

Prevalência de perdas de dispositivo intravaginal de progesterona em protocolos IATF em fêmeas bubalinas

Prevalence of progesterone device intravaginal losses on protocols in FTAI buffaloes females

Almeida, J.^{1,*}, Auler, P.A.¹, Morais, C.M.L.¹, Andrade, G.O.¹, Brito, M.F.¹, Neves, B.P.¹, Baruselli, P.S.², Marc Henry¹

¹Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte - MG, Brasil; ²Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo - SP, Brasil.
E-mail: *jacialmeida01@yahoo.com.br

A espécie bubalina possui peculiaridades que a diferem da espécie bovina, sendo uma espécie poliéstrica sazonal de dias curtos, possuindo uma manifestação de estro mais discreta e uma variação no tempo médio para a ovulação. Um experimento foi realizado, em Oliveira/MG, Brasil (Latitude 20°41'45" Sul e Longitude 44°49'37" Oeste), no período de dezembro de 2014, com protocolos de IATF, em período reprodutivo desfavorável para permitir o uso da IA sem a detecção de cio. Foram usadas 150 fêmeas com idade variando de 3,6 a 14,6 anos, peso médio de 720 kg e ECC = 4,5 (1-5), distribuídas aleatoriamente em três grupos: G1 (n = 35), G2 (n = 55) e G3 (n = 60), sendo estes submetidos à IATF em dias consecutivos. Nos três grupos utilizou-se o protocolo de IATF: D0 (8:00hs), os animais receberam 2,0 mg i.m de BE (Estrogin[®], Farmavet, SP, Brasil) e um implante intravaginal codificado (1° uso), D9 (8:00hs) retirada do implante e aplicação de 400 UI i.m eCG (Novormon[®], MSD Saúde Animal) + 2 mg de PGF_{2α} dinoprost i.m (Lutalyse[®], Zoetis, SP, Brasil). No D10 (8:00hs) aplicou-se 1,0 mg i.m de BE (Estrogin[®], Farmavet, SP, Brasil) e no D11 (14:00hs) IA. No entanto, no D2 foram observadas elevadas perdas dos dispositivos intravaginais (p<0,05, teste z entre proporções): G1 = 51,4% (18/35)^a, G2 = 31,7% (19/60)^b e G3 = 20% (11/55)^b. As fêmeas apresentaram sinais de inquietação com o dispositivo, sendo evidenciado um aumento de contrações na tentativa de expulsar o dispositivo, chegando a ocorrer prolapsos vaginais (G1 = 5, G2 = 7 e G3 = 2), não sendo inseminadas. As hipóteses possíveis para estes eventos são: 1) a espécie possuir uma maior sensibilidade no aparelho reprodutor; 2) aumento das contrações devido às aplicações de ocitocina pré-ordenhas (manhã e tarde); 3) dispositivos duros e inadequados à anatomia das fêmeas. Aproximadamente 85% das fêmeas (com dispositivos até D9) responderam a sincronização, manifestando cio com muco no dia da IA. O diagnóstico de gestação (palpação retal) foi realizado 50 dias pós IATF, sendo observados 11% (15/136) de fêmeas gestantes. Outros pesquisadores também reportaram perdas de dispositivos intravaginais em protocolos de IATF na espécie bubalina, valores bem superiores aos relatados e aceitos na IATF de bovinos. Novos estudos devem ser realizados para determinar as causas de perdas dos dispositivos e prolapsos, a fim de corrigir estes distúrbios. Atualmente, parte do problema com perda de dispositivos de P₄, poderá ser solucionado utilizando-se um dispositivo intravaginal (Primer PR - Agener/Tecnopec[®]) desenvolvido para novilhas jovens. Mas que poderá ser utilizado em búfalas, tendo-se em vista que estas fêmeas apresentam um aparelho reprodutor menor que as vacas, o que certamente acarreta um maior desconforto com os dispositivos até então utilizados e que são usados para búfalas, mas foram desenvolvidos para vacas. O novo dispositivo, que tem apenas 7 cm (frente aos 17 cm do dispositivo comum), e concentração menor de progesterona (0,3g, ante 0,5g usadas habitualmente), deverá ser objeto de pesquisas nos protocolos de IATF em búfalas.

