Mato Grosso (UFMT), Cuiabá, MT, Brasil; ³Docente da Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Mato Grosso (UFMT), Cuiabá, MT, Brasil; ⁴Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil.

*E-mail: danielnobremaia@hotmail.com

O processo de saponificação com sais de cálcio demonstra-se eficaz na proteção lipídica frente à hidrólise e biohidrogenação causada pela microbiota ruminal e permite maior absorção no duodeno. Ácidos graxos poli-insaturados, presentes nos óleos de soja e palma, podem interferir positivamente no perfil lipídico da membrana plasmática do espermatozoide, auxiliar na manutenção da sua integridade, viabilidade e promover maior resistência ao processo de criopreservação. O objetivo do estudo foi avaliar os parâmetros de espermatozoides pós descongelados de touros suplementados com gordura protegida. Foram utilizados 24 touros da raça Nelore com peso médio de 389.5 ± 20 kg e idade média de 15 meses. Todos os animais receberam dietas isoproteicas e isoenergéticas em sistema semi-intensivo a pasto *Brachiaria brizantha* cv. Marandú e suplementação controle composta por resíduos de destilaria (DDGS), farelo de milho e farelo de soja, acrescidos, ou não, de gordura protegida. Os animais foram divididos em 2 grupos (n=12): controle (CO, suplemento controle) e associação (OP+OS, suplemento controle + 145 g de gordura de soja protegida + 145 g de palma protegida). Após 84 dias de suplementação foi realizada a coleta de sêmen através do método de eletroejaculação. Os ejaculados foram diluídos em meio comercial Triladyl[®] (Minitub German) e envasados em palhetas de 0,5mL com concentração de 30×10^6 espermatozoides viáveis por palheta. O resfriamento foi realizado a 4°C/ 4 horas e em seguida, o processo de congelamento foi feito em vapor de nitrogênio (N₂) por 15 minutos. Em seguida, as palhetas foram imersas em N₂, armazenadas em botijão criogênico e descongeladas a 37°C/ 30 segundos. Com o uso de sondas fluorescentes e análise em citômetro de fluxo avaliou-se: a integridade das membranas plasmática e acrossomal (iodeto de propídeo (PI) + isotiocianato de fluoresceína Aglutinina de Pisum Sativum (FITC-PSA)); potencial de membrana mitocondrial (cloreto de 5,5', 6,6'-tetracloro-1,1', 3,3' tetraetilbenzimidazolilcarbocianina (JC-1)); desnaturação do DNA espermático (Laranja Acridina (LA)) e quantificação de radicais livres intracelulares (CellROX). Utilizou-se o programa estatístico SAS (versão 9.3) e análise através da ANOVA (análise de variância) utilizando 5% como nível de significância para todas as avaliações. Não observou-se diferença significativa (P < 0,05) da suplementação com gorduras protegidas nas variáveis analisadas.

Palavras chave: citômetro de fluxo, gordura protegida, andrologia.

Keywords: flow cytometer, protected fat, andrology.

Caracterização da pluripotência na reprogramação de células bovinas

Characterization of pluripotency in reprogramming bovine cells

**Brendon Willian Bessi^{1*}, Ramon Cesar Botigelli², Raquel Vasconcelos Guimarães de Castro²,
Kaiana Recchia³, Naira Caroline Godoy Pieri³, Aline Fernanda de Souza³,
Fabiana Fernandes Bressan^{1,3}**

¹Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo; ²Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”; ³Faculdade Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São, SP, Brasil.

*E-mail: brendon.bessi@usp.br

Em 2006, através de um mecanismo retroviral inserindo 4 fatores exógenos (Oct4, Sox2, Klf4 e c-Myc – OSKM) foi possível realizar com sucesso a reprogramação de fibroblastos embrionários murinos em células similares às células tronco embrionárias (ESCs), assim, estas células reprogramadas *in vitro* foram denominadas como iPSCs (*Induced Pluripotent Stem Cells*). Com o decorrer dos anos, esta tecnologia foi aplicada com sucesso em animais domésticos, como os bovinos, possibilitando novas oportunidades para estudos sobre o desenvolvimento embrionário e diferenciações celulares. Entretanto, diversos questionamentos ainda encontram-se sem respostas quanto ao nível de pluripotência e a capacidade de diferenciação destas linhagens de iPSCs isoladas. Com o objetivo de aperfeiçoar o processo de reprogramação quanto ao nível de pluripotência das células reprogramadas, recentes trabalhos relatam a utilização de combinações de inibidores da diferenciação celular, como *Fibroblast Growth Factors* (bFGF), *Leukemia Inhibitory Factor* (LIF) e 2i. O bFGF realiza a ativação e fosforilação da tirosina dos receptores de FGFs (FGFRs), regulando a autorrenovação, metabolismo, sobrevivência, proliferação e diferenciação celular. Já o LIF possui atividade inibidora da diferenciação em iPSCs e estimula a autorrenovação, direcionando-as para pluripotência, e os inibidores de diferenciação 2i que regulam a manutenção da pluripotência *naive*. Neste trabalho o objetivo foi comparar os efeitos dos inibidores da diferenciação celular durante o processo de indução a pluripotência. Assim, fibroblastos fetais bovinos foram induzidos à pluripotência com o mecanismo lentiviral para expressão dos vetores exógenos murinos OSKM, cultivadas em triplicatas biológicas com 2 grupos de suplementação diferentes de inibidores da diferenciação (bFGF ou bFGF + LIF + 2i, FL2i). Através da expressão dos fatores mOSKM, foi possível a gerar colônias de iPSCs bovinas viáveis em ambos tratamentos avaliados, onde as colônias apresentavam morfologia característica de colônias de ESCs, borda definida e alta razão núcleo/citoplasma. Ainda, colônias foram isoladas e testadas para fosfatase alcalina (FA), onde todas as colônias se mostram positivas, indicando similaridades com as células tronco embrionárias. Foram analisadas as Abundâncias Relativas de mRNAs (ARmRNAs) de transcritos marcadores de pluripotência *naive* (SOX2, NANOG, STELLA, OCT4) e *primed* (SOX2, OCT4), além da expressão do vetor exógeno (mOSKM) e FGF5 que indica a diferenciação, nas passagens 5 e 10. Todos os transcritos foram detectados, notou-se maior ARmRNAs de OCT4, NANOG, STELLA no tratamento FGF em relação a FL2i, no entanto a diferença não foi significativa, provavelmente ao elevado erro padrão o que é esperado entre diferentes linhagens iPSCs, por serem clonais. As ARmRNAs de SOX2, foram maiores em FL2i em relação a FGF, quando analisado em passagem 10, possuindo diferença estatística. Entre as passagens 5 e 10 do tratamento FGF, observou-se uma diminuição das ARmRNAs do mOSKM. Até o presente momento é possível concluir que é possível reprogramar fibroblastos fetais bovinos utilizando mOSKM e que após a reprogramação as colônias formadas apresentam característica de pluripotência similares a colônias de ESCs, e ainda, estas colônias se mantiveram viáveis por um mínimo de 10 passagens *in vitro* até o momento. Continuaremos o cultivo, a afim de observar as diferenças em passagens maiores.

Palavras-chave: iPSC, pluripotência, suplementação, bovinos.

Keywords: iPSC, pluripotency, supplementation, cattle.

Efeito da suplementação de metionina sobre a temperatura interna e o desenvolvimento folicular em vacas de corte lactantes submetidas a protocolo de IATF

Effect of methionine supplementation on internal temperature and follicular development in lactating dairy cows submitted to a FTAI protocol

**Lucas Balinhas Farias^{1,*}, Matheus Gomes Lopes¹, Gabriel Weizenmann Fernandes¹,
Matheus Wrege Meireles Barbosa¹, Edgard Gonçalves Malaguez¹, Fernanda Lopes²,
Cássio Cassal Brauner¹, Marcio Nunes Corrêa¹, Eduardo Schmitt¹**

¹NUPEEC: Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, Brasil; ²Adisseo Brasil Nutrição Animal, São Paulo, SP, Brasil

*E-mail: lucasbalinhas@gmail.com

Estudos demonstram que animais submetidos ao estresse térmico utilizam a proteólise como rota energética. Baseado nestas evidências, este trabalho avaliou o efeito da suplementação de metionina protegida sobre a temperatura interna e o desenvolvimento folicular em vacas de corte lactantes, submetidas a protocolo de IATF. O experimento ocorreu em uma fazenda comercial, localizada no município de Tapes, RS, Brasil. Durante os meses de dezembro de 2018 e fevereiro de 2019, foram selecionadas 150 vacas da raça Aberdeen Angus, com 25 a 40 dias pós-parto, distribuídas em dois grupos de acordo com escore de condição corporal (ECC) (escala de 1-5) e ordem de parto. O Grupo Controle (GC) (ECC de 2,5 (4); 2,75 (33); 3 (26); 3,25 (7); 3,5 (3); e 3,75 (2), n=75) foi mantido em pastagem nativa com acesso a suplementação mineral comercial *ad libitum* e o Grupo Metionina (GM) (ECC de 2,5 (4); 2,75 (33); 3 (26); 3,25 (7); 3,5 (3); e 3,75 (2), n=75), mantido sob as mesmas condições, sendo adicionado ao suplemento mineral a metionina protegida (Smartamine[®] M, Adisseo, França). A suplementação para os dois grupos teve início 25 dias antes do protocolo de IATF e término no diagnóstico de gestação 30 dias pós-IATF, o consumo foi monitorado a cada 7 dias até o final do experimento. Os dados climáticos foram obtidos através de uma estação meteorológica móvel (Instrutemp[®] ITWH-1080, Instrutemp, Brasil) e foi calculado o índice de temperatura e umidade (THI - *Temperature Humidity Index*). O protocolo de sincronização utilizado foi: D0 DIV de progesterona 1,00 g (Primer[®]) e 2,00 mg de BE (RIC-BE[®]); D8 remoção do DIV e 0,15 mg de D-cloprostenol (Prolise[®]) e remoção dos bezerras. No D9 1,00 mg de BE e IATF 30 horas após (D10). Entre D0 e D8, a temperatura interna dos animais foi monitorada através de um termômetro *data logger* (Ibutton[®], ThermoChron, USA), acoplado ao DIV. Nos dias 8, 9 e 10 do protocolo foram realizados exames ultrassonográficos por via transretal para avaliação do desenvolvimento folicular, em que se registrou o diâmetro máximo do maior folículo presente em cada ovário. As análises estatísticas para temperatura interna e desenvolvimento folicular foram realizadas utilizando o modelo de medidas repetidas *Proc Mixed Models* através do software SAS Studio[®] (SAS Institute Inc., Cary, USA) utilizando como variáveis fixas grupo e data e como variável resposta a temperatura interna (°C) e o diâmetro folicular (mm). O consumo médio diário de suplemento garantiu um consumo mínimo de 6 g de Smartamine[®] M/dia. O GM, ao final do período obteve menor temperatura interna comparado ao GC (38,90±0,42 vs. 38,93±0,44, P≤0,0001). Nos dias D1 e D2, momentos onde foram registrados os maiores THI, o GM apresentou menor média de temperatura interna ao longo dos dias (P≤0,0001), assim como uma interação entre tempo e tratamento (P≤0,0001). Na avaliação do desenvolvimento folicular no D10 o GM apresentou maior diâmetro (P≤0,05) (17,17±0,62 vs. 14±0,59). Os resultados obtidos neste estudo demonstram que vacas de corte lactantes suplementadas com metionina protegida têm menor temperatura interna e maior desenvolvimento folicular ao final do protocolo de IATF, em períodos de alta temperatura e umidade.

Palavras-chaves: aminoácidos, reprodução, bovinos.

Keywords: amino acids, reproduction, bovine.

Influence of diluents and transport systems on kinetics, oxidative stress, and integrity of sperm membranes in zebu bulls

Influência de diluentes e sistemas de transporte na cinética, estresse oxidativo e integridade de membranas espermáticas em touros zebuínos

Marcelo George Mungai Chacur^{1,*}, Camila Dutra de Souza¹, Fernanda Luisa Barbosa Guinossi Deak¹, Talita Raquel Cavichioli Sebastião¹, Gabriela Figueredo Cornacini¹, Willian Mituzi Tateisi¹, Pedro Augusto Alves Alcantara¹, Elyn Amanda Fonseca Martins¹, Camila de Paula Freitas Dell'Aqua², Frederico Ozanam Papa², Rogério Antônio de Oliveira³

¹Professor, Laboratório de Reprodução Animal, Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE), Pres. Prudente - SP, Brasil; ¹Ex-alunos de Graduação e de Pós-Graduação (UNOESTE); ²Professores, Laboratório CERAN, Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, SP, Brasil; ³Professor, Departamento de Bioestatística, Instituto de Biociências (IBB-UNESP), Botucatu, SP, Brasil.

*E-mail: marcelo.chacur@uol.com.br

The objectives of this study were to (1) assess the quality of refrigerated bovine semen, diluted in TRIS and BotuBOV[®] extenders and transported for 3 h via the BotuBOX[®] and BotuFLEX[®] refrigerated transport systems, and (2) evaluate the spermatic kinetics, oxidative stress, mitochondrial potential, and cell membrane and acrosomal integrity of bovine semen after freeze-thawing. The semen of six Nellore (*Bos taurus indicus*) bulls was cooled and frozen in two extenders, TRIS and BotuBOV[®], and transported via two refrigerated systems, BotuBOX[®] and BotuFLEX[®]. In the refrigerated semen sample, subjective analyses of sperm motility (MOT) and vigor were undertaken and, using the frozen-thawed sample, computer-assisted sperm analysis and flow cytometry were utilized for evaluation of the integrity of the plasma membrane and acrosomal semen (IPAM), production of superoxide (O₂⁻), and integrity of cells (IC). The MOT in samples diluted in BotuBOV[®] extender and transported via the BotuFLEX[®] system (69.4%) and samples diluted in TRIS extender and transported via the BotuFLEX[®] system (62.9%) were higher ($P < 0.05$) than that of samples diluted in TRIS extender and transported via the BotuBOX[®] system. The highest ($P < 0.05$) MOT (45.9%), total sperm motility (47.3%), progressive motility (37%), IPAM (29%), and IC (19.8%), and lowest production of O₂⁻ (82%) were found in the frozen-thawed samples diluted in the BotuBOV[®] extender and transported via the BotuFLEX[®] system. Thus, the semen diluted in BotuBOV[®] extender and transported via BotuBOX[®] or BotuFLEX[®] systems, as well as semen diluted in TRIS extender and transported via the BotuFLEX[®] system maintained feasibility to use refrigerated semen, as well as employment for later freezing. Use of the BotuBOV[®] extender and BotuFLEX[®] refrigerated transport system yielded optimal results for the frozen semen in terms of kinetic parameters, integrity of plasma and acrosomal membranes, and oxidative stress reduction.

Keywords: bovine, CASA, flow cytometry, cryopreservation, semen extenders.

Palavras-chave: bovino, CASA, citometria de fluxo, criopreservação, extensores de sêmen.



Avaliação do volume testicular e da temperatura da pele do escroto com termografia infravermelha em bovinos Bonsmara dos oito aos 16 meses

Evaluation of testicular volume and scrotum skin temperature with infrared thermography in Bonsmara with 8-16 months

Fernanda Luiza Guinossi Barbosa Deak*, Felipe Rydygier de Ruediger,
Pedro Augusto Alves Alcantara, Rafaela Bonatti Brambilla, Leandro de Freitas Gedolin,
Pedro Ivo de Assis Manganaro, Marcelo George Mungai Chacur

Laboratory of Animal Reproduction, Faculty of Agrarian Sciences, Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE),
Presidente Prudente, SP, Brasil.

*E-mail: fernandadeak@hotmail.com

O objetivo deste estudo foi avaliar o crescimento dos testículos e as temperaturas da pele do escroto com termografia infravermelha de bovinos da raça Bonsmara. Vinte e um bovinos foram avaliados mensalmente dos oito aos 16 meses de idade, calculando-se o volume testicular (VT) através da equação: $VT = 0,0396 \times (\text{Média dos Comprimentos dos Testículos}) \times (\text{Circunferência Escrotal})^2$ e mensurando-se a temperatura da superfície da pele do escroto com termografia infravermelha (Flir, E40®), totalizando nove meses de experimento (275 dias). Os dados foram submetidos à análise de variância, teste de Tukey a 5% e correlação de Pearson a 5%. Como resultados, correlações significativas ($P < 0,01$) foram encontradas entre peso e idade (0,76), idade e volume testicular (0,80) e volume testicular e peso (0,75). Para o volume testicular, houve diferença significativa ($P < 0,05$), entre 15 ($379,41 \pm 72,3$ mL) e 16 meses ($467,8 \pm 101,4$ mL). A partir de 11 meses, a temperatura da pele do escroto teve média de $2,2$ °C a menos na pele da cauda dos epidídimos ($32,3 \pm 0,47$ °C), em relação a temperatura da pele na região do cordão espermático ($34,5 \pm 1,23$ °C). Conclui-se que a partir dos 11 meses de idade, a termorregulação testicular se fez presente com queda gradual da temperatura da pele do escroto desde a região dos cordões espermáticos até as caudas dos epidídimos. O volume testicular pode ser utilizado como uma variável de auxílio na detecção do crescimento dos testículos entre os 15 e 16 meses de idade, com alta correlação do mesmo com a idade dos tourinhos.

Palavras-chave: bovino, puberdade, termorregulação testicular.

Keywords: bovine, puberty, testicular thermoregulation.



Season influence on scrotal temperature, semen quality and testosterone in zebu bulls
Influência da estação do ano na temperatura do escroto, qualidade do sêmen e testosterona em touros zebuínos

**Marcelo George Mungai Chacur^{1,*}, Camila Dutra de Souza¹,
Fernanda Luisa Barbosa Guinossi Deak¹, Talita Raquel Cavichioli Sebastião¹,
Gabriela Figueredo Cornacini¹, Willian Mituzi Tateisi¹, Pedro Augusto Alves Alcantara¹,
Ellyn Amanda Fonseca Martins¹, Luciana Machado Guaberto², Eunice Oba³,
Rogério Antônio de Oliveira⁴**

¹Professor, Laboratório de Reprodução Animal, Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE), Pres. Prudente - SP, Brasil; ¹Ex-alunos de Graduação e Pós-Graduação (UNOESTE); ²Professora, Laboratório de Citogenética e Genética Molecular (UNOESTE); ³Professora, Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, SP, Brasil; ⁴Professor, Departamento de Biostatística, Instituto de Biociências (IBB-UNESP), Botucatu, SP, Brasil.

*E-mail: marcelo.chacur@uol.com.br

The objectives of the study were (1) to evaluate the effect of seasons on the surface temperature of scrota and eyeballs, semen quality, and plasma testosterone concentration in extensively bred Nellore bulls, (2) to assess the protein composition of seminal plasma in each season and identify the most common proteins, and (3) to investigate the relationships of these proteins with semen parameters, scrotum surface temperatures, and temperature-humidity index (THI). Infrared thermography (FLIR E40®) of Nellore bulls (n = 20) with image analysis for spermatic cord (SCT), proximal pole of the testis (PPT), distal pole of the testis (DPT), epididymis tail (TeT) and scrotal temperature gradient (TG), and semen collected and analyzed. Blood samples were collected to obtain the plasma concentration of testosterone by radioimmunoassay (RIA). The seminal plasma proteins were identified by SDS-PAGE. The THI calculated per season. The TG was higher (P <0.05) in autumn (5°C) and winter (4.4°C). The THI of spring (73.5) and summer (72) differed (P <0.05) from autumn (64.5) and winter (59.6) and there were correlations (P <0.01) with SCT (0.54), TeT (0.74), PPT (0.71), DPT (0.72) and TG (-0.35). Similarly, total motility (61.5%) and sperm vigor (2.7) in spring were lower in relation to autumn and winter (P <0.05). The plasma concentration of testosterone was higher (P <0.05) in the autumn. Seminal plasma proteins of 20, 55 and 66 kilodaltons (KDa) contributed positively to seminal quality. The results indicate that thermal stress at a THI above 72, the critical limits for stress thermal, occurs in spring and summer and negatively affects fertility of Nellore bulls raised in the tropics.

Keywords: infrared thermography, semen characteristics, temperature-humidity index, bovine.

Palavras-chave: termografia infravermelha, características do sêmen, índice de temperatura e umidade, bovino.

Ação da Somatotropina Recombinante Bovina em protocolos com vistas à Inseminação Artificial em Tempo Fixo em vacas *Bos taurus indicus* e cruzadas (resultados parciais)

*Effect of Recombinant Bovine Somatotropin in protocols for Timed-Artificial Insemination in *Bos taurus indicus* and crossbred cows (partial results)*

Grassiele Gassenferth^{1*}, Luiz Ernandes Kozicki¹, Francisco Romano Gaievski¹, Danilo Amadori Martins de Oliveira², Adalberto Gassenferth Júnior³, Gilson Amaral Filho¹, Ana Paula Kaminski¹

¹Programa de Pós Graduação em Ciência Animal, Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, PR, Brasil;

²Curso de Medicina Veterinária, Faculdade Mater Dei, Pato Branco, PR, Brasil; ³Universidade do Sul de Santa Catarina, Tubarão, SC, Brasil.

*E-mail: grassih@gmail.com

A somatotropina recombinante bovina (rbST) tem potencial para ser incorporada aos protocolos direcionados à inseminação artificial em tempo fixo (IATF). A rbST possibilita o recrutamento de maior número, desenvolvimento e maturação de folículos ovarianos na onda folicular, melhoria das taxas de prenhez (TP) e desenvolvimento embrionário inicial. O presente estudo objetivou focar em tais efeitos, após administração do rbST à protocolos de IATF em diferentes dias de aplicação, comparando a protocolos já estabelecidos. Quatrocentas e cinquenta vacas de corte provenientes de três fazendas (F1, F2 e F3) foram distribuídas em três grupos: Grupo bSTd0 (GbSTd0; n=50/fazenda), Grupo bSTd8 (GbSTd8; n=50/fazenda) e Grupo Controle (GC; n=50/fazenda). O GbSTd0 recebeu no dia zero do protocolo um dispositivo intravaginal com progesterona (0,558g) + benzoato de estradiol (1,0mg, IM) + rbST (250mg, SC); em d8 o dispositivo foi retirado + D-cloprostenol (150mg, IM) + cipionato de estradiol (0,5mg, IM); em d10 foi executada a IATF. O GbSTd8 recebeu idêntico protocolo, exceto a rbST administrada ao d8. O GC recebeu o mesmo tratamento que GbSTd0, exceto a não aplicação da rbST. O estudo foi executado durante dezembro de 2018 a março de 2019, sendo 300 fêmeas *Bos taurus indicus* (Nelore) (F1 e F2) e 150 cruzadas taurinas x zebrúinas (Brangus) (F3). O total de fêmeas nos grupos, somando-se o “n” de todas as fazendas, resultou em: GbSTd0 = 150; GbSTd8 = 150; GC = 150. Os ovários foram avaliados via ultrassonografia transretal nos dias d0, d8 e d10, mensurando-se o folículo dominante (FD), maior folículo subordinado (FS) e a contagem do total de FSs. No d45 foi realizado o diagnóstico de gestação e a mensuração do corpo lúteo grávidico. As TPs dos GbSTd0, GbSTd8 e GC foram, respectivamente: F1 [*Bos taurus indicus* e ECC 2,5 (média)] = 9%, 11% e 33%; F2 [*Bos taurus indicus* e ECC 2,75 (média)] = 22%, 26% e 25%; F3 [Brangus e ECC 2,75 (média)] = 54%, 29% e 25%. Na F1 resultou diferença (P<0,05) entre GbSTd0 x GC e GbSTd8 x GC, onde a TP do GC foi maior. Entre GbSTd0 x GbSTd8 não houve diferença (P>0,05). Na F2, não ocorreu diferença em nenhum dos grupos entre si (P>0,05). Na F3, não houve diferença ao se comparar os grupos GbSTd8 x GC (P>0,05), mas resultou em diferença quando comparou-se GbSTd0 x GC e GbSTd0 x GbSTd8 (P<0,05), no qual o GbSTd0 apresentou maior TP. Conclusões parciais: o uso do rbST no d0 proporcionou as melhores TPs nas vacas Brangus. Faz-se necessário a análise dos demais dados coletados (regressão logística) para uma conclusão mais consistente, incluindo-se a consideração dos diâmetros foliculares de cada fase dos protocolos, o ECC e a raça dos animais.

Palavras-chave: bST, sincronização de estro, taxa de prenhez, vacas mestiças.

Keywords: bST, estrus synchronization, pregnancy rate, crossbred cows.

Padronização da termografia escrotal em bovinos – Em qual (is) local (is) a temperatura deve ser mensurada?

Standardization of scrotal thermography of bovine – Where the temperature should be recorded?

Letícia Martins Conti¹, Marcelo Sant’Ana Borges², Maurício de Faria Silva³, Tatiane Issa Uehara Berton³, Fábio Morato Monteiro², Kléber da Cunha Peixoto Júnior¹, André Maciel Crespilho^{1,*}

¹Universidade Santo Amaro, São Paulo, SP, Brasil; ²Instituto de Zootecnia, Sertãozinho, SP, Brasil; ³Tairana – Central de Congelamento de Sêmen, Presidente Prudente, SP, Brasil.

*E-mail: andremacc@yahoo.com.br; acrespilho@prof.unisa.br

Nos últimos anos a termografia por infravermelho vêm se popularizado como técnica complementar para avaliação indireta da espermatogênese e da saúde testicular, fornecendo informações objetivas a respeito da capacidade de termorregulação dos testículos das diferentes espécies domésticas. Na grande maioria dos trabalhos publicados anteriormente a análise termográfica testicular foi realizada a partir da aferição térmica bilateral (direita e esquerda) de diferentes áreas da gônada masculina não havendo, até o presente, uma padronização e validação de quais os pontos mais adequados para realização da mensuração da temperatura dos testículos e da bolsa escrotal de machos bovinos. Nesse contexto, o objetivo do trabalho foi avaliar as correlações existentes entre a termografia escrotal aferida bilateralmente (testículo direito e esquerdo) em diferentes pontos do testículo bovino, testando-se a hipótese de que a temperatura centro-testicular pode ser representativa da temperatura de todo o testículo em se tratando de bovinos hígdos. Para o estudo foram selecionados 4 touros Girolando com idade entre 5 a 8 anos, alojados em piquetes individuais e submetidos a 8 avaliações termográficas escrotais ao longo do período de 6 meses empregando câmera modelo FLIR E60®. Em cada avaliação termográfica foram geradas imagens gonadais a partir de 5 pontos de mensuração compreendendo o polo dorsal (T1), médio (T2) ventral (T3) de ambos os testículos, além de avaliações bilaterais da temperatura do cordão espermático e da cauda do epidídimo, segundo Ruediger et al. (Semina, v.37, 2016). Os resultados obtidos foram avaliados por modelo linear de análise de variância e teste de correlação de Pearson (SAS Institute, Cary, USA). Não foram observadas diferenças ($P>0,05$) para a temperatura média aferida em nenhum dos 5 pontos selecionados quando comparados o testículo esquerdo e direito. Correlações positivas ($P<0,0001$) foram observadas entre T1 e T2 ($r>0,9$), T2 e T3 ($r>0,9$) e T1 e T3 ($r>0,9$) quando correlacionadas as temperaturas testiculares obtidas a partir de um mesmo testículo ou do testículo contralateral. Não foram observadas diferenças para a temperatura média do cordão espermático direito (CED) em relação ao esquerdo (CEE), bem como quando comparados os exames termográficos da cauda do epidídimo direito (PD) e esquerdo (PE). PD e PE apresentaram associação positiva ($P<0,0001$) com T1 ($r>0,89$), T2 ($r>0,9$) e T3 ($r>0,89$), independente do lado em que as mensurações foram realizadas, comportamento semelhante ao observado para CED e CEE. A temperatura centro testicular média (T2), que foi de 31,63°C para o testículo direito e 31,87°C para o esquerdo ($P>0,05$) apresentou correlação positiva ($r>0,9$) com a temperatura mensurada nos outros 4 pontos de avaliação termográfica definidos para o estudo ($P<0,0001$). Conclui-se que para touros hígdos a avaliação da capacidade de termorregulação testicular pode ser realizada a partir da mensuração de apenas 1 ponto de análise, observando-se, ainda, que não há necessidade da avaliação termográfica de ambas as gônadas, sendo que a mensuração térmica de um testículo é representativa de ambos quando se tratam de reprodutores em plena saúde reprodutiva.

Palavras-chave: bovinos, termografia, testículo.

Keywords: bull, testicle, thermography.



A viabilidade econômica e a produção de embriões com o uso de FIV e SOV em bovinos da raça Wagyu

The economic viability and the embryo production by the use of IVF and SOV techniques in the Wagyu Cattle Breed

Fernanda L. Facioli¹, Giovana C. Zanella¹, Flávia De Marchi^{1,3}, Mariana G. Marques², Paulo R. P. Michelin⁴, Eraldo L. Zanella^{1,3}, Kyle C. Caires⁵, Jerry J. Reeves⁶, Ricardo Zanella^{1,3,*}

¹Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Curso de Medicina Veterinária, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, RS; ²Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC; ³Programa de Mestrado em BioExperimentação, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, RS; ⁴Médico Veterinário Autônomo, Passo Fundo, RS; ⁵University of Hawaii, Manoa, USA; ⁶Bar-R Cattle Company, Pullman, WA, USA.

*E-mail: ricardozanella@upf.br

The Japanese Black Cattle breed also known as Wagyu was initially developed as working animals. Further, it was identified that Wagyu animals had a higher deposition of intramuscular fat (IMF), producing a high palatable meat with marbling score up to 12% IMF (1-12). Since this kind of animals has a higher metabolism involved with marbling deposition, it is also speculated that its endocrine system was also altered, possibly affecting the embryo quality and production. Therefore, the objective of this study was to evaluate the embryo production and the economic viability using a superovulation protocol (SOV) and *in vitro* fertilization (IVF) to produce Wagyu embryos. For that, ten (n=10) mature Wagyu cows of Tajima Line (High Marbling Line) were submitted to five SOVs followed by an IVF 30 days after each collection during a period of 15 months. Cows were superovulated with a standard protocol developed and tested for the Wagyu cattle breed by our group: CIDR + 3mg of Estradiol Benzoate on day-0, on day-4 animals received 35mg of FSH (Folltropin®) in the morning and 35mg in the afternoon. On day-5 animals received 35mg of Folltropin® in the morning and 20mg of in the afternoon. On Day-6 animals received 20mg of Folltropin® in the morning and 10mg in the afternoon. On day-7 animals received 10mg of Folltropin® and 0.5mg of Cloprostenol in the morning and afternoon. Also in the afternoon the CIDR was removed. On day-8, 0.05mg of gonadorelin acetate (GnRH) was used and insemination was conducted 12 and 24 hours after its injection. On day-16 of the protocol, the embryo collection was done, followed by administration of 0.5mg of Cloprostenol. Thirty days after each SOV, a follicular aspiration was conducted by different commercial laboratories to produce the IVF embryos without any pre-synchronization. The average number of embryos produced by each cow using SOV was 7.63 ± 5.61 (min=0; max=16) and 4.52 ± 2.44 by IVF (min=1; max=14). No statistical difference (P=0.303) among the number of embryos produced by IVF or SOV was identified. Nevertheless, a higher variation among the number of embryos produced by SOV were observed when compared to the IVF technique. The SOV protocol, caused a hyperstimulation in some of the Wagyu cows used in this study, observed by the number of Cl's, without the presence of embryos during the collection, showing the need of adjustment of FSH dose in those animals. There were no significant correlation among the production of embryos by cow and by technique ($r^2=0.379$, P=0.529). The total cost of each embryo produced in our study by SOV was R\$ 123,00 and R\$350,00 for the IVF, including the Veterinary labor, hormones and embryologist work. The cost of SOV embryos was lower when compared to the IVF embryos, but only if the super ovulated cow produced more than 3 embryos per collection. The pregnancy rates of freshly transferred embryos produced by SOV and IVF were 75% and 60% respectively. The total number of SOV embryos produced twice more pregnancies when compared to IVF embryos. In conclusion, cows that do not respond well to SOV are not economically viable for the use of this technique, therefore it is suggested that IVF technique could be used to reduce the cost per embryo produced on those animals.

Palavras-chave: superovulação, fertilização *in vitro*, Wagyu.

Key words: superovulation, *in vitro* fertilization, Wagyu.



Ultrastructural changes of zona pellucida during *in vitro* maturation of bovine oocytes
Alterações ultra-estruturais da zona pelúcida durante a maturação in vitro de ovócitos bovinos

Francisco Báez¹, Álvaro A. Camargo¹, Gustavo D.A. Gastal^{2,*}

¹University Center of Tacuarembó, UDELAR, Route 5, Km 386, Tacuarembó 45000, Uruguay; ²National Agricultural Research Institute, INIA, Route 50, km 11, Colonia 70000, Uruguay.

*E-mail: ggastal@inia.org.uy

The zona pellucida (ZP) is an extracellular matrix surrounding the oocyte and the early embryo that exerts several important functions during fertilization and early embryonic development. However, to the best of our knowledge, an objective description of the ultrastructural characteristics of ZP comparing immature and *in vitro*-matured (IVM) stage in bovine oocytes within the same conditions have not been described in the literature. Therefore, the aim of this study was to evaluate the ultrastructural differences in the ZP surface between immature and IVM bovine oocytes. Intact immature cumulus-oocytes complexes (COCs) obtained from a local abattoir were IVM or not at 38.5°C for 24 hours in a humidified atmosphere of 5% CO₂ in the air. Oocytes were prepared for Scanning Electron Microscopy (SEM) and images were processed in Fiji/ImageJ software to objectively evaluate the ultrastructural differences in the ZP surface with special attention to the number, area, and circularity of pores in the outer ZP. Statistical analysis was performed (SAS Inst. Inc; Cary, NC, USA) by one-way ANOVA, followed by Tukey's test if a significant difference was detected. Data were expressed as mean ± S.E.M. In general, all immature oocytes showed a ZP surface characterized by a rough, irregular fibrous network with uneven distribution and tight pores, crevices, and depositions of biological material. Meanwhile, the IVM oocytes displayed a porous zona structure with typical fine-meshed reticular pores; the pore shape was circular or elliptical and arbitrarily distributed. The average number of pores in ZP was greater ($P < 0.05$) in IVM (43.50 ± 9.00) than immature (29.77 ± 15.28) oocytes. However, the pore area (0.02 ± 0.00 ; 0.02 ± 0.00), diameter (171.56 ± 17.66 ; 176.41 ± 9.62), and circularity (0.66 ± 0.04 ; 0.69 ± 0.04) of ZP did not differ ($P < 0.05$) between immature and IVM oocytes, respectively. In conclusion, the objective methodology has shown that the number of pores was the only ultrastructural change in the morphology of the ZP surface of bovine oocytes during the IVM process. Therefore, given the importance of the ZP and the relationship with oocyte quality and fertility, results herein presented may facilitate future studies to understand the effect of external factors on oocyte development using an objective technique.

Keywords: ultrastructure, zona pellucida, oocyte, *in vitro* maturation, bovine.

Palavras-chave: ultraestrutura, zona pelúcida, ovócito, maturação *in vitro*, bovinos.



Characteristics of the follicular dynamics in Girolando heifers submitted to fixed-time artificial insemination protocols with different intervals of proestrus

Características da dinâmica folicular de novilhas Girolando submetidas a protocolos de inseminação artificial em tempo fixo com diferentes intervalos de proestro

Emílio César Martins Pereira^{1,*}, Silvio Costa e Silva², Fernanda Augusta de Oliveira Silva³, Jordana Lemos Andrade de Andrade³, Giselle Maria de Sousa³, Alex Matos Teixeira³, Alan Maia Borges²

¹Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Mato Grosso (UFMT), Cuiabá, MT, Brasil;

²Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG, Brasil;

³Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Uberlândia, MG,

*Email:emilioufmt@gmail.com

In order to reduce the duration of fixed-time artificial insemination (FTAI) protocols, this work evaluated the characteristics of the follicular dynamics of two FTAI protocols in Girolando cows, simulating different intervals of proestrus. To that end, 30 Girolando heifers were used, being allocated to two treatments: T1 (n=15) were submitted to the following protocol: D0 insertion of the progesterone (P4) device and intramuscular (IM) injection of 2mg estradiol benzoate (EB); D7 IM injection of 150µg Prostaglandin F_{2α} (PGF_{2α}); D9 device removal and IM injection of 1mg of Estradiol Cypionate (EC); D11 FTAI in the morning. T2 (n=15) was submitted to the protocol: D0 P4 intravaginal device and IM injection of 100µg gonadotropin releasing hormone (GnRH); D5 and D6 IM injection of 150µg PGF_{2α}; D8 IM injection of 100µg GnRH and FTAI in the morning. Ultrasonographies were performed on strategic days from D0 to ovulation, according to the experimental group. The follicular diameters for T1 and T2, respectively, were: on D0 12.01±3.17 and 12.79±3.33 mm (P>0.05), on D2 11.29±3.23 and 8.29±3.58 mm (P<0.05), on FTAI day 11.25±3.88 and 12.82±3.13 mm (P<0.05) and preovulatory day 13.67±3.65 and 13.47±2.35 mm (P>0.05). The interval from device removal to ovulation was 70.67±15.33 and 105.60±16.24 hours (P<0.05), and the volume of the corpus luteum on the seventh day after ovulation was 3.97±1.81 and 3.96±1.89cm³ (P>0.05). The estrous rate was higher (90.00 vs 48.30%) and the ovulation rate was lower in T1 (65.00 vs 83.30%) in relation to T2 (P<0.05). The hormonal protocols used resulted in changed follicular diameter of the heifers and increased duration of proestrus (interval from device removal to ovulation). The GnRH injected in FTAI increased the ovulatory rate and the treatment with EC at the end of the protocol induced a high rate of estrous, but without correspondence in the ovulatory rate.

Keywords: proestrus, follicular dynamics, FTAI protocol, Girolando heifers.

Palavras-chave: proestro, dinâmica folicular, IATF, novilhas Girolando.

Hidropsia fetal em bovino (*Bos taurus*) no estado do Pará

Fetal hydrops in bovine (Bos taurus) in the state of Pará

Mirela Balistrieri Dias^{1,*}, Marina Galindo Chenard², Vivian de Assunção Nogueira Carvalho³, Gustavo de Andrade Toledo⁴, Saulo Andrade Caldas³, Isabelle Magalhães da Cunha², Alline Ferreira Brasil⁶, Fernando Elisio Amaral Torres⁶, Michel José Sales Abdalla Helayel⁵

¹Graduanda de Medicina Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ, Brasil; ²Mestrandas do Programa de Pós Graduação em Medicina Veterinária (Clínica e Reprodução Animal), Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ, Brasil; ³Professores do curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, Brasil; ⁴Médico Veterinário autônomo, Tucuruí, PA, Brasil; ⁵Professor do curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ, Brasil; ⁶Professores do curso de Medicina Veterinária, Universidade Estácio de Sá, Rio de Janeiro, RJ.

*E-mail: mirelabalistrieri@id.uff.br

A hidropsia fetal caracteriza-se pelo aumento do volume do líquido alantoidiano e/ou amniótico além dos limites fisiológicos, levando ao quadro de anasarca e edema nas cavidades peritoneal, pleural e pericárdica. Esta patologia provoca o aumento do tamanho do feto, podendo levar à distocia obstrutiva durante o parto, sendo necessária manobra obstétrica ou intervenção cirúrgica. A distocia pode ser de origem materna, classificada em hidro-âmnio, hidroalantoide, ou hidro-âmnio-alantoide, ou pode ser de origem fetal, que se enquadra no presente relato. As principais causas são as anomalias genéticas ou hereditárias, doenças renais do feto, torção de cordão umbilical, gestação gemelar e má nutrição da gestante. Neste contexto, a vaca apresenta sinais clínicos inespecíficos, como pseudotimpanismo, anorexia e apatia. Durante o exame transretal, a parede uterina estava muito unida e houve dificuldade para palpar o feto. Quanto ao prognóstico, a hidropsia fetal é praticamente incompatível com a vida. Diante do exposto e dos poucos casos citados na literatura, o objetivo deste trabalho é descrever um caso de hidropsia fetal em neonato de fêmea bovina, que resultou em parto distócico. O caso ocorreu em uma propriedade rural no município de Tucuruí no Estado do Pará (PA), com rebanho total de 300 bovinos mestiços, criados em sistema extensivo de cria-recria-engorda, sem controle zootécnico, com dieta composta por sal mineral, capim *Brachiaria decumbens* e *Megathyrus maximus* cv Mombaça e fontes de água natural. O calendário vacinal do rebanho encontrava-se em dia em relação à febre aftosa, brucelose e clostridiose e o controle de endoparasitos era feito bianualmente com Ivermectina. O veterinário foi chamado à propriedade para atender uma fêmea bovina (*Bos taurus*), mestiça, 48 meses e aproximadamente 290 dias de gestação, monta natural, em trabalho de parto difícil há mais de 24 horas. No exame geral, a vaca apresentava-se em decúbito esternal, com abaulamento abdominal e parâmetros vitais normais. Ao exame obstétrico, a vulva apresentava-se edemaciada e com lesões de manipulação; na palpação retal foi observado excesso de líquido (útero distendido), dificuldade de detecção do feto e percepção de alteração fetal. Optou-se pela cesariana para retirada do feto, dada a dificuldade de se realizar apenas com manobra obstétrica. O feto apresentava abdômen distendido bilateralmente e anasarca. Observou-se que as alterações morfológicas eram compatíveis com hidropsia fetal, podendo ser classificada em efusão peritoneal, denominada ascite; anasarca, quando há edema generalizado do tecido subcutâneo e hidrocefalia; e a meninge dura-máter, que é comumente vista em suínos e bezerros. O relato se enquadra na classificação de efusão peritoneal, dado o quadro de ascite observado pelo aumento da região abdominal. O feto hidrópico causou a distocia obstrutiva durante o parto, tornando necessária a realização da cesariana e subsequente óbito fetal. É válido ressaltar a importância do diagnóstico prévio a fim de intervir de forma correta e rápida para garantir a vida da progenitora.

Palavras-chave: ruminantes, malformação, congênito, ascite, cesariana.

Keywords: ruminants, malformation, congenital, ascites, cesarean.



Influência da Insulina adicionada ao diluidor de criopreservação de sêmen sobre a produção *in vitro* de embriões em bovinos

Influence of Insulin added to semen cryopreservation extender on the bovine in vitro production of embryos

Flávia dos Santos Almeida, Sâmara Cristine Costa Pinto, Fernando Andrade Souza, Camilla Mota Mendes, Vivian Cardoso Castiglioni, Adriano Felipe Perez Siqueira, Leonardo Batissaco, Laura Nataly Garcia Oliveiros, Gabriela Marques Rezende, Mayra Elena Ortiz D'Avila Assumpção e Eneiva Carla Carvalho Celeghini*

Departamento de Reprodução Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil; ²Universidade Federal do Acre, Rio Branco, AC, Brasil.

*E-mail: celeghin@usp.br

A produção *in vitro* de embriões (PIV) apresenta eficiência relativamente baixa quando comparada com a produção *in vivo*. Por outro lado, sabe-se que a insulina, hormônio produzido pelas células beta das ilhotas pancreáticas, promove a regulação, crescimento, metabolismo e diferenciação celular, uma vez que é responsável pela entrada de glicose nas células. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar se a adição de insulina ao diluidor de criopreservação de sêmen melhora a eficiência da PIV de embriões bovinos. Foram feitas quatro repetições, sendo aspirados folículos provenientes de ovários de abatedouro, e selecionados os complexos *cumulus*-oócito que apresentavam camadas de células do *cumulus* compactas e oócito com citoplasma homogêneo (graus I e II). Os oócitos foram submetidos ao processo de maturação *in vitro* (22h/38,5°C/5%CO₂). Para a fecundação *in vitro* (FIV) utilizaram-se dois ejaculados de seis touros da raça Nelore. Cada ejaculado foi dividido em duas frações iguais, sendo uma fração diluída com Triladyl® e a outra diluída com Triladyl® adicionado de 150µUI/mL de insulina. Ambas as amostras foram criopreservadas em sistema automático. Duas palhetas de cada tratamento por touro foram descongeladas em banho-maria (37°C/30 segundos), avaliadas quanto a motilidade espermática e o vigor, após as avaliações foram submetidos ao gradiente de Percoll. Os oócitos maturados foram distribuídos, randomicamente, em dois grupos experimentais: Controle (GC) - oócitos maturados que receberam o sêmen diluído apenas com o Triladyl® (n=1587) e Insulina (GI) - oócitos maturados que receberam o sêmen diluído com Triladyl® adicionado de insulina (n=1580). Os oócitos foram incubados (18h/38,5°C/5%CO₂) e os possíveis zigotos foram transferidos para o cultivo *in vitro* obedecendo aos tratamentos e incubados por 8 dias (38,5°C/5%CO₂/5%O₂/90%N₂). A resposta da FIV foi determinada pela clivagem, analisando o número de embriões divididos em dois ou mais blastômeros (D3). No dia 8, avaliou-se o número de blastocisto e a taxa de desenvolvimento em relação aos possíveis zigotos. Os dados foram submetidos à análise de variância pelo procedimento misto (PROC MIXED) do programa SAS, utilizando-se as repetições como blocos. Foi considerada significância de 5%. Para a taxa de clivagem não houve efeito da suplementação da Insulina (63,62±1,69%) quando comparada com o controle (64,22±2,04%). Não foi observado aumento na taxa de blastocistos quando comparados o GC (24,06±2,69%) com o GI (20,04±2,54%), também não foram encontrados efeitos da insulina sobre a taxa de desenvolvimento embrionário (35,81±3,23% x 30,21±3,37%). Dessa forma, conclui-se que a adição de insulina não melhora as taxas de clivagem, blastocistos e de desenvolvimento embrionário em bovinos quando adicionada ao sêmen.

Palavras chave: FIV, fertilidade, espermatozoides, blastocistos, clivagem.

Keywords: FIV, fertility, sperm, blastocyst, cleavage.



Subpopulações espermáticas no sêmen criopreservado de touros Senepol após protocolo para fertilização *in vitro*

Sperm subpopulations in cryopreserved semen from Senepol bulls after protocol for in vitro fertilization

Suzane Peres Campanholi^{1,*}, Sebastião Garcia Neto², Andréa Cristina Basso³, João Diego de Agostini Losano⁴, Adriano Felipe Perez Siqueira⁴, Marcilio Nichi⁴, Mayra Elena Ortiz D'Avila Assumpção⁴, Fabio Morato Monteiro⁵, Antonio Sérgio Ferraudó⁶, Lindsay Unno Gimenes¹

¹Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), UNESP, Jaboticabal, SP, Brasil; ²Senepol 3G, Barretos, SP, Brasil; ³In Vitro Brasil, Mogi Mirim, SP, Brasil; ⁴Departamento de Reprodução Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), USP, São Paulo, SP, Brasil; ⁵Centro APTA Bovinos de Corte, IZ, Sertãozinho, SP, Brasil; ⁶Departamento de Ciências Exatas, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), UNESP, Jaboticabal, SP, Brasil.

*E-mail: supc@hotmail.com

O crescimento da raça Senepol apoia-se no uso de biotecnologias reprodutivas, em especial a produção *in vitro* de embriões (PIVE). Apesar da participação efetiva da raça na bovinocultura de corte, há poucos estudos sobre seus aspectos reprodutivos. A identificação das subpopulações espermáticas pode esclarecer problemas de fertilidade de alguns touros, além de ajudar na seleção de animais para a PIVE, contribuindo para aumentar o progresso genético e econômico do rebanho no país. Neste trabalho, dados retrospectivos da PIVE foram obtidos a partir dos registros pertencentes à empresa Senepol 3G. Todas as rotinas foram produzidas no laboratório comercial da In Vitro Brasil. Foram selecionadas 38 partidas de sêmen criopreservado de 28 touros Senepol, escolhidas com base nos dados retrospectivos da PIVE. As amostras foram descongeladas em banho-maria a 37°C por 45 segundos. Pós-descongelação, a concentração foi ajustada para 25×10^6 espermatozoides/ml. Em seguida, todas as amostras passaram por protocolo de lavagem do sêmen, específico para touros Senepol, que é realizado pela In Vitro Brasil antes da fertilização *in vitro* (FIV). Após, 5 μ L da amostra foi colocado entre lâmina e lamínula que foram inseridas no sistema CASA. Três campos microscópicos aleatórios, selecionados manualmente, foram analisados por amostra. Os parâmetros cinéticos registrados para cada espermatozoide foram: VAP (μ m/s), VSL (μ m/s), VCL (μ m/s), ALH (μ m), BCF (Hz), STR (%), LIN (%) e WOB (%). Devido a estrutura de dependência contida no conjunto de variáveis foram aplicadas técnicas estatísticas multivariadas de agrupamento e de componentes principais, o que permitiu uma caracterização dos espermatozoides em três grupos. As diferenças entre as médias das variáveis entre os grupos foram analisadas pelo teste de Tukey com o PROC GLM do SAS, e consideradas significativas quando $P < 0,05$. Dos 3114 espermatozoides analisados: 41% foram agrupados na subpopulação 1, caracterizada por movimento rápido e progressivo (VAP=129,8 \pm 1,4^a; VSL=122,4 \pm 1,4^a; VCL=175,2 \pm 1,9^b; ALH=5,6 \pm 0,1^b; BCF=36,1 \pm 0,3^b; STR=94,3 \pm 0,2^a; LIN=71,6 \pm 0,4^a e WOB=75,7 \pm 0,3^a); 28,6% foram agrupados na subpopulação 2, caracterizada por movimento rápido, mas não progressivo, o que pode configurar movimento hiperativado (VAP=121,4 \pm 1,2^b; VSL=84,4 \pm 1,1^b; VCL=252,5 \pm 2,3^a; ALH=11,7 \pm 0,1^a; BCF=30,5 \pm 0,4^c; STR=70,6 \pm 0,7^b; LIN=34,5 \pm 0,4^b e WOB=48,7 \pm 0,3^b) e 30,4% foram agrupados na subpopulação 3, caracterizada por movimento lento e não progressivo (VAP=40,3 \pm 0,7^c; VSL=23,8 \pm 0,6^c; VCL=96,1 \pm 1,7^c; ALH=4,8 \pm 0,1^c; BCF=41,1 \pm 0,5^a; STR=61,6 \pm 0,9^c; LIN=29,0 \pm 0,6^c e WOB=44,5 \pm 0,4^c). Concluímos que o sêmen criopreservado de touros Senepol pode ser dividido em três subpopulações espermáticas após passar por protocolo de preparação para a FIV.

Agradecimento: FAPESP (Processo nº 2016/24107-7).

Palavras-chave: bovino, espermatozoide, parâmetros cinéticos.

Keywords: bovine, spermatozoa, kinematic parameters.

Citologia e histopatologia do endométrio de vacas Holandesas repetidoras de estro

Cytology and histopathology of endometrium of Holstein repeat breeder cows

Álan Maia Borges¹, Bruno Campos de Carvalho², Clarice de Souza Muniz³,
Telma da Mata Martins⁴, Renato de Lima Santos¹, Tatiane Alves da Paixão¹,
Juliana Pinto Mol⁵, Alinne Machado Petrarca Leo⁶

¹Prof. UFMG; ²Pesq. EMBRAPA-CNPGL; ³Méd. Vet.; ⁴Prof. UNIFOR/MG; ⁵Pós-Doutora da EV/UFMG; ⁶Aluna de Mestrado da EV/UFMG, Belo Horizonte, MG, Brasil.

*E-mail: alinnempetrarca@gmail.com

Repetidoras de estro são vacas subfêrteis que apresentam distúrbios durante ciclos estrais consecutivos. A incidência de subfertilidade de repetidoras de estro está associada com a maior frequência de endometrite citológica. Objetivou-se avaliar a ocorrência de infiltrado inflamatório no endométrio de vacas Holandesas repetidoras de estro, por meio de raspados e biopsias uterinas durante o estro e diestro (Projeto FAPEMIG APQ-02352-15, e procedimentos aprovados pelo CEUA/UFMG). Onze vacas (G1 = 6 repetidoras de estro que na gestação anterior conceberam após 4 ou mais IA, e G2 = 5 vacas com fertilidade normal e que conceberam com até 3 IA) foram selecionadas com base no histórico reprodutivo. Os raspados endometriais e seus esfregaços foram corados pelo Panótico rápido, contando-se 200 células/lâmina para determinar a porcentagem de neutrófilos em relação ao número total de células, considerando o limiar $\geq 5\%$ de polimorfonucleados como presença de inflamação e endometrite citológica. As biopsias uterinas foram realizadas no estro (dia 0, corno direito), e no diestro (dia 12, corno esquerdo). Os cortes histológicos foram corados pela hematoxilina-eosina e avaliados por microscopia óptica, sendo classificados conforme a presença de infiltrado inflamatório, intensidade e distribuição desse infiltrado, alterações morfológicas e integridade do tecido. As lesões endometriais foram classificadas em ausentes (-), discretas (+) ou moderadas (++). Para avaliar as diferenças médias no percentual de neutrófilos (estro e diestro) foi usado o teste t pareado, e o teste t não-pareado foi utilizado para verificar diferenças entre grupos no estro e diestro. Na citologia, as médias das porcentagens de neutrófilos foram $3,25 \pm 2,36$ e $1,92 \pm 3,13$ no estro e diestro das vacas repetidoras de serviço, respectivamente. Para as vacas normais foi verificada maior ($P < 0,05$) quantidade de neutrófilos no estro, em relação ao diestro. Não foram encontradas diferenças ($P > 0,05$) entre vacas repetidoras, nem entre os grupos de vacas normais e repetidoras, entre estro e diestro. As vacas normais tiveram taxa de endometrite citológica numericamente maior, e média significativamente maior de contagem de neutrófilos na fase de estro. Na histopatologia no grupo das vacas repetidoras de estro, uma vaca (16,6%) apresentou endometrite discreta no estro e duas (33,3%) apresentaram a mesma condição no diestro, enquanto duas (33,3%) tiveram endometrite moderada no diestro. No grupo de vacas normais, nenhum animal apresentou endometrite na fase de estro, e dois (50%) tiveram endometrite discreta no diestro. Na histopatologia não foi observada endometrite grave em nenhuma das amostras. Houve alteração do perfil endometrial nas vacas repetidoras, com a evolução de quadros de ausência de lesões endometriais no estro para lesões discretas e moderadas no diestro. As lesões moderadas observadas nesse estudo foram, principalmente, o aumento da concentração de células mononucleares em localização periglandular, perivascular e multifocal, além da presença de fibrose periglandular, relacionadas a processos crônicos de endometrite. A presença de infiltrado linfocitário, mais evidente no diestro de repetidoras coincidem com o período anterior ao reconhecimento da gestação, que pode relacionar à morte precoce do embrião e retorno ao estro. A presença de lesões compatíveis com endometrite crônica nas biópsias das repetidoras de estro sugere que a histopatologia pode ser técnica útil para diagnóstico de subfertilidade em vacas Holandesas, e a presença de endometrite subclínica não foi relacionada com ocorrência da síndrome de repetição de estros.

Palavras-chave: citologia, endométrio, histopatologia, repetidoras de estro, vacas leiteiras.

Keywords: *cytology, dairy cows, endometrium, histopathology, repeat breeders.*

Expressão gênica de imunomediadores no endométrio de vacas Holandesas repetidoras de estro

Gene expression of endometrial immunomediators of Holstein repeat breeder cows

Álan Maia Borges¹, Bruno Campos de Carvalho², Clarice de Souza Muniz³,
Telma da Mata Martins⁴, Renato de Lima Santos¹, Tatiane Alves da Paixão¹, Juliana Pinto Mol⁵,
Alinne Machado Petrarca Leo⁶

¹Prof. UFMG; ²Pesq. EMBRAPA-CNPGL; ³Méd. Vet.; ⁴Prof. UNIFOR/MG; ⁵Pós-Doutora da EV/UFMG;

⁶Aluna de Mestrado da EV/UFMG, Belo Horizonte, MG, Brasil.

*E-mail: alanmborges@hotmail.com

Repetidoras de estro são vacas que não concebem após três inseminações consecutivas e que retornam ao estro em intervalos regulares, apesar de não apresentarem sinais de patologias reprodutivas. Alguns animais podem apresentar falhas na resolução da resposta inflamatória endometrial, mesmo após a eliminação das bactérias do lúmen uterino após o parto. Os danos à mucosa uterina, resultantes do processo infeccioso, podem contribuir para aumentar a incidência de repetidoras de estro. O objetivo foi avaliar a expressão gênica dos imunomediadores CXCL6, CXCL8, IL-10, PGES e PGFS no endométrio de vacas Holandesas repetidoras de estro, durante o estro e diestro (Projeto FAPEMIG APQ-02352-15). Os procedimentos foram aprovados pelo CEUA/UFMG. Onze vacas (Grupo 1 = 6 repetidoras de estro que na gestação anterior conceberam após 4 ou mais IA; e Grupo 2 = 5 vacas com fertilidade normal e que conceberam com até 3 IA) foram selecionadas com base no histórico reprodutivo. As características dos Grupos 1 e Grupo 2 foram, respectivamente: idade média de $6,9 \pm 0,4$ e $6,7 \pm 2,3$ anos; número de partos de $3,2 \pm 0,4$ e $4,0 \pm 2,0$; peso vivo médio de 646 e 638kg; média de produção de leite diário na lactação anterior de 23,12 e 22,3Kg; número de dias após o parto quando da coleta de amostras de $383,2 \pm 40$ e $81,2 \pm 14,4$; número de inseminações artificiais até o momento da coleta de amostras de $7,2 \pm 1,6$ e $0,0 \pm 0,0$, e número de IAs para obter gestação de $8,7 \pm 1,6$ e $1,8 \pm 0,8$. Biópsias endometriais foram realizadas no estro e no diestro (dia 12 após o estro) e o fragmento uterino foi submetido à extração de RNA, transcrição reversa para obtenção do cDNA, que foi amplificado. As expressões de CXCL6, CXCL8, IL10, PGES e PGFS no endométrio foram avaliadas por meio de qPCR quantitativo, e a B-actina e GAPDH foram os normalizadores. Os valores médios de Ct das duplicatas foram calculados, normalizados pelo gene de referência (β -actina) utilizando delta (Δ) Ct e transformados em valores relativos à β -actina, que correspondem ao número de cópias do gene amplificado por cópia do normalizador. Cada 3,3 Cts (n) de diferença entre a expressão do gene alvo e a expressão de β -actina corresponderam a 10^n vezes menor número de cópias do gene alvo. Teste de Wilcoxon foi utilizado para comparar os valores entre o estro e o diestro de cada grupo. Teste de Mann-Whitney foi utilizado para comparar os valores obtidos entre grupos, nas fases de estro e diestro. Foram comparados os perfis de expressão gênica endometrial de CXCL6, CXCL10, IL-8, PGES e PGFS entre vacas dos dois grupos, no estro e no diestro. Não houve diferença ($P > 0,05$) na transcrição dos imunomediadores entre os estádios do ciclo estral, dentro dos grupos de vacas com fertilidade normal ou repetidoras de estro. Isso pode indicar que provavelmente não ocorrem alterações na expressão gênica de citocinas durante o ciclo estral. Na comparação entre os grupos, CXCL10, PGES e PGFS não apresentaram diferenças significativas ($P > 0,05$) entre estádios do ciclo estral, enquanto CXCL8 não diferiu ($P > 0,05$) entre os grupos no diestro. As quimiocinas CXCL6 e CXCL8 tiveram expressão significativamente maior ($P < 0,05$) em vacas repetidoras durante o estro e CXCL6 no diestro. PGES e PGFS não diferiram ($P > 0,05$) entre grupos e estádios do ciclo estral. Os imunomediadores CXCL6, CXCL8, IL-10, PGES e PGFS são potenciais marcadores para o estudo da imunidade uterina de vacas Holandesas, com ênfase para o aumento significativo de CXCL8 durante o estro de vacas repetidoras de serviço.

Palavras-chave: endométrio, mediadores inflamatórios, repetidoras de estro, vacas leiteiras.

Keywords: dairy cows, endometrium, inflammatory immunomediators, repeat breeders.



Parâmetros reprodutivos de vacas de corte submetidas ao desmame hiperprecoce

Reproductive parameters of beef cows weaned early

Antônia Mendes Paizano Alforma*, Marcela Kuczynski da Rocha, Odilene de Souza Teixeira, Júlia Abud Lima, Vanessa Silva Fernandes, Júlio Otávio Jardim Barcellos

NESPro - Núcleo de Estudos em Sistemas de Produção de Bovinos de Corte e Cadeia Produtiva, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Brasil.

*E-mail: antoniamendespaizano@gmail.com

O anestro pós-parto da vaca de cria é influenciado por fatores como a nutrição e a amamentação e é consenso entre os pesquisadores de que em condições deficitárias de alimentação, esse anestro pode prolongar-se e os efeitos da lactação serem mais pronunciados. Neste sentido, técnicas de desmame foram desenvolvidas para reduzir o impacto do anestro e melhorar a eficiência reprodutiva nos sistemas de cria. O objetivo da pesquisa foi avaliar o efeito do desmame hiperprecoce nos parâmetros reprodutivos de matrizes de corte. Para tal, foram utilizadas 65 vacas da raça Brangus, com média de 5 anos de idade, em um período de acasalamento de 73 dias (26/11/18 a 7/02/19), recebendo as mesmas condições de manejo alimentar e sanitário. As vacas foram distribuídas aleatoriamente em dois tratamentos. No DH (n=22), desmama hiperprecoce com os bezerros desmamados aos 30 dias de idade, e no DC (n=43), denominado de desmama convencional, permaneceram com os bezerros durante toda a estação de acasalamento. O peso pós-parto (PP) e o escore da condição corporal (ECC; escala de 1 a 5), avaliados até 24 horas após o parto foram de 434,6kg e 2,86; 456,5kg e 2,97 para o DH e DC, respectivamente. Durante o período experimental (84 dias), foram avaliados o intervalo parto-primeiro cio (IPPC=dias), obtido pelo tempo transcorrido entre o parto e o surgimento do primeiro corpo lúteo, ECC (escala de 1 a 5), o ganho médio diário (GMD=kg/dia), a taxa de prenhez (TP=%). A avaliação ovárica para identificação do corpo lúteo e o diagnóstico de prenhez foram obtidos por meio da ultrassonografia transretal. Os dados foram analisados pelo programa estatístico SAS versão 9.4, submetidos a análise de variância, usando o teste de Tukey a 5% para comparação de médias. Verificou-se que o IPPC (48,6 vs 47,6 dias) não foi influenciado ($P>0,05$) pela idade à desmama. Entretanto, ao final do período de experimental, as matrizes desmamadas aos 30 dias (DH) apresentaram melhor ($P<0,05$) ECC (3,39 vs 2,95) e GMD (0,384 kg vs 0,097 kg) do que no DC. As vacas desmamadas em idade hiperprecoce (DH) apresentaram maior taxa de prenhez (90,9%) do que aquelas mantidas com o bezerro ao pé (58,5%), o que evidencia os efeitos da interrupção da lactação na melhora do ganho de peso e da condição corporal. Embora o reestabelecimento da função ovárica não tenha sido diferente entre os dois grupos experimentais, a manutenção da ciclicidade estral manteve-se nas vacas do desmame hiperprecoce (DH). Portanto, o desmame hiperprecoce permitiu obter uma alta taxa de prenhez, especialmente em vacas com uma condição corporal intermediária ao parto. Assim, em situações limitadas de alimentação durante a estação de acasalamento, a desmama é uma alternativa tecnológica eficiente para incrementar a produtividade no rebanho de corte.

Palavras-chave: eficiência reprodutiva, desmame hiperprecoce, prenhez.

Keywords: reproductive efficiency, weaning early, pregnancy.

O crescimento de folículos pré-antrais até os estágios de pequenos, médios e grandes folículos antrais é associado com aumento dos níveis de RNAm para GDF9, ciclina B1, H1FOO e PARN em oócitos bovinos

The growth of preantral follicles up to the stages of small, medium and large antral follicles is associated with an increase in the levels of mRNAs for GDF9, cyclin B1, H1FOO and PARN in bovine oocytes

Jose Roberto Viana Silva^{1,*}, Francisco Taiã Gomes Bezerra², Lais Raiane Feitosa Paulino², Bianca Régia Silva², Anderson Weiny Barbalho Silva¹, Ana Lisa Paz Sousa Batista¹

¹ Professor do Programa de Pós-graduação em Biotecnologia (Laboratório de Biotecnologia e Fisiologia da Reprodução), ² Doutorando em Biotecnologia (Renorbio), Universidade Federal do Ceará, Campus de Sobral, Sobral, Ceará, Brasil.

*E-mail: jrvsilva@ufc.br

Durante o desenvolvimento folicular, os oócitos em crescimento realizam uma intensa síntese de RNA mensageiros (RNAm) que, após serem traduzidos, darão origem a proteínas essenciais para a maturação oocitária e o desenvolvimento embrionário pré-implantação. Entre os RNAm que são estocados no oócito, pode-se citar os transcritos que codificam o fator de crescimento e diferenciação 9 (GDF9), a ciclina B1, a histona H1FOO, a quinase cMOS, a ribonuclease PARN e o fator de iniciação da tradução 4E (eIF4E). Estes RNAs mensageiros são estocados e posteriormente traduzidos durante as fases de maturação oocitária e desenvolvimento embrionário inicial. No entanto, as alterações nos níveis destes RNAs mensageiros em oócitos bovinos durante o crescimento de folículos secundários para os estágios de pequenos, médios e grandes folículos antrais ainda não são conhecidas. Este estudo tem como objetivo quantificar os níveis de RNAm para GDF9, ciclina B1, H1FOO, cMOS, PARN e eIF4E em oócitos de folículos secundários, bem como de folículos antrais pequenos, médios e grandes. Para avaliar os níveis de RNAm nas diferentes categorias, ovários bovinos foram obtidos em abatedouro local e os oócitos de folículos secundários (~0,2 mm de diâmetro), folículos antrais pequenos (1,0 – 3,0 mm de diâmetro), folículos antrais médios (3,0 – 6,0 mm) e folículos antrais grandes (> 6 mm) foram coletados e submetidos a extração de RNA. Os níveis de RNA mensageiros foram quantificados por PCR em tempo real. Os primers utilizados amplificaram de forma específica os RNAs para GDF9, ciclina B1, H1FOO, cMOS, PARN e eIF4E, enquanto que o gliceraldeído3-fosfato desidrogenase (GAPDH) foi utilizado como controle endógeno. O método delta-delta-CT foi utilizado para demonstrar a expressão relativa dos RNAs mensageiros estudados. Os níveis de RNAm para GDF9, ciclina B1, H1FOO, cMOS, PARN e eIF4E em oócitos de folículos secundários e de folículos antrais pequenos, médios e grandes foram comparados pelo teste de Kruskal-Wallis, seguido do teste de Dunn. As diferenças foram consideradas significativas quando $P < 0,05$. Os resultados mostraram que os níveis de RNAm para GDF9 em oócitos de folículos antrais grandes foram significativamente maiores do que aqueles observados em oócitos de folículos secundários. Já em relação aos níveis de transcritos para a ciclina B1, observou-se que oócitos de folículos antrais pequenos, médios e grandes apresentavam maiores níveis de RNAm para ciclina B1 do que os oócitos de folículos secundários. Os níveis de RNAm para PARN em oócitos de folículos antrais médios foram maiores que aqueles observados em oócitos de folículos secundários e folículos antrais pequenos. Além disso, os níveis de RNAm para H1FOO em oócitos de pequenos folículos antrais foram significativamente maiores do que aqueles observados em oócitos de folículos secundários. Por outro lado, os níveis de RNAm para cMOS e EIF4E em oócitos de folículos secundários e de folículos antrais pequenos, médios e grandes não foram diferentes. Em conclusão, o crescimento de folículos secundários até os estágios de pequenos, médios e grandes folículos antrais é acompanhado do aumento dos níveis de RNAm para GDF9, ciclina B1, H1FOO e PARN em oócitos bovinos. Apesar das interações moleculares associadas à maturação oocitária não estarem bem definidas, este trabalho demonstrou alterações importantes nos níveis de expressão de genes relacionados à competência oocitária na espécie bovina.

Palavras-chave: crescimento oocitário, desenvolvimento folicular, expressão gênica.

Keywords: oocyte growth, follicular development, gene expression.



Efecto del diluyente, temperatura y tiempo de refrigeración en la calidad y fertilidad de muestra seminal de bovinos

Effect of extender, temperature and refrigeration time on quality and fertility bovine seminal sample

Mariana de Paula Rodrigues^{1,*}, Miguel Sormanti Valenzuela¹, João Diego de Agostini Losano²

¹Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Técnica de Comercialización y Desarrollo, Asunción, Paraguay; ²Departamento de Reproducción Animal de la Universidad de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

*E-mail: mafejuli@hotmail.com

En Paraguay, la ganadería constituye una de las principales actividades económicas del país. En los últimos 30 años, la inseminación artificial ha sido realizada con uso de semen congelado en diluyente a base de yema de huevo, sin embargo, la criopreservación de las células espermáticas sigue siendo perjudicial a sus funciones, y la yema de huevo un factor de variabilidad y potencial riesgo a la contaminación por microorganismos. Fueron utilizadas muestras seminales de 5 toros (Brangus), mantenidas en contenedores de transporte de semen, refrigeradas en diluyentes a base de yema de huevo y lecitina de soja, en temperatura de 5°C y 15°C, durante 24, 48 y 72 horas, y evaluadas según su motilidad, vigor, integridad de membranas plasmática y acrosomal, morfología y actividad citoquímica mitocondrial. Posteriormente, 300 hembras bovinas recibieron terapia hormonal para la sincronización del celo y fueron inseminadas artificialmente a tiempo fijo con muestras seminales refrigeradas a 5°C, durante 24 horas en diluyente a base de yema de huevo y lecitina de soja, y muestras criopreservadas en yema (grupo control), seguido de ecografía transrectal para el diagnóstico de preñez. Los resultados demostraron que el diluyente a base de lecitina de soja, por un lado, pudo mantener mejor la integridad de membrana acrosomal (90.61 ± 0.79 ; 86.51 ± 1.38 ; $P=0.0092$), pero, por otro lado, hubo mayor cantidad de células con defectos menores (3.04 ± 0.24 ; 1.93 ± 0.18 ; $P=0.0007$), principalmente alteraciones en la cola espermática, la temperatura de refrigeración de 5°C presentó mejor efecto sobre el vigor de las células espermáticas (2.40 ± 0.12 ; 2.02 ± 0.14 , $P=0.03$), además, pasadas 72 horas de refrigeración, la calidad espermática bajó significativamente. La tasa de preñez observada en el estudio fue de 13.3% para el grupo lecitina, 10.5% para el grupo yema de huevo y 9.9% para el grupo control, no fueron observadas diferencias significativas entre ellos ($P>0.05$). De esa manera, se pudo concluir que, a pesar de las diferencias estadísticas encontradas en determinadas evaluaciones espermáticas, tanto los diluyentes cuanto la temperatura de refrigeración no afecta la calidad espermática durante 24 o 48 horas de mantenimiento, y que el diluyente a base de lecitina de soja y la refrigeración seminal, pueden remplazar el uso del semen criopreservado en diluyente a base de yema de huevo sin afectar la tasa de preñez.

Palabras-clave: semen, bovino, diluyente, refrigeración, fertilidad.

Keywords: semen, bovine, extender, refrigeration, fertility.

Efeitos da administração de vitamina E, selênio e vitamina E + selênio no momento da inseminação em fêmeas da raça nelore múltipara (*Bos indicus*), na taxa de prenhez
*Effects of administration of vitamin E, selenium and vitamin E + selenium at the time of insemination in multiparous Nellore females (*Bos indicus*), at pregnancy rate*

**Marília da Silva Cruz^{1,*}, Andreia Freitas de Oliveira², Jairo Farias Sousa³,
José Manoel de Moura Filho², Liane Carolina Sousa Nascimento², Marcelo Silva Souza³**

¹Graduanda de Medicina Veterinária, Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão, Imperatriz, MA, Brasil; ²Professores do Curso de Zootecnia, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão, Caxias, MA, Brasil; ³Médicos Veterinários autônomos, Es. da PECPLANA, Imperatriz, MA, Brasil.

*E-mail: manael.filho@ifma.edu.br

No método de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) os animais são submetidos à aplicação de fármacos, controla e sincroniza o ciclo estral e a ovulação, contudo, sua eficiência está intrinsecamente ligada à nutrição animal especialmente em bovinos de corte onde o fator nutritivo é determinante para se obter resultados reprodutivos favoráveis. Na reprodução animal o selênio e a vitamina E atua nos ovários, o selênio se concentra e regula importantes funções metabólicas. A associação de ambos apresentam função antioxidante na formação dos oócitos e maturação folicular para promoverem a ovulação. Para avaliar os efeitos da administração de vitamina E e Selênio momento da inseminação e verificar os reflexos de cada um na taxa de prenhez, foram divididos quatro grupos de animais. O experimento foi realizado em propriedades da mesorregião do Oeste maranhense, nos meses de Fevereiro a Maio de 2018. As fêmeas foram submetidas a exame ginecológico a fim de descartar animais com problemas reprodutivos. O protocolo e as doses administradas foram da seguinte forma: No Dia 0 do protocolo foi administrado 2,0ml de benzoato de estradiol (1 mg.mL⁻¹) por via intramuscular e no mesmo momento colocado o dispositivo intravaginal impregnado com 1,9g de progesterona. No Dia 7 administrou-se 2,5ml de prostaglandina (5 mg.mL⁻¹) por via intramuscular. No Dia 9 foi retirado dispositivo intravaginal impregnado com progesterona e administrado 0,3ml de cipionato de estradiol (2mg/ml) por via intramuscular e 1,5ml de gonadotrofina coriônica equina (200 UI.mL⁻¹), também por via intramuscular. Por fim, no Dia 11, o dia da inseminação artificial, o primeiro tratamento (T1-Grupo controle) foi realizado a IATF, sem suplementação, na distribuição 20 animais na Repetição 1 (R1) e 20 animais na Repetição 2 (R2), totalizando 40 animais; no tratamento 2 (T2): IATF + 2,5 mL de Vitamina E (acetato de alfatocoferol – 0,1 g.mL⁻¹) intramuscular, com 20 animais na R1 e 17 na R2, totalizando 37 animais; Tratamento 3 (T3): IATF + 2,0 mL de Selênio (Selenito sódico – 40 µg.mL⁻¹) intramuscular, com 19 animais na R1 e 19 animais na R2, totalizando 38 animais; Tratamento 4 (T4): IATF + 2,5 mL de Vitamina E (Vitamina E (acetato de alfatocoferol – 0,1 g.mL⁻¹) + 2,0 mL de Selênio (Selenito sódico – 40 µg.mL⁻¹), distribuído 20 animais em cada repetição, totalizando 40 animais. As fêmeas foram identificadas e sorteadas ao acaso afim de pré-definir quais tratamentos seriam submetidas. Para avaliação do índice de prenhez foi realizado diagnóstico por imagem através de ultrassonografia (Myndray 2200, China) 45 dias após a IATF. A análise dos dados estatísticos foi utilizado o Programa software OriginPro[®] (Northampton, USAs), versão 8. Os dados foram submetidos as análises de variâncias e comparação de médias utilizando-se o teste de qui-quadrado a 5% de probabilidade. O grupo controle e o de Selênio aplicado no momento da inseminação obtiveram melhores resultados, em contra partida a associação de Vitamina E e Selênio obteve resultado inferior ao esperado, não diferente da Vitamina E aplicada no momento da inseminação com taxa de prenhez inferior ao do grupo controle. Desse modo, a administração de suplementação de vitamina E e Selênio, no momento da inseminação artificial, não influenciaram significativamente na taxa de prenhez.

Palavras-chave: IATF, pecuária de corte, suplementação vitamínico mineral.

Keywords: IATF, livestock cutting, mineral Vitamin supplementation.



Diâmetro do folículo pré-ovulatório no momento da Inseminação Artificial em tempo fixo e taxa de concepção em novilhas Brahman P.O.

**Faider Alberto Castaño Villadiego^{1,*}, Glauco Barra Villela², Jurandy Mauro Penitente Filho¹,
Celina Alves de Oliveira³, Vitor de Ávila Martins², Ranyeri Oliveira Souza⁴,
Marcio de Souza Duarte⁵, Giancarlo Magalhães dos Santos⁶**

¹Pós doutorando em Reprodução Animal, Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa, MG, Brasil; ²Graduandos em Medicina Veterinária, Faculdade de Ciências Biológicas e da Saúde (FACISA), Viçosa, MG, Brasil; ³Mestranda em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa, MG, Brasil; ⁴Graduando em Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, Brasil; ⁵Professor do curso de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, Brasil; ⁶Professor do curso de Medicina Veterinária, Faculdade de Ciências Biológicas e da Saúde (FACISA), Viçosa, MG, Brasil.

*E-mail: faider_cas@hotmail.com

Estudos sobre utilização de protocolos para inseminação artificial em tempo fixo (IATF) vêm sendo conduzidos com a finalidade de aperfeiçoar os índices reprodutivos desta biotecnologia. Nesse contexto, o diâmetro do folículo pré-ovulatório no final do programa de sincronização destaca-se como importante fator de influência nas taxas de concepção e na eficiência reprodutiva dos programas de sincronização para IATF. No entanto, dados sobre dinâmica folicular de fêmeas da raça Brahman criadas em condições brasileiras são escassos. Este estudo objetivou-se avaliar o diâmetro do folículo pré-ovulatório no momento da IATF sobre a taxa de concepção de fêmeas Brahman submetida ao protocolo de sincronização de estro e ovulação. Portanto, foram sincronizadas 50 fêmeas da raça Brahman P.O, média 28 meses de idade e peso médio 380 kg, durante 64 dias de estação de monta. O experimento foi conduzido no setor de bovinocultura de corte do Departamento de Zootecnia (DZO) da Universidade Federal de Viçosa (UFV). Foi realizado o protocolo de sincronização de estro e ovulação, posteriormente 21 dias após da cada inseminação artificial (IA) foi realizado a ressincronização em todos os animais. No dia zero (D0) todos os animais receberam a inserção do dispositivo intravaginal de progesterona (P4) (PRIMER, 1 g) associado a 2,0 mg de benzoato de estradiol (BE) (RIC-BE) por via intramuscular (IM), no dia 9 (D9) retirou-se o implante de P4 e aplicou-se 300UI de Ecegon (eCG) e 0,530mg de prostaglandina (Estron), no dia 10 (D10) aplicou-se 1 mg de BE, no dia 11 (D11) antes da cada IATF, realizou-se a mensuração do diâmetro do folículo pré-ovulatório (DFPO) de todos os animais por ultrassonografia transretal, posteriormente realizada a IA. Após 20 dias da primeira IA foi realizado a ressincronização de todos os animais com a inserção do dispositivo de progesterona e aplicação de 2mg de BE. Após D9 da ressincronização, foi realizado o diagnóstico gestacional com o auxílio da ultrassonografia (Mindray, DP2200), sendo consideradas fêmeas gestante aqueles animais com presença do embrião e batimento cardíaco, sendo liberadas e as fêmeas não gestante aplicou-se 0,530mg de prostaglandina (Estron), no D10 aplicou-se 1ml de BE e no D11 realizou a ultrassonografia para determinar DFPO, posteriormente, realizada a IA. O diagnóstico de gestação foi realizado 29 dias após a IATF por ultrassonografia transretal. O efeito do diâmetro do folículo pré ovulatório sobre a probabilidade de gestação em cada IATF foi avaliado por regressão logística. As taxas de gestação nas três IATFs foram, respectivamente, 41,8% (18/43), 53,1% (17/32) e 53,3% (8/15). O diâmetro do folículo pré ovulatório não influenciou as taxas de gestação em nenhuma das IATFs ($p > 0.05$). Os diâmetros dos folículos pré ovulatórios (mm) em novilhas gestantes e não gestantes nas 3 IATFs foram, respectivamente: 14.1 ± 0.6 vs 13.8 ± 0.6 ; 12.9 ± 0.7 vs 13.6 ± 1.2 ; e 14.3 ± 1.5 vs 11.7 ± 1.2 mm. A taxa de prenhez geral no final da estação de monta 86,0 %. Os resultados não demonstraram diferenças entre o DFPO nas fêmeas submetidas a protocolo de sincronização.

Palavras-chave: gestação, inseminação artificial, ovário, protocolo.

Keywords: Pregnancy, artificial insemination, ovary, protocol.

Características metabólicas do peripartode vacas taurinas tropicalmente adaptadas *Metabolic characteristics of the peripartum of tropically adapted Bostaurus cows*

**Heitor Castro Alves Teixeira¹, Gabriela Cordeiro Brilhante², Paula Lorenna Grangeira Souto¹,
Eleonora Araújo Barbosa¹, Arthur da Silva Mariante³, Alexandre Floriani Ramos^{3,*}**

¹Doutorandos do Curso de Ciências Animais da Universidade de Brasília, Brasília, Distrito Federal, Brasil;

²Graduanda em Medicina Veterinária do Centro Universitário do Planalto Central Aparecido dos Santos, Brasília, Distrito Federal, Brasil; ³Pesquisadores da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, Distrito Federal, Brasil.

*E-mail: alexandre.floriani@embrapa.br

O periparto é uma fase em que as vacas tem que se adaptar a diversas mudanças metabólicas e hormonais que ocorrem neste período, também conhecido como período de transição. Ao mesmo tempo, três semanas antes do início da lactação até a produção de leite pós parto, os requisitos nutricionais adaptam-se, produzindo um efeito de balanço energético negativo devido ao animal não conseguir ingerir nutrientes suficientes para manutenção correta do balanço energético, ademais, nada se sabe do balanço metabólico/nutricional de vacas Curraleiro Pé-Duro neste período. Objetivou-se avaliar o perfil energético, o perfil hormonal metabólico, o perfil proteico e as funções hepática e renal de vacas Curraleiro Pé-Duro no período de transição (periparto). Doze vacas Curraleiro Pé-Duro tiveram seu sangue coletado diariamente por venopunção jugular dos 10 dias pré parto aos 10 dias pós parto. Os dados foram avaliados por meio de modelos lineares generalizados e análise de regressão utilizando-se o programa estatístico R Core Team, comparando os períodos do periparto, para isso, assumiu-se que: Período 1, corresponde de dez dias (D-10) aos cinco dias antes do parto (D-5); o Período 2, dos cinco dias antes do parto (D-5) ao dia do parto; o Período 3, do dia do parto aos cinco dias pós parto (D5); e o Período 4, dos cinco dias pós parto (D5) aos dez dias pós parto (D10). Ácidos Graxos Não Esterificados e Beta-Hidroxibutirato não apresentaram variação nas suas concentrações ($P > 0,05$) no período estudado. Triglicérides apresentou uma queda no Período 2, juntamente com o aumento de colesterol ($P < 0,05$), que posteriormente, apresentou aumento nos Períodos 3 e 4 ($P < 0,05$). Tiroxina apresentou queda nos Períodos 1, 3 e 4. Para o perfil proteico foi possível observar aumento das Proteínas Plasmáticas Totais e albumina no Período 2 e queda da ureia no Período 3 ($P < 0,05$). Bilirrubina apresentou queda no Período 2 e aumento no Período 3, diferentemente de AspartatoAminotransferase que caiu no Período 3 ($P < 0,05$). Os demais metabólitos não apresentaram variações em suas concentrações ($P > 0,05$) no período de transição. As vacas Curraleiro Pé-Duro não apresentaram grandes mudanças metabólicas ao longo do periparto, fato que pode estar associado as características de adaptação desses animais aos locais de baixa qualidade de pastagem, como o semiárido e o cerrado brasileiro. Estes resultados, poderão servir no futuro, de parâmetros normais de variação hormonal e do perfil metabólico para vacas taurinas tropicalmente adaptadas durante o periparto e servir como subsídio para adequação nutricional e práticas de manejo nos núcleos de conservação e em propriedades rurais onde esses animais são criados.

Palavras-chave: conservação, obstetrícia, recursos genéticos.

Keywords: *conservation, obstetrics, geneticresources.*



Protocolo com nove dias de progesterona para IATF em vacas taurinas adaptadas ao clima tropical

Protocol with nine days of progesterone for FTAI in Bostaurus cows adapted to the tropical weather

**Renato dos Santos¹, Gabriela Cordeiro Brilhante², Rodrigo Dorneles Tortorella³,
Eleonora Araújo Barbosa³, Heitor Castro Alves Teixeira³, Alexandre Floriani Ramos^{4*}**

¹Mestrando do Programa de Pós-graduação em Ciências Animais da Universidade de Brasília, Brasília, Distrito Federal, Brasil; ²Graduanda em Medicina Veterinária do Centro Universitário do Planalto Central Aparecido dos Santos, Brasília, Distrito Federal, Brasil; ³Doutorandos do Programa de Pós-graduação em Ciências Animais da Universidade de Brasília, Brasília, Distrito Federal, Brasil; ⁴Pesquisador da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, Distrito Federal, Brasil.

*E-mail: alexandre.floriani@embrapa.br

O estudo teve como objetivo verificar a resposta fisiológica de fêmeas taurinas tropicalmente adaptadas da raça Curraleiro Pé-Duro submetidas a diferentes protocolos de sincronização e indução da ovulação, buscando-se o aumento da eficiência reprodutiva. Três experimentos foram realizados para avaliar o melhor momento de indução da ovulação e o tempo de exposição à progesterona. No Experimento 1 (*crossing over*), 12 vacas receberam um dispositivo intravaginal de progesterona (P4) e 2 mg de benzoato de estradiol (BE) intramuscular (IM) no dia zero (D0). Após oito dias (D8) os animais tiveram o implante de P4 removido e receberam 150 µg de D-cloprostenol Sódico (PGF2α) e 300 UI de gonadotrofina coriônica equina (eCG) via IM, sendo então separadas em dois grupos. Grupo 8D (n=12), as vacas receberam 1 mg de BE IM no D8, e no grupo 9D (n=12), receberam BE no D9. No Experimento 2, 11 vacas foram submetidas ao mesmo protocolo usado no grupo 9D do Experimento 1, 11 vacas no D8 receberam 150 µg de PGF2α e 300 UI de eCG e no D9 receberam 1 mg de BE e tiveram o dispositivo de P4 retirado (Grupo P4D9). Em ambos os experimentos, após a retirada do implante de P4 foram realizadas avaliações ovarianas ultrassonográficas. No Experimento 3, 88 matrizes foram submetidas aos protocolos utilizados nos grupos 8D (n=43) e P4D9 (n=45) e inseminadas em tempo fixo. No Experimento 1, levaram a uma taxa de resposta ao protocolo de 92% (11/12) e 83% (10/12) e uma taxa de ovulação de 73% (8/11) e 100% (10/10), respectivamente. O tempo para ovulação após a retirada da P4 foi menor nas fêmeas do 8D. No Experimento 2, os grupos 9D e P4D9, levaram a uma taxa de resposta ao protocolo de 72% (8/11) e 100% (11/11), respectivamente e a taxa de ovulação de 87,5% (7/8) e 91% (10/11), não havendo diferença (P>0,05) nos demais parâmetros foliculares estudados. No Experimento 3, a taxa de gestação nos grupos 8D e P4D9 foram de 23% (10/43) e 20% (9/45; P>0,05) respectivamente. Conclui-se que os protocolos utilizados neste trabalho tiveram resultados de desenvolvimento folicular satisfatórios, mas não refletiram em uma boa taxa de gestação após inseminação artificial em tempo fixo (IATF). Nesse contexto, estudos que considerem animais taurinos adaptados ao clima tropical que estejam em diferentes condições fisiológicas para programas de IATF poderão auxiliar na obtenção de melhores resultados.

Palavras-chave: conservação, inseminação artificial, recursos genéticos.

Keywords: artificial insemination, conservation, genetic resources.



Avaliação histopatológica do endométrio de fêmeas bovinas tratadas com glicose 50% ou cloridrato de oxitetraciclina, dados preliminares

Endometrial histopathological evaluation of cows treated with 50% glucose or oxytetracycline hydrochloride, preliminary data

**Jean Balzan^{1,*}, Alana B. Spagnol¹, Anderson Gris¹, Eduardo H. Pichler¹,
Gustavo A. G. Ferreira¹, Henrique A. Rauber¹, Maicon E. Frigo¹, Patrícia Rodrigues¹,
Renan Farina¹, Rodrigo Chrestani¹, Rodrigo Secco¹, Lucio Pereira Rauber²**

¹Graduando do curso de Medicina Veterinária, Instituto Federal Catarinense, *campus* Concórdia, SC, Brasil;

²Professor do Curso de Medicina Veterinária, Instituto Federal Catarinense, *campus* Concórdia, SC, Brasil.

*E-mail: jeanbalzanbalzan@gmail.com

A endometrite é uma importante causa de redução na fertilidade de vacas leiteiras, é causada principalmente pela ascensão de microrganismos oportunistas durante o parto. Para o tratamento é considerada a antibioticoterapia, sendo o cloridrato de oxitetraciclina um dos mais utilizados. Entretanto, seu uso indiscriminado pode gerar resistência bacteriana, causando problemas de saúde pública, especialmente no tratamento de doenças em hospitais para humanos. Além disso, estudos apontam que o uso de antibióticos como a oxitetraciclina infundido diretamente no útero promove a curetagem química do endométrio, que pode causar infertilidade futura. A glicose 50% é uma opção que se destaca pelo seu efeito osmótico na membrana celular bacteriana, ocasionando a morte por desidratação. Por seu efeito físico, não causa seleção de bactérias resistentes, possui carência zero para descarte do leite, além de ter baixo custo. O objetivo do trabalho foi avaliar os efeitos da infusão de glicose 50% ou oxitetraciclina sobre as células endometriais. Para o estudo foram utilizadas 8 fêmeas bovinas, sendo quatro vacas cíclicas paridas a mais de um ano e quatro novilhas cíclicas. Todas passaram por exame clínico e ginecológico para atestar a ausência de endometrite clínica. Os animais foram separados em dois grupos conforme o tratamento com glicose 50% ou cloridrato de oxitetraciclina. Cada grupo foi composto por duas vacas e duas novilhas. A quantidade de solução, glicose ou oxitetraciclina, infundida foi o suficiente para que ambos os cornos uterinos ficassem engorgitados. Após 24 horas da infusão foi realizada a biópsia do endométrio pelo método transcervical. Para tanto, as fêmeas foram contidas e passaram por anestesia epidural baixa e assepsia. As amostras foram fixadas em formol 10% e enviadas ao Laboratório de Patologia Animal do Instituto Federal Catarinense Campus – Concórdia, SC, foram coradas com hematoxilina-eosina e analisadas sob microscopia de campo claro em aumentos de 40, 100 e 200x. Os laudos indicaram a presença de infiltrado inflamatório neutrofílico moderado em 25% (1/3) das amostras do grupo tratado com glicose, já para o grupo tratado com oxitetraciclina, observou-se infiltrado inflamatório neutrofílico em 50% (2/4) das amostras. Como os dados aqui apresentados são preliminares e o número de repetições ainda é pequeno, os resultados não são representativos, mas importantes para correções na metodologia. Não foi realizada biópsia uterina prévia aos tratamentos e os infiltrados poderiam ser de uma infecção uterina subclínica. Foi então sugerido coletar uma amostra de um corno uterino antes do tratamento e coletar outra amostra do corno contralateral após o tratamento. Outro ponto a ser pensado é o uso de três aplicações com intervalo de 24 horas antes da coleta, semelhante ao recomendado pelo fabricante do cloridrato de oxitetraciclina. Os resultados preliminares obtidos indicam que a glicose 50% provoca pouca reação inflamatória no endométrio.

Palavras-chave: endometrite, resistência antimicrobiana, terapias alternativas.

Keywords: *endometritis, antimicrobialresistance, alternativetherapies.*



Bovineherpesvirus 1 impacta o desenvolvimentode complexos cumulusovócitos durante amaturaçãoin vitro

Bovine herpesvirus 1 impairs thedevelopmentof cumulus oocyte complexes during in vitromaturation

Saullo Vinicius Pereira Alves*, Eduardo Paulino da Costa, Vanessa Lopes Dias Queiroz-Castro, Lidiany Lopes Gomes, Marcos Augusto de Azevedo Junior, José Domingos Guimarães, Abelardo Silva Júnior

Departamento de Veterinária (DVT)/Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa, MG, Brasil.

*E-mail: saullo.alves@ufv.br

O bovineherpesvirus 1 (BoHV-1) é de fácil disseminação, difícil controle e encontra-se mundialmente difundido nos rebanhos bovinos de leite e corte. Esse vírus é responsável por enormes prejuízos à pecuária, principalmente, por afetar índices reprodutivos. Estudos envolvendo infecção experimental com o BoHV-1 em sistema de produção *in vitro* de embriões indicam que a presença do vírus afeta o desenvolvimento embrionário. Objetivou-se avaliar a interferência do BoHV-1 sobre a etapa de maturação *in vitro* de complexos cumulusoócito (COCs) e a imunolocalização de partículas virais por meio da microscopia confocal de varredura a laser, bem como estudar a possível relação entre a taxa de maturação nuclear ovocitária e a titulação de anticorpos neutralizantes de animais naturalmente infectados. Os ovários e amostras de sangue de fêmeas bovinas foram obtidas em frigorífico, acondicionadas a 37°C para transporte e processadas no Laboratório de Maturação Ovocitária e Fecundação *in vitro* (UFV- DVT). Foram realizados testes de neutralização viral sendo os animais classificados de acordo com a sua titulação de anticorpos. Os ovócitos recuperados após aspiração folicular foram individualmente avaliados pela capacidade de maturação nuclear associado à detecção viral pela microscopia confocal de varredura a laser. Dois experimentos foram conduzidos: (I) maturação após infecção *in vitro* de COCs de animais soronegativos, sendo os ovócitos transferidos para microgotas de 100µL de meio de maturação, contendo 10µL do vírus BoHV-1 no título de 10^{4.3} TCID₅₀/mL. Os ovócitos permaneceram incubados com o vírus durante todo o período de maturação por 24 horas em estufa a 38,5°C em 5% de CO₂, já o grupo controle foi formado por COCs não exposto ao BoHV-1; (II) maturação *in vitro* de COCs oriundos de animais soropositivos incubados conforme descrito no experimento I. Posteriormente, os COCs foram avaliados individualmente por animal e, em seguida, os dados foram agrupados de acordo com a titulação de anticorpos: titulação <2, título de 2 a 8 e título ≥16. No experimento I, diferença (P<0,01) foi observada entre as taxas de maturação do grupo COCs controle (78,2%) e os grupos infectados dos COCs (43,6%). Para os ensaios de imunofluorescência, foi identificada a partícula viral em 100% dos 106 COCs infectados experimentalmente. No experimento II, verificou-se diferença (P<0,01) na taxa de maturação entre os animais de titulação de anticorpos ≥ 16 (56,9%) e o grupo controle (79,4%). Além disso, os ensaios de imunofluorescência permitiram a identificação do BoHV-1 em 41% e 17% de COCs oriundos de animais de titulação ≥ 16 e título de 2 a 8, respectivamente. Diante disso, conclui-se que o BoHV-1 foi capaz de afetar o processo de maturação *in vitro* tanto nas condições de infecção *in vitro* e em condições naturais de infecção. Animais de alta titulação de anticorpos contra o BoHV-1 apresentaram seus ovócitos com menor capacidade de desenvolvimento o que pode estar implicado no comprometimento do desempenho reprodutivo desses animais. Apoio financeiro: CAPES, CNPq e FAPEMIG.

Palavras-chave: *bovineherpesvirus 1, complexos cumulusoócito, maturação nuclear.*

Keywords: *bovine herpesvirus 1, cumulus oocyte complexes, nuclear maturation.*



Imunomarcção do *bovineherpesvirus 1* em complexos *cumulus*-ovócitos e órgãos genitais de vacas soropositivas

Immunolabeling of bovine herpesvirus 1 in cumulus-oocyte complexes and genital organs of seropositive cows

Vanessa Lopes Dias Queiroz de Castro*, Eduardo Paulino da Costa, Saullo Vinicius Pereira Alves, Lidiany Lopes Gomes, Marcos Augusto de Azevedo Junior, José Domingos Guimarães, Abelardo Silva Júnior

Departamento de Veterinária (DVT)/Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa, MG, Brasil.

*E-mail: vanessa.dias@ufv.br

O *bovineherpesvirus 1* (BoHV-1) pertence a ordem *Herpesvirales*, família *Herpesviridae*, subfamília *Alphaherpesvirinae* e gênero *Varicellovirus*. É o agente causador da Rinotraqueíte Infecciosa Bovina (IBR) e da vulvovaginite pustular infecciosa, além de poder determinar infertilidade temporária, morte embrionária e abortamentos. Infecções em condições naturais nos órgãos genitais de fêmeas bovinas são pouco estudadas. Neste contexto, este estudo investigou a presença do BoHV-1 nos complexos *cumulus* ovócitos (COCs) e nos tecidos uterino, tubárico e ovariano de vacas infectadas naturalmente e assintomáticas. As amostras foram avaliadas quanto a presença ou ausência do BoHV-1 por ensaio de imunofluorescência utilizando a microscopia confocal de varredura a laser. Amostras de sangue e os ovários de 82 vacas foram coletados em um frigorífico localizado em Muriaé, Minas Gerais. Neste mesmo local também foram coletados o útero, tubas uterinas, ovários e sangue de outras 75 vacas. Foram utilizadas somente as amostras provenientes de vacas sabidamente não vacinadas contra o BoHV-1. A neutralização de anticorpos no soro foi observada em 61% (50/82) e 54,7% (41/75). Um total de 719 COCs e 450 amostras de órgãos genitais provenientes de 75 vacas (três órgãos diferentes/vaca e o respectivo controle) foram processados para a imunomarcção viral. A variável qualitativa dicotômica (presença ou ausência do BoHV-1) de cada tratamento para as amostras de tecido foi comparada em tabelas de contingência e analisada pelo teste de qui-quadrado a 5% de probabilidade. Nenhum COC (n=276) proveniente de vacas soronegativas apresentou o BoHV-1. No entanto, foi detectado a presença do vírus no citoplasma das células do *cumulus* em 158 COCs dos 443 COCs aspirados dos ovários de vacas soropositivas. Em relação aos órgãos genitais, o BoHV-1 foi evidenciado no tecido uterino de todos os animais que apresentaram anticorpos neutralizantes ao vírus ($P < 0,01$). As tubas uterinas apresentaram o BoHV-1 em 73,2% e os ovários em 58,5% das amostras soropositivas ($P > 0,05$). Não foi observada a presença do vírus em nenhum órgão genital de animais soronegativos. A detecção do BoHV-1 nas células do *cumulus* sugere que COCs de vacas infectadas naturalmente e assintomáticas podem estar infectados com o BoHV-1. Ademais, a detecção do BoHV-1 no útero em 100% das vacas soropositivas sugere que este órgão pode servir de fonte de infecção para o feto e ocasionar o abortamento. Apoio financeiro: CAPES, CNPq e FAPEMIG.

Palavras-chave: aborto, *bovineherpesvirus 1*, células do *cumulus*, útero.

Keywords: abortion, *bovine herpesvirus 1*, *cumulus cells*, uterus.



Preliminary results about of use in male vasectomized in artificial insemination practice on the reproductive efficiency of dairy buffalo cows

**Antonio Jorge Del Rei^{1,*}, Claudio Coutinho Bartolomeu², Caio Tacito Alvarez³,
Jose Assunção Silveira Junior², Marcio dos Santos Pedreira³**

¹Professor do curso de Zootecnia, UESB - Campus Itapetinga, BA; ²UFRPE - Recife, PE; ³UESC - Ilhéus, BA;
⁴IFBAIANO - Guanambi, BA, Brasil.

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

The use of artificial insemination (AI) in buffalo breeding is particularly difficult because of some reproductive characteristics, as the low frequency (3-6%) of the mounting activity, that make not easy to detect estrus especially when they were visually observed for a short time. The effects of the presence or absence of vasectomized male buffaloes on the reproductive efficiency (RE) of buffalo cows (M=198) undergoing (AI) was studied on two farms owned and operated by a single consortium. Lactating animals were separated into two groups of various sizes on each farm and kept under semi-range conditions. Vasectomized bulls were present in one group at a bull/ empty-cow ratio of 1:30. No bulls were present in the other group. Reproductive efficiency between the two groups over a period of 4 months was compared and evaluated on the basis of: N° of spontaneous overt estruses associated with either feeble or intense signs of estrous behaviour and pregnancy rate. Groups with bulls present demonstrated a significantly higher (RE) than groups without them. There was a higher incidence of spontaneous estrus (92,0 vs 69,0%; P<0,01); spontaneous estrus of high intensity (62,2 vs 31,1%; P<0,01); and higher incidence of functional estrous cycles following both spontaneous (65,8 vs 57,1%). Exposure to vasectomized bulls also increased the incidence of consecutive functional estrous cycles (90,5 vs 68,1%; P<0,01) and the pregnancy rate in cows (AI) at spontaneous (42,5 vs 18,9%; P<0,01).

Keywords: buffalo, pregnancy rate, vasectomized males.



Esferoides de saco vitelino bovino

Spheroid of bovine yolk sac

**Vitória Mattos Pereira^{1*}, Luciana Cristina Machado³, Lina Castelo Branco Motta²,
Priscilla Avelino Ferreira Pinto², Vanessa Cristina Oliveira³, Carlos Eduardo Ambrósio³**

¹Graduanda de Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo (USP), Pirassununga, SP, Brasil; ²Alunas de pós-graduação do programa de Anatomia dos animais domésticos e silvestres da faculdade de medicina veterinária e zootecnia (FMVZ), São Paulo SP; ³Departamento de Medicina Veterinária, FZEA, USP, Pirassununga, SP, Brasil.

*E-mail: vitoria.mattos.pereira@usp.br

As funções hematopoiéticas, imunológicas, metabólicas e nutricionais do saco vitelino (SV) já são conhecidas durante o desenvolvimento embrionário inicial. Mas o conhecimento sobre seu mecanismo de transporte, possíveis disfunções e consequente interferência no aborto inicial continua incerto. A cultura bidimensional *in vitro* (2D) dessa estrutura não fornece informações precisas sobre a composição, arquitetura e função deste tecido. Então, para solucionar este problema e gerar um modelo mais preciso para obter mais conhecimento da formação do saco vitelino, optou-se por utilizar a cultura tridimensional *in vitro* (3D) chamada “organóide”, que contém pequenas populações de células-tronco juntamente com células de linhagens diferenciadas, mimetizando a composição encontrada no tecido *in vivo*. Além disso, esta cultura celular pode ser utilizada como modelagem de doenças e para estudos toxicológicos /farmacêuticos. O modelo animal bovino foi escolhido devido a sua reprodução, cujo sucesso possui grande interferência tanto na bovino cultura leiteira quanto na pecuária de corte, que constituem um dos pilares da economia brasileira. Dessa maneira, o maior conhecimento sobre o desenvolvimento e possíveis disfunções dessa do saco vitelino poderão auxiliar na diminuição das percas embrionárias, cujo índice atual é entre 30% em bovinos de corte, podendo ter resultados ainda piores em vacas leiteiras. Para o desenvolvimento do organóide de saco vitelino, foram coletados embriões do 1º terço gestacional de úteros oriundos de abatedouros. A técnica de cultivo 3D de escolha foi o matrigel (Corning) juntamente com diferentes meios de cultura. Após a escolha do melhor meio de cultura para expansão dos esferóides formados, as estruturas formadas foram expandidas e congeladas para futura caracterização e comprovação do modelo criado.

Palavras-chaves: cultura 3D, saco vitelino, células-tronco mesenquimais, bovino.

Keywords: 3D culture, yolk sac, mesenchymal stem cell, bovine.

Efeito do Eugenol sobre as crioinjúrias das membranas espermáticas

Effect of Eugenol on cryoinjury of spermatic membranes

Yndyra Nayan Teixeira Carvalho Castelo Branco^{1,*}, Marlon de Araújo Castelo Branco², Jefferson Hallysson Lustosa da Silva³, Filipe Nunes Barros³, Leopoldina Almeida Gomes³, Isolda Márcia Rocha do Nascimento⁴, Antonio de Sousa Júnior⁴, Amanda Cristina Souza Santos⁵, José Adalmir Torres de Souza⁶

¹Professora do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Sergipe, Nossa Senhora da Glória, SE, Brasil; ²Professor do Curso de Enfermagem, Faculdade Maurício de Nassau, Teresina, PI, Brasil; ³Pós-graduandos do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal do Piauí, Teresina, PI, Brasil; ⁴Professor no Colégio Técnico de Teresina, Teresina, PI, Brasil; ⁵Graduanda do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Sergipe, Nossa Senhora da Glória, SE, Brasil; ⁶Professor do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Piauí, Teresina, PI, Brasil.

*E-mail: yndyranayan1@hotmail.com

A criopreservação induz a geração de espécies reativas ao oxigênio (ROS), o qual é responsável por danificar os espermatozoides de mamíferos, provocando alterações da motilidade, danos ao DNA e as membranas espermáticas e conseqüentemente redução na fertilização oocitária. As crioinjúrias podem ser reduzidas pela adição de antioxidantes ao meio diluidor durante a criopreservação, melhorando os parâmetros pós-descongelamento. Com o objetivo de avaliar a ação do eugenol na criopreservação espermática, foram utilizados vinte ejaculados de quatro bovinos Curraleiro Pé-Duro, obtidos a partir de eletroejaculação, os quais foram diluídos em Tris-Gema, pré-estabelecendo três diferentes diluições: Controle (0 µM), 10 µM e 50 µM de eugenol, adicionadas ao diluidor Tris-Gema. Posteriormente as amostras foram envasadas e criopreservadas em máquina TK 3000®. Após descongelamento as amostras foram analisadas quanto a integridade da membrana plasmática e acrossomal, e funcionalidade da membrana plasmática, ao longo do teste de termo resistência lento. Os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) utilizando-se o procedimento modelos lineares gerais (Proc GLM) e para comparação de média foi utilizado o teste de Student-Newman-Keuls (SNK), na probabilidade de 5%. Os resultados da integridade da membrana plasmática e da integridade da membrana acrossomal do sêmen de touros descongelados, mostraram que não houve diferença estatística ($p > 0,05$) entre os tratamentos para o parâmetro de membrana plasmática, nem diferiram ($p > 0,05$) ao longo do tempo de incubação. Entretanto, na avaliação da membrana acrossômica, observou-se diferença estatística ($p < 0,05$) entre os tempos e os tratamentos. A porcentagem de espermatozoides com membranas acrossomais íntegras no controle foi maior aos 60 minutos, diferindo apenas pelo tempo de 180 minutos. Para o mesmo parâmetro, o eugenol, nas suas diferentes concentrações, não diferiu com a progressão do tempo de incubação, mantendo a integridade da membrana acrossomal. As membranas, plasmática e acrossomal, são de grande importância para a capacitação espermática e reações acrossômicas, essenciais para a fertilização, e a membrana plasmática é responsável pela manutenção da homeostase celular. Nagy et al. (2004) estudaram a resistência dos espermatozoides à incubação a 37°C por um período de 4 h, e assim verificaram que após esse período os espermatozoides apresentaram alterações nas membranas plasmática e acrossomal, observando que a população de espermatozoides vive com acrossoma intacto e espermatozoides mortos com acrossoma danificado aumentaram, e ainda foi observado, um aumento de excitose acrossomal. Desta forma, conclui-se que a suplementação com eugenol preservou a integridade da membrana acrossômica ao longo do tempo de incubação.

Palavras-chave: bovino, membrana acrossomal, sêmen.

Key words: bull, acrosomal membrane, semen.



Deteção e estudo da variabilidade genética de pestivirus bovino (BVDV 1 e 2) no estado do Rio Grande do Sul, Brasil

Deteccion and genetic diversity study on bovine pestivirus (BVDV 1 and 2) in Rio Grande do Sul State, Brazil

**Manoela Inácia Ferreira^{1,*}, Juliana do Canto Olegário¹, Leonardo Reis Lobraico da Silva¹,
Letícia Ferreira Baumbach¹, Mariana Soares da Silva², Ana Cristina Sbaraini Mosená²,
Matheus Nunes Weber³, Cláudio Wageck Canal⁴**

¹Graduandos da Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil; ²Doutorandas do Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil; ³Pós-doutorando do Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil; ⁴Professor da Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil
*E-mail: manuferreira_301@msn.com

O Brasil é o principal país exportador de carne bovina, além de ser o quarto maior produtor mundial de leite, sendo que estes segmentos do agronegócio colaboram para a geração de empregos e renda. As doenças causadas por vírus são uma constante preocupação dos programas de sanidade animal, visto que podem acarretar enormes perdas econômicas. O vírus da diarreia viral bovina (BVDV) que pertence ao gênero *Pestivirus* da família *Flaviviridae*, pode ser classificado em duas espécies (BVDV-1 e BVDV-2), que ainda podem ser divididas em subtipos. O BVDV representa um importante agente infeccioso que causa perdas econômicas devido à redução da produtividade ocasionada por retardo no ganho de peso e perdas reprodutivas. Em animais imunocompetentes a infecção pelo vírus geralmente cursa de forma assintomática. Já quando o vírus infecta fêmeas prenhes, o BVDV pode ser transmitido por via transplacentária ao feto. As consequências da infecção de fêmeas prenhes variam de acordo com o estágio da gestação, do biotipo (citopático ou não citopático) e da cepa viral, podendo incluir reabsorção embrionária com retorno ao cio, abortos, mumificação fetal, natimortos, nascimento de bezerras fracas e inviáveis e nascimento de animais persistentemente infectados (PI). Com o objetivo de colaborar com dados sobre a circulação das espécies e subtipos das cepas virais no Estado do RS, entre os anos de 2016 e 2018, o Laboratório de Virologia da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) recebeu diversas amostras de soro ou órgãos linfóides para a detecção do BVDV. O RNA das amostras foi extraído através da utilização de Trizol® LS Reagent (Life Technologies) seguindo as instruções do fabricante. A síntese do cDNA foi realizada usando o kit Transcriptase Reversa GoScript™ (Promega Corporation) e a PCR foi realizada com a utilização dos primers 324/326 descritos na literatura, que amplificam 288 pb da 5'UTR do genoma dos pestivírus. As amostras positivas foram sequenciadas pelo método de Sanger. Foram realizadas análises filogenéticas com as cepas deste estudo e cepas de referência do GenBank. De 2016 a 2018, 55 amostras do RS foram positivas na RT-PCR e, de acordo com árvores as análises filogenéticas, elas foram classificadas como BVDV-1 subtipo a (28 amostras, 50,9%), b (6, 10,9%), d (1, 1,8%), i (1, 1,8%) e BVDV-2 subtipo b (19, 34,5%). Os resultados deste estudo são similares a outros estudos genéticos de BVDV que indicam o BVDV-1a, -1b e BVDV-2b como os subtipos de maior prevalência no Estado do RS. Estes estudos de variabilidade genética de pestivírus em bovinos podem colaborar para programas de vigilância em sanidade animal, inclusive na escolha de ferramentas de diagnóstico e controle mais eficientes.

Palavras-chave: vírus da diarreia viral bovina, problema reprodutivo, bezerro PI.

Keyword: bovine viral diarrhoea virus, reproductive problem, PI calf.

Avaliação dos intervalos de partos no rebanho Girolando da Pesagro-Rio *Evaluation of calving intervals in Girolando Pesagro-Rio herd*

Oswaldo Almeida Resende^{1,2,*}, Rosane Scatamburlo, Lizieire Fajardo², Pedro Afonso Moreira Alves², Sergio Trabali Camargo Filho², Jaci de Almeida³, Yuri Barbosa Guerson⁴, Marco Roberto Bourg de Mello⁴

¹Embrapa Agrobiologia, RJ; ²Pesagro/Cepao, RJ; ³UBM, RJ; ⁴UFRRJ, Rio de Janeiro, RJ. Brasil
*E-mail: oaresende@uol.com.br

O rebanho bovino da Pesagro-Rio é oriundo do plantel do DPEA (cruzamento das raças Holandesa, Gir e Guernsey), iniciado em 1948. Nos últimos quarenta anos optaram-se pelos cruzamentos entre as raças Holandesa (H) e Gir (G), para formar a raça Girolando. O rebanho reduziu-se na última década de 350 a 120 animais. O sistema reprodutivo adotado tem sido inseminação artificial tradicional com observação de cio e IATF, com sêmen congelado, em duas estações anuais, com a finalidade de atender os projetos de pesquisas da Empresa. Na bovinocultura de leite, o intervalo de partos (IP) tem relevante atuação na eficiência econômica da exploração. Assim o IP, composto pelo período de serviço (PS) e período de gestação (PG), é um importante parâmetro para analisar a eficiência reprodutiva, onde doze meses são considerados meta ideal a ser atingida. Entretanto, em sistemas a base de pastagens, esta é uma meta ambiciosa, considerando que o componente PS é o parâmetro responsável pela grande variação, tendo em vista que o PG sofre pouca variação para as diversas raças. Objetivado estudar o IP, no período de 1991 a 2017, foram utilizados os registros nos fichários e software (Geraleite) do rebanho Girolando, da Pesagro Rio/CEPAO. Os IPs foram avaliados em relação: a) Grupo Genético (dias), b) Ano de parto (dias), c) Década de parto (dias), d) Ordem de Partos (dias), sendo submetidos a anova one-way e teste Bonferroni (Bioestat). Os resultados de IP, transformados em meses (média, desvio-padrão e número de parto), foram: a) Grupo Genético ($P < 0,05$): 1) 15/16HP = $20,8^a \pm 6,8(23)$; 2) 7/8HP = $19,0^a \pm 7,1(78)$; 3) 5/8HP = $18,4^a \pm 6,7(352)$; 4) 3/4HP = $16,7^{ab} \pm 7,4(529)$; 5) 1/2HP = $16,7^{ab} \pm 6,2(168)$; 6) 3/4G = $17,5^{ab} \pm 7,4(216)$; 7) 5/8G = $16,7^{ab} \pm 5,3(276)$; 8) 7/8G = $15,2^b \pm 4,3(75)$; e 9) 15/16G = $13,3^b \pm 2,7(19)$; b) Ano de Parto ($P > 0,05$): Média Geral de 1991 a 2017: $17,1 \pm 5,9(1736)$ e Amplitude de $15,4 \pm 4,3(2017)$ a $21,2 \pm 8,3(1999)$; c) Década de Parto ($P < 0,05$): 1^a) 1991-2000 = $18,7^a \pm 6,5(452)$; 2^a) 2001-2010 = $16,6^b \pm 5,8(761)$; e 3^a) 2011-2017 = $16,6^b \pm 5,3(523)$; d) Ordem de Parto ($P < 0,05$): 1-2^o) $18,0^a \pm 6,5(580)$; 2-3^o) $17,0^b \pm 6,6(443)$; 3-4^o) $17,3^b \pm 5,7(309)$; 4-5^o) $16,5^{bc} \pm 5,7(200)$; 5-6^o) $15,6^c \pm 5,1(119)$; 6-7^o) $15,6^c \pm 6,0(56)$; 7-8^o) $14,7^c \pm 4,6(22)$ e 8-9^o) $13,8^c \pm 6,2(7)$. Os animais dos grupos genéticos com mais de 87,5% de sangue Gir (7/8 e 15/16G) apresentaram menores médias IP, em face de serem menos produtivos, mais resistentes à temperaturas elevadas e infestações de ectoparasitos; o ano de parição não teve efeito significativo nas médias de IP, entretanto houve diferença significativa ($P < 0,05$) quando os dados foram analisados por períodos, mostrando intervalos menores para as duas últimas décadas avaliadas, e a ordem de parto apresentou efeito significativo ($P < 0,05$) entre médias de IP, com redução acentuada a partir do quinto parto. Estas médias para este rebanho são consideradas acima do recomendado, mas a adoção de estações de reprodução para atender projetos de pesquisa pode explicar, em parte, estes resultados. As reduções nas médias de IP nos últimos anos podem ser resultantes do uso de IATF, no início das estações de reprodução. Em rebanhos comerciais de bovinocultura de leite deve ser empregada a reprodução programada, com o uso de IATF, em função dos interesses técnicos e econômicos de cada propriedade.

Palavras chave: Girolando, reprodução, bovino de leite.

Keywords: *Girolando, reproduction, dairy cows.*

Eficácia de tratamento com fármacos para recuperação de touros inaptos à reprodução
Effectiveness of treatment with drugs for recovery of buns inappropriate to reproduction

**Danielle Andressa Oliveira Sestari*, Daniel Campos Giosa, Alecsandro Silva de Lima Elias,
Carlos Renato de Freitas Guaitolini, Rosiara Rosária Dias Maziero**

Universidade Paranaense, Unipar, Umuarama, Paraná, Brasil.
*E-mail: dani_sestari@hotmail.com

A avaliação da aptidão reprodutiva dos touros usados como reprodutor, torna-se fundamental, uma vez que 90% das fêmeas em puberdade no Brasil, são acasaladas pelo sistema de monta natural. Deste modo, os reprodutores devem ser avaliados e classificados como aptos, quanto a integridade genital e seminal. Assim, este trabalho teve como objetivo apresentar um procedimento terapêutico, dividido em três dias de aplicações via intramuscular (IM) intercaladas, de complexo vitamínico (Catosal®B12), na dose de 20 mL por animal, um antitóxico (Mercepton®), na dose de 30 mL por animal e um antibiótico (Estreptomax®), na dose de 15 mL por animal, em machos que apresentaram ao exame andrológico subfertilidade, na tentativa de restabelecer seu desempenho reprodutivo e consequentemente evitar perdas econômicas desnecessárias com seu descarte. Foram usados 47 touros da raça Nelore (*Bostaurus indicus*), que foram submetidos a avaliação andrológica nos anos de 2013 a 2017, totalizando 396 exames realizados, precedendo a estação de monta. Para obtenção dos ejaculados, utilizou-se o método de eletroejaculação e imediatamente após a colheita foram realizadas as avaliações de turbilhonamento (0 a 5), motilidade (0 a 100%), vigor (0 a 5) e patologia espermática por microscopia óptica subjetiva. Verificou-se resposta positiva ao tratamento, com retorno dos animais a reprodução em 76,6% dos animais, ou seja, 36 animais, dos 47 tratados, não foram descartados pelo quadro de subfertilidade adquirida. Estes animais apresentaram-se aptos a reprodução, com motilidade total maior ou igual a 60%, vigor espermático acima de 3 e presença de turbilhonamento. Além disso, as patologias totais foram inferiores a 20%. Deste modo, pode-se concluir a eficácia da terapia medicamentosa utilizada, porém ressalta-se a necessidade do aprofundamento dos estudos para se obter maior clareza nos efeitos destes fármacos, nos parâmetros reprodutivos.

Palavras-chave: andrológico, subfertilidade, tratamento, touro.

Keywords: *andrological, bull, infertility, treatment.*



Behavioral evaluation of zebu bulls

Avaliação comportamental de touros zebuínos

**Silvio Renato Oliveira Menegassi^{1,*}, Vanessa Peripolli², Maria Eugênia Andrighetto Canozzi³,
Júlio Otávio Jardim Barcellos¹**

¹Núcleo de Estudos em Sistemas de Produção de Bovinos de Corte e Cadeia Produtiva da Carne (NESPro), Departamento de Zootecnia, UFRGS, Porto Alegre, RS, Brazil; ²Instituto Federal Catarinense (IFC), Araquari, SC, Brazil; ³Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA). Programa Producción de Carne y Lana. Estación Experimental INIA La Estanzuela, Colonia, Uruguay.

*E-mail: programa.paat@gmail.com

During the bull breeding soundness evaluation (BBSE), veterinarians rarely perform sexual behavior assessment, which includes libido and physical ability parameters. These observations during the behavioral step of BBSE is even very fundamental in *Bos taurus indicus*. In bulls of this subgroup, unlike the subgroup *Bos taurus taurus*, the examination is more difficult since they are more reactive to the human presence. Several factors may affect the expression of libido and physical ability in the field, i.e. breed, age, bull-cow ratio, experience, climate, hierarchy and the conditions under which this test is performed. Therefore, the aim of this study was to analyze the rejection rates in the behavioral assessment and the importance of this step in the BBSE in Zebu bulls. Records of the andrological examination of 1,534 bulls (Nelore, Guzerá, Tabapuã and Brahman breeds) in the Rio Grande do Sul state, Brazil was evaluated. The animals were grouped into two age classes: young (two and three years old) and adult bulls (four to ten years old). The Statistical Analysis System software package (SAS Institute, Cary, NC) was used to analyze the data. To analyze the relationship between the binary variable (approved or rejected) in the different steps of the BBSE and age groups (young and adult bulls), the Chi-Square test (PROC-FREQ) was used. Differences were considered significant at $P < 0.05$. The total rejection rates in the BBSE were 5.64% and 15.20% for young and adult bulls, respectively. Rejection by problems in sexual behavior was 0.46% and 2.29% for young and adult bulls, respectively. The absence of libido and physical ability has shown the importance of these problems in relation to the total number of causes of rejection of bulls in the BBSE. In young bulls, the behavioral assessment is so important as the semen evaluation. In adult bulls, also is important, even though they were significantly different. Although libido and physical ability tests may not be sufficient to precisely determine pregnancy rates, the chances of obtaining good indexes of pregnancy rates are higher when bulls approved in all steps of BBSE. There is a strong indication that Zebu breeds had higher rate of rejection in adult than in young bulls, and that behavioral step, even with operational difficulties, must be performed as a routine, and not a complementary test, in the andrological examination.

Keywords: sexual behavior of zebu, libido, physical ability.

Palavras-chave: comportamento sexual de zebuínos, habilidade física, libido.



Effect of scrotal insulation on sperm quality and seminal plasma proteome of Brangus bulls

Efeito da insulação escrotal na qualidade espermática e no proteoma do plasma seminal de touros Brangus

Gabriel Ribas Pereira^{1,*}, Franciele Lucca², Elistone Sontag², Pedro Ferrari Dalberto³, Cristiano Valim Bizarro³, Celso Koetz Junior⁴, Silvio Renato Oliveira Menegassi¹, Júlio Otavio Jardim Barcellos¹, Ivan Cunha Bustamante-Filho²

¹Núcleo de Estudos em Sistemas de Produção de Bovinos de Corte e Cadeia Produtiva, PPG Zootecnia, UFRGS, Porto Alegre, RS, Brasil; ²Laboratório de Biotecnologia, Universidade do Vale do Taquari, UNIVATES, Lajeado, RS, Brasil; ³Centro de Pesquisas em Biologia Molecular e Funcional, Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Tuberculose, TECNOPUC, Porto Alegre, RS, Brasil; ⁴Departamento de Produção Animal, UNOPAR, Araçongas, PR, Brasil.

*E-mail. gabrielribaspereira@gmail.com

In beef cattle breeding systems, mating takes place during the hottest months of the year and bulls are subject to environmental variations that may interfere with their fertility and herd reproductive effectiveness. Detection of changes in these mechanisms will serve to determine possible causes of the decrease in the seminal production. We evaluated the changes in seminal plasma (SP) proteome of ejaculates from scrotal insulated of tropically adapted Brangus bulls. All procedures were approved by CEUA (Project 26250/UFRGS). Semen samples from six bulls, between 7 and 8 years of age, were collected prior to scrotal insulation (pre-insulation), 4 and 11 weeks after insulation. Scrotal insulation (SI) was performed for 72 h using plastic diapers containing two layers of cotton and covering the entire scrotum surface. Semen collections were performed using an automatic operated electroejaculator and all animals had a breeding soundness examination at the beginning of the experiment. After collection, semen aliquots were centrifuged at 800 x g for 10 min at room temperature, followed by a second centrifugation at 12,000 x g for 60 min at 4°C, aiming to remove all cells and debris. Seminal plasma samples were analyzed by 2D SDS-PAGE and LC-MS/MS. All identified proteins were categorized by Gene Ontology according to biological process and molecular function using the Blast2GO 4.0 tool. Insulation caused significant decrease in gross motility, motility and vigour after 4 weeks of scrotal insult. Seminal plasma protein concentration did not differ statistically between time points (prior SI: 11.32 ± 3.23; 4 weeks after SI: 12.07 ± 2.25; 11 weeks after SI: 10.92 ± 4.72). A total of 183 unique protein spots were identified in all gels. There was no difference in mean number of protein spots found between all three-time points. Eight protein spots were more abundant in SP after SI, returning to the same expression level after 11 weeks. One spot had a higher expression at 11 weeks after SI and one spot showed a lower abundance 4 weeks after SI. Ten protein spots with differential abundance between time-points were identified as: SP protein PDC-109, SP protein A3, SP protein BSP-30 kDa, Spermadhesin-1 and Metalloproteinase inhibitor 2. Testicular tissue was compromised after SI for 72 h based on the sperm parameters evaluation; however, testicular function was reestablished after 11 weeks and SP proteomics showed different time frame acquisition that might influence biological and molecular processes in bovine. Ten protein spots were finding to be differently expressed in bulls submitted to scrotal insult. Based on their molecular function, regulation and protein-protein interactions, we could confirm that these proteins are directly associated to cellular and molecular events that drive spermatogenesis. Further studies are required to verify if these proteins could be used as biomarkers for the identification of bulls with increased seminal resistance to heat stress in Brangus breed.

Keywords: scrotal insulation, heat stress, proteomics, mass spectrometry, bulls.

Palavras-chave: insulação escrotal, estresse, proteoma, espectrometria de massa, touros.

Efeito do GnRH em vacas com baixo escore de condição corporal no dia da Inseminação Artificial em Tempo Fixo

Effect of GnRH on cows with low body condition score on the day of Artificial Insemination Fixed Time

Laura Camélia Brandão Coêlho¹, Lucas Diniz Silva¹, Victória Torquato Fernandes dos Santos¹, Sérgio Henrique Costa Júnior², Felipe de Jesus Moraes Junior^{3,*}

¹Graduando de Medicina Veterinária, Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), São Luís, MA, Brasil;

²Mestrando em Ciência Animal, Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), São Luís, MA, Brasil;

³Departamento de Clínicas Veterinárias, Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), São Luís, MA, Brasil.

*E-mail: moraesjunior@cca.uma.br

O alicerce para a produção de carne, leite e couro é a espécie bovina. As biotécnicas permitem o avanço do rebanho nacional sobre sua eficiência reprodutiva e produtiva. Portanto, a Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF) é uma biotecnologia viável e econômica quando combinada com programas de seleção genética. Objetivou-se avaliar o efeito do acetato de gonadorelina (GnRH) em fêmeas bovinas da raça Nelore no momento da inseminação. O estudo foi realizado na Fazenda Caucaia no município de Vitorino Freire – Maranhão, no período de agosto a outubro de 2018. Foram utilizadas 663 vacas da raça Nelore (*Bos taurus indicus*) paridas da estação de monta (EM) do ano passado. Todas as fêmeas (n=663) foram submetidas à avaliação visual do escore de condição corporal (ECC) no início do protocolo sendo classificadas através de escore que varia de 1 a 5 (1 - muito magra e 5 - obesa) e submetidas à triagem ginecológica com auxílio de ultrassonografia (Mindray, Z5 Vet) para avaliação de afecções adquiridas ou congênitas capazes de interferir no resultado do experimento. As fêmeas foram divididas em grupos controle (G1+ECC 2, n=161; G1+ECC 2,5, n=167) e GnRH (G2+ECC 2, n=174; G2+ECC 2,5, n=161) e submetidas ao protocolo: D0 – inserção do dispositivo intravaginal de progesterona (P4, PRIMER®, Tecnopec) por oito dias e aplicação IM de 2,0mg de Benzoato de Estradiol (BE, RIC-BE®, Tecnopec); D8 – remoção do dispositivo, aplicação IM de 300UI de Gonadotrofina Coriônica Equina (eCG, NOVORMON®, Zoetis), 0,6mg de Cipionato de Estradiol (CE, E.C.P.®, Zoetis) e 361,5µg de Cloprostenol Sódico (PGF2 α , ESTRON®, Tecnopec); Dia 10 – inseminação 48 horas após a retirada do dispositivo de P4, realizada por um único inseminador. Os animais do grupo GnRH receberam 25 µg de gonadorelina (GnRH, GESTRAN PLUS®, Tecnopec) no dia da inseminação. O diagnóstico de gestação foi realizado por ultrassonografia 30 dias após a IATF. As variáveis foram analisadas pelo teste do χ^2 ($p < 0,05$). A aplicação do GnRH (57,31%; 192/335) melhorou ($p < 0,05$) a prenhez em relação ao controle (47,86%; 157/328). A avaliação do escore de condição corporal mais a aplicação do GnRH melhorou ($p < 0,05$) a prenhez no grupo G2+EEC2 (59,19%; 103/174) quando comparado ao grupo G1+ECC2 (45,96%; 74/161), mas foi semelhante ($p > 0,05$) entre os grupos G2+ECC2,5 (52,27%; 89/161) e G1+ECC 2,5 (49,70; 83/167). A prenhez de todos os grupos (Controle e GnRH) foi de 52,63% (349/663). A indução da ovulação do GnRH aumentou a prenhez das vacas no geral e com escore de condição corporal 2. #

Palavras-chave: GnRH, Inseminação Artificial, Nelore, Prenhez.

Keywords: GnRH, Artificial Insemination, Nelore, Pregnancy.



Vitrificação de ovários bovinos e avaliação de seus oócitos

Bovine ovaries vitrification and avaliation of their oocytes

**Gabriel Brocsewisk Strada^{1,*}, Patrícia de Freitas Salla², Yuri Soares Dillenburg³,
Ana Carolina de Freitas Pereira Fachini³**

¹Graduando do curso de Medicina Veterinária, Centro Universitário da Região da Campanha, Bagé, RS, Brasil;

²Discente do Curso de Medicina Veterinária, Centro Universitário da Região da Campanha, Bagé, RS, Brasil;

³Origen Centro de Reproducción Animal, Trinidad, Flores, Uruguay.

*E-mail: gabriel_strada@hotmail.com

A necessidade pela melhora dos índices produtivos em bovinos faz com que as biotecnologias da reprodução animal se desenvolvam cada vez mais. Neste passo, o armazenamento de material genético ganha destaque, principalmente através das técnicas de vitrificação. Essa biotécnica conta com a utilização de agentes crioprotetores intra ou extracelulares para impedir ou reduzir a formação de gelo, principal causa de injúrias nas células criopreservadas. Porém, ao passo que são essenciais para o sucesso desta técnica, os crioprotetores também possuem ação tóxica sobre as células expostas. A avaliação e classificação dos oócitos obtidos de ovários vitrificados são de suma importância para que se possa verificar o papel que o agente crioprotetor e o processo de criopreservação exercem sobre sua integridade. No presente experimento foram utilizados dez ovários oriundos de vacas abatidas em um frigorífico localizado na cidade de Bagé/RS. Os mesmos foram dissecados, lavados com solução fisiológica 0,9%, imersos em DMSO 7,5M durante 30 minutos, armazenados em sacos plásticos individualmente, resfriados em recipiente isotérmico a 5°C durante 30 minutos e, posteriormente, submersos em nitrogênio líquido. O descongelamento ocorreu em banho-maria a 36°C, até que os ovários estivessem completamente descongelados. Em seguida, realizou-se a punção folicular, avaliação e classificação dos oócitos recuperados em qualidades de 1 a 4 (O1 a O4), conforme a quantidade de células do cumulus ao seu redor, obedecendo aos seguintes critérios: Qualidade 1: cumulus presente e compacto, com 3 ou mais camadas de células. Qualidade 2: cumulus compacto, parcialmente ou completamente presente ao redor do oócito, com menos de 3 camadas celulares. Qualidade 3: presença de cumulus, porém expandido, não cobrindo totalmente o oócito. Qualidade 4: não há presença de cumulus, oócito totalmente desnudo. Dos dez ovários vitrificados, foram recuperados dois O1 íntegros, um O1 inviável, oito O2 íntegros, oito O2 inviáveis, 11 O3 íntegros, 16 O3 inviáveis, 20 O4 íntegros e 32 O4 inviáveis, totalizando 98 oócitos avaliados (41 íntegros e 57 inviáveis). O grande número de oócitos inviáveis, possivelmente, se deva ao fato de serem células volumosas, com grande quantidade de células da granulosa ao seu redor, formando o complexo cumulus-oócito, o qual dificulta a penetração dos agentes crioprotetores, fazendo com que ocorra a formação de cristais de gelo no interior do oócito durante a vitrificação, e estes promovam o rompimento da membrana do oócito durante o descongelamento. No entanto, as células do cumulus são importantes para a maturação do oócito durante produção *in vitro* de embriões (PIVE). A biotécnica de criopreservação ovariana com utilização de DMSO mostra ser promissora pela quantidade de oócitos viáveis recuperados (41,8%), todavia há espaço para ajustes, como na concentração do agente crioprotetor e/ou associação com outros crioprotetores intra ou extracelulares, bem como o tempo de exposição aos mesmos, buscando resultados mais exitosos. Ademais, é necessária a continuação do processo com a realização da PIVE, a partir de oócitos íntegros recuperados de ovários criopreservados, para que se possa, efetivamente, avaliar a funcionalidade destes oócitos.

Palavras-chave: criopreservação, agentes crioprotetores, cumulus, biotécnica.

Keywords: *criopreservation, crioprotectants, cumulus, biotechnology.*



Produção de citocinas IL1 β , IL6 e CXCL8 por explantes endometriais de novilhas azebuadas estimulados por diferentes padrões moleculares associados a patógenos

Production of cytokines IL1 β , IL6 and CXCL8 by endometrial explants of zebu based heifers stimulated by different pathogen-associated molecular patterns

**Philippe Pimenta Nunes¹, Telma da Mata Martins², Ana Carolina Leite^{1,*},
Eliane Beatriz Magalhães Silva³, Renato de Lima Santos⁴, Tatiane Alves da Paixão⁴,
Álan Maia Borges⁴**

¹Aluno de Doutorado EV/UFMG; ²Prof. UNIFOR/MG; ³Técnica de Laboratório – DCCV/EV/UFMG; ⁴Prof. EV/UFMG, Belo Horizonte, MG, Brasil.

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

Infecções bacterianas uterinas são comuns no período pós-parto, principalmente em rebanhos leiteiros especializados. Entretanto, a incidência de tais afecções em animais azebuados é muito inferior, quando comparados aos animais taurinos. Como hipótese temos que o perfil de citocinas produzidas pela resposta imune inata uterina de fêmeas azebuadas confere a tais animais maior resistência às infecções no pós-parto. Esse estudo foi aprovado pelo CEUA/UFMG e teve financiamento da FAPEMIG (APQ 01939-13). Explantes endometriais provenientes de tratos genitais de novilhas azebuadas, abatidas em frigorífico, foram utilizados para estimulação com diferentes padrões moleculares associados a patógenos (PAMP). Foram mensuradas, por meio de ELISA, as concentrações no meio de cultivo de citocinas pró-inflamatórias interleucina 1 β (IL1 β), interleucina 6 (IL6) e quimiocina CXCL8 produzidas por explantes endometriais de novilhas azebuadas em diestro, estimulados por diferentes concentrações de lipopolissacarídeo (LPS – 0,0001 a 1,0 μ g/mL), lipoproteína triacetilada sintética (PAM3 – 0,0001 a 1,0 μ g/mL) e peptidoglicano (PGN – 0,001 a 10,0 μ g/mL). Foram avaliados a dinâmica de produção, acúmulo de citocinas ao longo do tempo e a influência de diferentes fases do ciclo estral sobre a produção de citocinas por explantes endometriais, quando os mesmos foram estimulados por 1,0 μ g/mL de LPS. Variáveis normais foram submetidas a ANOVA seguida de testes de Dunnett, Bonferroni, t pareado e t não pareado, de acordo com o tipo de comparação entre médias dos experimentos. Variáveis não normais foram submetidas a teste de Friedman seguido de testes de Dunn, Wilcoxon e Kruskal-Wallis, de acordo com o tipo de comparação entre média dos experimentos. Nível de significância adotado foi de 5%. Explantes endometriais produziram maiores concentrações de IL1 β em resposta a 1,0 μ g/mL de LPS (P<0,05) após 24 horas de cultivo e 10,0 μ g/mL de PGN (P<0,01) após 24 e 48 horas de cultivo; maiores concentrações de IL6 em resposta a 0,1 (P<0,05) e 1,0 μ g/mL de LPS (P<0,01) e CXCL8 em resposta a 0,1 (P<0,01) e 1,0 μ g/mL de LPS (P<0,01) após 24 horas de cultivo. Explantes estimulados por LPS apresentaram maior produção de IL1 β de 6 a 18 horas (P<0,05), com maior acúmulo a partir de 24 horas de cultivo (P<0,05); maior produção de IL6 durante as 12 horas iniciais de cultivo (P<0,05), acumulando maiores concentrações de IL6 após seis (P<0,01) e 24 horas (P<0,05) de cultivo; e maior produção de CXCL8 de 6 a 12 e 18 a 24 horas (P<0,05), com acúmulo significativo de 6 a 48 horas (P<0,05) de cultivo. Explantes endometriais de tratos genitais em fase de metaestro, estimulados por LPS, produziram maiores concentrações de IL6 (P<0,01) e CXCL8 (P<0,05) após 24 horas de cultivo e IL6 (P<0,05) após 48 horas de cultivo. Explantes endometriais de tratos genitais em fase de diestro produziram maiores concentrações de IL1 β (P<0,05) e IL6 (P<0,05) após 24 horas de cultivo e IL6 (P<0,05) após 48 horas de cultivo. Já explantes endometriais de tratos genitais em fase de proestro/estro produziram maiores concentrações de IL1 β (P<0,05) após 24 horas de cultivo. Não houve diferença significativa entre as produções de citocinas por explantes endometriais provenientes de tratos genitais em diferentes fases do ciclo estral. Conclui-se que explantes endometriais de novilhas azebuadas respondem à estimulação por PAMP com produção de IL1 β , IL6 e CXCL8, porém sem influência das fases do ciclo estral sobre a resposta inflamatória endometrial, refutando a hipótese inicialmente proposta.

Palavras-chave: Bovinos, citocinas, endométrio, inflamação, zebu.

Keywords: Bovine, cytokines, endometrium, inflammation, zebu.



Efeito da influência do estrogênio na fertilidade de vacas mestiças leiteiras repeat-breeder
Effects of influence of estrogen in fertility in Crossbred, Zebu - Holstein dairy cows repeat-breeder

**Antonio Jorge Del Rei^{1,*}, Claudio Coutinho Bartolomeu², Caio Tacito Alvarez³,
Jose Assunção Silveira Junior², Marcio dos Santos Pedreira³**

¹Professor do curso de Zootecnia, UESB - Campus Itapetinga - BA; ²UFRPE - Recife - PE;

³UESC - Ilhéus -BA; ⁴IFBAIANO - Guanambi, BA, Brasil.

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

O incremento dos índices zootécnicos na pecuária leiteira, fez com que tornassem alvos de intensos estudos em todas as áreas, principalmente ligadas a a fisiopatologia da reprodução animal. Avaca "Repeat-Breeder", que representa repetição de cio, ou de concepção difícil, e clinicamente normal, porém de fertilidade reduzida por falha da fecundação e/ou morte precoce do embrião, sem causa aparente. Não apresenta anormalidade perceptíveis no sistema genital e apresenta ciclos estrais regulares. A síndrome manifesta-se pela repetição do cio após três ou mais coberturas ou Inseminação Artificial (IA), com sêmen de boa fertilidade. Esta tipo de infertilidade funcional torna-se cada vez mais frequente vem causando grandes prejuízos à medida que se intensifica a exploração pecuária. Em um rebanho (n=666) vacas mestiças Zebu x Holandes foi observada a síndrome da vaca Repeat-Breeder (n=92), (13,8%) animais. Criados a campo no período de 2016 a 2017, recebendo suplementação de concentrado após a ordenha e fecundadas por (IA). Da aplicação de 2mg de Benzoato de Estradiol por via IM, em 92 vacas logo após a IA, e em 62 (67,39%) ficaram gestantes, com um total de 136 inseminações VS 408 não prenhes realizadas anteriormente. De acordo com resultados obtidos, sugerem que a administração hormonal foi provavelmente responsável pelo aumento da taxa de gestação em animais "Repeat-Breeder", que apresentaram três ou mais IA sem concepção.

Palavras-chaves: estrogênio, fertilidade, repetidora de cio.

Keywords: *estrogen, fertility, Repeat-breeder.*

Características de sêmen bovino congelado hiperativado e não hiperativado – Resultado preliminares

Characteristics of hyperactivated and non hyperactivated bovine frozen semen - Preliminary results

**Ana Beatriz Marques de Almeida¹, Myrian Megumy Tsonokawa Hidalgo²,
Fábio Lucas Zitto de Moraes¹, Anne Kemmer Souza¹, Maria Isabel Mello Martins^{3,*}**

¹Doutorando (a) do programa de Ciência Animal, Universidade Estadual de Londrina (UEL), Londrina, PR;

²Mestranda do programa de Ciência Animal, Universidade Estadual de Londrina (UEL), Londrina, PR; ³Professora do Departamento de Clínicas Veterinárias, Universidade Estadual de Londrina (UEL), Londrina, PR.

*E-mail: imartins@uel.br

A hiperatividade espermática é um comportamento fisiológico do espermatozoide, que ocorre para que se desprendam do epitélio das tubas uterinas. Contudo, quando a hiperativação de espermatozoides acontece precocemente, estes perdem muita energia, podendo prejudicar seu trajeto até o oócito e a consequente fertilização. O objetivo deste estudo foi comparar a cinética, morfologia espermática e taxas de prenhez entre doses de sêmen descongeladas que apresentaram hiperativação espermática (H+) e doses com espermatozoides não hiperativados (H-). Foram analisadas no sistema CASA (Computer Assisted Sperm Analyzer, Hamilton-Thorne IVOS II, Beverly, MA, USA, setup para espécie bovina) palhetas descongeladas provenientes de 11 touros com taxas de prenhez conhecida. A partir dos dados da cinética espermática, foram separadas em grupo H+ (quando: ALH > 7µm, VCL > 80µm/s e LIN ≤ 65%; n=6) e grupo H- (quando: ALH < 7µm, VCL < 80µm/s e LIN > 65%; n=5). A morfologia espermática e integridade de membrana foram realizadas por meio de esfregaço corado com eosina nigrosina. Os dados obtidos foram submetidos a análise estatística, no software Sigma Plot 12.0, utilizando-se o teste T, comparando os grupos H+ e H-. Para as variáveis motilidade, motilidade progressiva e alterações morfológicas não foram constatadas diferenças entre os grupos H+ e H-. Contudo foram identificadas diferenças estatísticas (H+ versus H-) nos parâmetros: porcentagem de células rápidas (58,8% versus 45,8%; p=0,05), porcentagem de células de velocidade média (7,3% versus 18,2%; p=0,01), VAP (105,8µm/s versus 76,6µm/s; p=0,04), VCL (198µm/s versus 130µm/s; p=<0,001), ALH (8,4µm versus 6,1µm; p=<0,001), LIN (38,1% versus 50,8%; p=0,004). As taxas de prenhez também diferenciaram entre doses H+ (53,2%) versus H- (67,6%), p=0,04. Portanto, baseado nos resultados prévios, é possível concluir que a hiperativação é um comportamento prejudicial às células espermáticas quando ocorre muito antes à fertilização.

Palavras-chave: hiperativação espermática, sistema CASA, touros.

Keywords: bulls, sperm hyperactivation, CASA system.



Assessment of the sperm specific protein proAKAP4 as a marker to evaluate sperm quality and fertility in Holstein bulls

Isabelle Ruelle¹, Frédéric Charreaux², Djemil Bencharif¹, Chantal Thorin¹, Sandrine Michaud¹, Eric Schmitt³, Nicolas Sergeant^{4,5}, Lamia Briand-Amirat¹, Maryse Delehedde^{5,*}

¹Oniris, Nantes-Atlantic College of Veterinary Medicine, Nantes, France; ²EVOLUTION XY, Noyal sur Vilaine, France; ³IMV Technologies, Aigle, France; ⁴University of Lille, INSERM, UMRS61172, Lille, France; ⁵SPQI, 4BioDx-Breeding Section, Lille, France.

*E-mail: mdelehedde@4biodx.com

Structurally, proAKAP4 is a specific sperm macromolecule that must be processed to release the mature AKAP4, that in turn is essential to coordinate major transduction signals regulating sperm motility, capacitation and fertility. The 4MID® kits that quantify sperm proAKAP4 have been recently introduced as indicators of sperm quality in pigs and horses. As proAKAP4 is a highly conserved between species (from reptiles to mammals) and with 77% of homology with bull and human proAKAP4, we design a study to assess the relationship between the concentrations of proAKAP4, the sperm parameters and fertility outcomes in post-thawed bull semen using the commercialized Bull 4MID® kits (4BioDx, France). Therefore 104 straws of 0.2 mL packed with 80 million spermatozoa/mL in extenders from 13 bulls identified with varying fertility rates were provided by Evolution XY (France). Sperm parameters (concentration and motility) were assessed using Leja cells in a computer assisted semen analysis (CASA) (IVOS version 12.0, Hamilton Thorne Research, Beverly, MA, USA). In parallel, post-thawed bull semen were analyzed with the Bull 4MID® kit and with orthogonal techniques such as western blotting, flow cytometry and electron microscopy for further characterization of proAKAP4 expressions in bull spermatozoa. First, we observed marked variations in proAKAP4 concentrations between ejaculates, highlighting the interest to have a functional sperm parameter to assess sperm quality, independently of classic sperm parameters. Using the Bull 4MID® kit, proAKAP4 concentrations varied from 8.62 to 95.5 ng/10 millions of spermatozoa in bull semen doses. These variations in proAKAP4 concentrations were positively correlated to progressive motility. Interestingly the number given by the Bull 4MID® kit reflects the proportion of spermatozoa expressing the proAKAP4 as confirmed by flow cytometry, therefore indicating the proportion of functional spermatozoa in semen samples. Interestingly, using the Zombie NR viability dye, we showed that cell debris never contained proAKAP4 sperm marker and that spermatozoa fully lacking proAKAP4 expression are observed in bull semen. Compared to CASA data, the proAKAP4 concentration parameter represents then a dynamic indicator of sperm motility and functionality. In conclusion, our preliminary results clearly showed that level of expression of proAKAP4 as assessed by the Bull 4MID® kit are good indicator of sperm quality and could predict fertility in bulls.

Gordura protegida na qualidade do sêmen criopreservado de touros Nelore

Protected fat on Nelore bulls cryopreserved semen quality

Pedro Paulo Tsuneda^{1,*}, Gilmar Ferreira Rodrigues², Luciana Keiko Hatamoto-Zervoudakis³, Joanis Tilemahos Zervoudakis³, Tathiana Ferguson Motheo³, João Diego de Agostini Losano⁴, Marcilio Nichi⁴

¹Pós-graduando do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT), Cuiabá, MT; ²Graduando de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Mato Grosso (UFMT), Cuiabá, MT, Brasil, Docente da Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Mato Grosso (UFMT), Cuiabá, MT, Brasil; ⁴Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

*E-mail: pedrotsuneda@hotmail.com

A membrana plasmática dos espermatozoides é rica em ácidos graxos poliinsaturados, porém, sabe-se que em ruminantes há uma carência destes devido à ausência de enzimas como a delta-6 desaturase. Ainda, a aquisição desses ácidos pela alimentação é restrita em decorrência do processo de biohidrogenação ruminal. Sendo assim, o uso de ácidos graxos poli insaturados protegidos com sais de cálcio é uma alternativa para maximizar a absorção intestinal por esses animais. O objetivo do presente estudo foi avaliar o estresse oxidativo (TBARS) e a atividade citoquímica mitocondrial (DAB) do sêmen de touros suplementados com óleo de palma e/ou óleo de soja protegidos por sais de cálcio. Foram utilizados 24 reprodutores da raça Nelore com peso médio $389,5 \pm 20$ kg e idade média de 15 meses. Os animais foram distribuídos em dois grupos (n=12): Controle (CO) - suplemento de milho e resíduo seco de destilaria com solúveis (DDGS) e óleo de soja + óleo de palma (OP+OS) - suplemento controle + 145 g de gordura de soja protegida + 145 g de palma protegida. Após 84 dias de suplementação, os animais foram submetidos à coleta seminal por meio de eletroestimulação. Após a coleta, os ejaculados foram diluídos em meio comercial Triladyl[®] e envasados em palhetas de 0,5mL em concentração de 30×10^6 espermatozoides viáveis por palheta. Ato contínuo, as palhetas foram resfriadas a 4°C/ 4 horas, colocadas em vapor de nitrogênio (N₂) por 15 minutos e por fim imersas e armazenadas em N₂ até avaliação. O descongelamento do sêmen foi realizado em banho-maria a 37°C, por 30 segundos. As amostras foram analisadas quanto a atividade mitocondrial (DAB) e os espermatozoides foram classificados em quatro classes: DAB 1; espermatozoides com todas as mitocôndrias ativas, DAB 2; espermatozoides com mais da metade da bainha mitocondrial ativa, porém com áreas inativas, DAB 3; espermatozoides com menos da metade da bainha mitocondrial ativa, DAB 4; espermatozoides totalmente inativos. Para determinar o estresse oxidativo utilizou-se da técnica de indução da lipoperoxidação (TBARS induzido). Dessa forma, adicionou-se sulfato de ferro (4µM) e ácido ascórbico (4µM) para indução da lipoperoxidação. Em sequência adicionou-se ácido tricloroacético a 10% (v: v) a frio (TCA 10%) para precipitação proteica, e posteriormente ácido tiobarbitúrico para avaliação. O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado e o efeito do tratamento analisado por meio de análise de variância (ANOVA), utilizando-se o programa estatístico SAS (versão 9.3), com nível de significância de 5%. Não foi observada diferença entre as concentrações de TBARS entre os grupos estudados (P>0,05). Já os animais do grupo OP+ OS apresentaram menor percentagem de espermatozoides classificados como DAB 3 ($2,06 \pm 0,51$) comparativamente ao grupo CO ($4,77 \pm 1,03$) (P = 0,0267). Dessa forma, pode-se concluir que a suplementação com a associação dos óleos de palma e soja foi eficiente na prevenção de danos durante o processo de criopreservação, uma vez que diminuiu a quantidade de espermatozoides com atividade mitocondrial reduzida nas amostras seminais de touros Nelore.

Palavras-chave: ácidos graxos, andrologia, reprodução.

Keywords: fatty acids, andrology, reproduction.



Prolapso total de vagina com consequente evisceração do colón menor e vesícula urinária em vaca nelore não gestante submetida à repetidas aspirações foliculares – relato de caso

Total prolapse of vagina with evisceration of the lower colon and urinary vesicle in non-pregnant nelore cow submitted to repeated follicular aspirations - case report

Nereu Carlos Prestes¹, Felipe Erison Medrado Rocha de Sousa^{1*}, Humberto Borges Magalhães¹, Marcelo Piagentini²

¹Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), UNESP, Botucatu, SP, Brasil; ²Médico Veterinário Autônomo.

*E-mail: felipeerison@hotmail.com

Uma vaca nelore, 6 anos de idade, nulípara, pesando 700 Kg, foi encaminhada ao Hospital Veterinário com quadro de prolapso total de vagina, com evisceração do colón menor e da vesícula urinária, resultante de seguidas aspirações foliculares guiada por ultrassonografia via fundo vaginal e após a realização de técnicas para resolução das recidivas. O animal apresentava histórico de prolapso vaginal crônico com seis episódios nos dois últimos anos, sendo sempre instituída sutura de Bühner como tratamento. Após o último episódio, foi realizada anamnese e exame físico na propriedade de origem do paciente. O animal apresentava normorexia, auscultação ruminal sem alteração, frequências cardíaca e respiratória, com 65 batimentos por minuto (bpm) e 16 movimentos por minuto (mpm) respectivamente. As mucosas aparentes apresentavam-se róseas e tempo de preenchimento capilar igual a 2. À inspeção, observou-se integridade da mucosa vaginal prolapsada, edema leve, sinais de vaginite, apresentando tenesmo e eliminação de fezes pastosas. Posteriormente, foi realizada antisepsia do local com água corrente e gluconato de clorexidina 2%, procedeu-se anestesia peridural intercoccígea com lidocaína 2%, permitindo a sua reversão seguida de sutura padrão Bühner. Cinco dias após a realização deste procedimento, o animal foi novamente examinado por apresentar prolapso cérvico-vaginal e extensas áreas de fibrose, mucosa desidratada e diafragma pélvico extremamente fino, constatado por vaginoscopia e palpação manual, impossibilitando uma sutura de reforço ou colpoplastia. Dois dias após o último episódio de prolapso e execução das medidas pré-operatórias, o médico veterinário responsável solicitou a realização de colpoptexia através da técnica de Minchev (1956), modificada por Hellú (2015). Três dias após este procedimento, o animal apresentou recidiva, com ruptura do fundo vaginal e evisceração do colón menor e vesícula urinária. Devido à gravidade e extensão das lesões e visando o bem estar do animal, optou-se pela eutanásia. Não foi encontrado na literatura, relato similar desta condição em fêmeas bovinas não gestantes.

Palavras-chave: vaca de elite, não gestante, OPU-Ovum pick-up, evisceração.

Keywords: cow elite, non-pregnant, OPU-Ovum pick-up, evisceration.

Endometrites em novilhas de corte durante protocolo de IATF

Endometritis in heifers during IATF protocol

Bruno Afonso Rivero*, Geórgia Camargo Góss, Grazielle Salgueiro da Silva, Fábio Flain Piffero, Irina Lubeck, Fabricio Desconsi Mozzaquatro, Camila Brum Pradebon, Bruno Belmonte Silveira

Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA), Uruguaiana, RS, Brasil.

*E-mail: bruno_rivero_07@hotmail.com

A inseminação artificial em tempo fixo (IATF) é uma biotecnologia amplamente utilizada por médicos veterinários em propriedades rurais. Porém, existem variabilidades de resultados devido a múltiplos fatores como: erros na execução dos protocolos, nutrição, manejo (estresse), sanidade, entre outros. Em matrizes a principal alteração que interfere na gestação são as infecções uterinas. O processo inflamatório do endométrio denomina-se endometrite, sendo caracterizada por secreção intrauterina que pode ser dos tipos catarral, mucopurulenta ou purulenta. É classificada de 1 a 4, dependendo do grau de severidade. O seu desenvolvimento pode ou não estar associado à ação de microrganismos piogênicos ou reação a corpos estranhos, comuns ao pós-parto. É frequentemente observada em gado leiteiro, menos comum em animais de corte, e, raramente em primíparas. Os objetivos deste trabalho foram: 1) Relatar a importância do exame ultrassonográfico durante a realização de protocolo de IATF em novilhas de corte; 2) Relatar a ocorrência de endometrite em novilhas submetidas a IATF. O protocolo utilizado nas novilhas (n=76) foi de três manejos, sendo que no dia 0 (D0) foi realizado exame ginecológico completo e exame ultrassonográfico (US) em todas as fêmeas para verificar a saúde reprodutiva. Este exame foi repetido no dia 8 (D8) e no dia 10 (D10). No D0 foi realizada aplicação de 2 ml de benzoato de estradiol via intramuscular (IM) e, com auxílio de aplicador introduziu-se dispositivo intravaginal monodose de progesterona (P4; 1g), com as hastes de silicone em formato de 'Y'. Previamente à aplicação, realizou-se higienização no exterior do trato reprodutivo da fêmea e, em seguida, desinfecção dos dispositivos com água e cloreto de alquil dimetil benzil amônia (CB30). No D8, retiraram-se os dispositivos intravaginais e foram aplicados 0,5 ml de cipionato de estradiol, 2 ml de prostaglandina e 400 UI de eCG. No D10, procedeu-se a inseminação artificial em todas as novilhas independente da infecção encontrada. Durante a avaliação US e exame ginecológico no D0, as novilhas não apresentaram nenhuma alteração, sendo consideradas aptas para iniciar a IATF. Porém, no momento da retirada dos implantes de P4 (D8), notou-se que 98,68% (75/76) das novilhas apresentaram endometrite com catarro genital variando de grau 1 a 3 (CG I - mucoturvo a CGIII - mucopurulento), observados via US transretal e vaginoscopia. Dois dias após a retirada dos implantes (D10), 81,33% (61/75) das novilhas apresentaram melhora do quadro reprodutivo: 21,31% (13/61) regressão total dos sinais de inflamação; 78,68% (48/61) permaneceram com endometrite em grau mais leve. Em 18,42% (14/76) das novilhas houve piora no quadro da afecção aumentando o grau e o caráter da secreção uterina. Durante o protocolo de IATF não houve tratamento farmacológico destas infecções. Embora não se possa descartar totalmente a possibilidade de contaminação por manipulação, durante todo o protocolo o manuseio dos implantes e a higienização das fêmeas foram realizados com extrema cautela e cuidado. Os implantes eram novos e foram desinfetados com amônia quaternária (CB30) e o períneo das novilhas devidamente higienizado para retirada das fezes. Entretanto, o dispositivo intravaginal de liberação de progesterona utilizado possuía uma particularidade, era revestido por tecido, o qual pode ter drenado a água com o desinfetante, agindo como corpo estranho, ocasionando irritação na mucosa vaginal e posteriormente uterina, iniciando o processo inflamatório. A maior consequência da endometrite é a diminuição das taxas de prenhez, fato observado neste trabalho (28,9% - 22/76). Conclui-se que o exame ginecológico completo associado à ultrassonografia transretal é de suma importância antes, durante e após a realização de protocolos de IATF para identificar fêmeas problemáticas e otimizar resultados. Podemos concluir ainda, que o tipo de dispositivo intravaginal de liberação de progesterona pode levar ao aparecimento de endometrites em novilhas híbridas.

Palavras-chave: infecção útero, ultrassonografia, vaginoscopia.

Keywords: *uterine infection, ultrasonography, vaginocopy.*

Atividade antioxidante do Eugenol no sêmen

Antioxidant activity of Eugenol in semen

**Yndyra Nayan Teixeira Carvalho Castelo Branco^{1,*}, Marlon de Araújo Castelo Branco²,
Micherlene da Silva Carneiro Lustosa³, Filipe Nunes Barros³, Anna Monallysa Silva de Oliveira³,
Amanda Cristina Souza Santos⁴, José Adalmir Torres de Souza⁵**

¹Professora do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Sergipe, Nossa Senhora da Glória, SE, Brasil; ²Professor do Curso de Enfermagem, Faculdade Maurício de Nassau, Teresina, PI, Brasil; ³Pós-graduandos do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal do Piauí, Teresina, PI, Brasil; ⁴Graduanda do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Sergipe, Nossa Senhora da Glória, SE, Brasil;

⁵Professor do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Piauí, Teresina, PI, Brasil.

*E-mail: yndyranayan1@hotmail.com

Os ROS visam o conteúdo lipídico da membrana celular, conseqüentemente os danos estruturais da membrana, resultam em maior permeabilidade e fluidez da membrana espermática, mesmo no sêmen com maior viabilidade pós-descongelamento. Em estudos para estimar a capacidade do eugenol em atuar como antioxidante observou-se um poder redutor efetivo deste composto na capacidade de eliminação de radicais livres, demonstrado pela redução de ferricianeto de potássio e cúprico (Cu^{2+}) e por métodos de redução quando comparados com a-Tocoferol, BHT e BHA. No entanto, ainda não existem evidências e estudos relativos ao eugenol (*Eugenia caryophyllata*), na criopreservação espermática. Objetivou-se avaliar a atividade antioxidante do eugenol na criopreservação espermática. Foram utilizados vinte ejaculados de quatro bovinos Curraleiro Pé-Duro, obtidos a partir de eletroejaculação, os quais foram diluídos em Tris-Gema, pré-estabelecendo três diferentes diluições: Controle (0 μM), 10 μM e 50 μM de eugenol, adicionadas ao diluidor Tris-Gema. Posteriormente as amostras foram envasadas e criopreservadas em máquina TK 3000®. Após descongelamento as amostras foram analisadas quanto a quantificação da lipoperoxidação espermática, pela detecção de malonaldeído, e quantificação da glutathiona reduzida (GSH). Os dados foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA), seguida por Tukey como teste post hoc, na probabilidade de 5%. As análises foram realizadas utilizando o software GraphPad Prism 6.01 (GraphPad Software, USA, 2012). Os resultados da quantificação da lipoperoxidação da membrana espermática e da quantificação de GSH do sêmen descongelado mostrou que a inclusão de eugenol no sêmen não induziu a alterações no padrão de absorvância de malonaldeído, entre os tratamentos estudados, não havendo diferença significativas ($p < 0,05$) entre as amostras. No entanto para a quantificação de GSH observou-se que os tratamentos de 10 μM e 50 μM de Eugenol não diferiram ($P < 0,05$) entre si. A quantificação da lipoperoxidação da membrana espermática, não diferiu entre os tratamentos em estudo, correlacionando negativamente com a redução da motilidade total e vigor observado ao longo do tempo de incubação do sêmen, pelo teste de termo resistência lento. Para a quantificação da glutathiona reduzida (GSH) os tratamentos de eugenol diferiram significativamente ($P < 0,05$) em relação ao controle, aumentando a taxa de GSH no sêmen descongelado. O mecanismo exato do GSH na regulação do potencial transmembrana mitocondrial é desconhecido até o momento, no entanto sabe-se que o GSH pode melhorar a qualidade do sêmen protegendo as pontes dissulfeto e assim, manter a estrutura nuclear do espermatozoide. O Eugenol apresenta efeitos antioxidante protetores da célula, e refletiu tal ação sobre o aumento na produção de GSH, protegendo a célula dos danos oxidativo mediado por superóxido. Desta forma, conclui-se que a suplementação com eugenol reduziu o estresse oxidativo dos espermatozoides.

Palavras-chave: bovinos, glutathiona reduzida, malonaldeído.

Keywords: bull, reduced glutathione, malonaldehyde.