Palavras chave: Búfalas, IATF, Perda dispositivo intravaginal.

Keywords: *Buffaloes, IATF, Loss intravaginal device.*



Proteômica do líquido amniótico e alantoideano durante o desenvolvimento fetal de búfalas

Proteomic approach of amniotic and allantoid fluid during fetal development from buffaloes

Viviane Maria Codognoto*, Gabriela Tavares Boy, Maria Carolina M. Faleiros-Lima, Paulo Henrique Yamada, Cristiane S. Paranzini, Diana L. Queiroz, Felipe Rydygier de Ruediger, Fabiana Ferreira de Souza, Eunice Oba

Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária, Botucatu.

*E-mail: viviane.codognoto@gmail.com

A composição dos líquidos amniótico e alantoideano reflete o metabolismo fetal, e sua análise pode contribuir com o estudo da fisiologia fetal, das funções placentárias e das alterações que podem acometer a gestação neste período. Assim, o objetivo deste estudo foi descrever as modificações do perfil proteico dos líquidos fetais em diferentes fases gestacionais em búfalas. Os líquidos amniótico e alantoideano foram colhidos nos terços inicial, médio e final da gestação de 18 búfalas. Os fetos foram mensurados, pesados e a maturidade pulmonar verificada pelo teste de Clements. As amostras foram centrifugadas a 800g por 10 minutos e em seguida a 10.000g por 30 minutos a 4°C. O sobrenadante foi recolhido e utilizado para determinar a concentração de proteína total. Então, uma alíquota (50 µg) foi utilizada para a digestão triptica *in solution* e posterior análise das proteínas por espectrometria de massas (nano-LC-ESI-Q-TOF MS/MS). A análise estatística multivariada dos resultados da proteômica foi realizada pelo software MetaboAnalyst 3. Foram descritas 53 proteínas no líquido amniótico e 36 proteínas no líquido alantoideano de búfalas em diferentes fases da gestação. Um total de 11 proteínas foi comum aos grupos, sendo que 4 apresentaram $\alpha > 1$ na análise de *VIP score*. *Fibronectin* e *alpha-1-antiprotein* foram observadas em maior abundância no líquido amniótico, e *alpha-2-macroglobulin* e *alpha-2-HS-glycoprotein* no líquido alantoideano. Considerando as fases gestacionais, concentrações de *serum albumin* foram maiores no terço inicial e final da gestação, em ambos os líquidos. Já a *alpha-2-macroglobulin*, *alpha-2-HS-glicoprotein* e *alpha-1-antiproteinase* não apresentaram diferenças entre as fases gestacionais nos líquidos avaliados. O teste de Clements foi negativo para os terços inicial e médio da gestação, mostrando-se positivo no terço final. Concluiu-se que o teste de Clements pode indicar a maturidade fetal em búfalos, e todas as proteínas descritas estão envolvidas no processo de formação e desenvolvimento fetal, sendo necessário outros estudos para verificar a aplicação da proteômica na identificação de marcadores de maturidade fetal.

Palavras-chaves: gestação, proteoma, maturação pulmonar.

Keywords: *gestation, proteome, pulmonary maturation.*

Avaliação das diferenças estruturais e funcionais de espermatozoides bubalinos relacionadas à resistência ao processo congelamento-descongelamento

Evaluation of structural and functional differences of buffalo sperm related to resilience to freezing-thawing process

**Beatriz Parzewski Neves¹, Patrícia de Alencar Auler¹, Mayara Ferreira Brito¹, Jaci Almeida¹,
Guilherme Oliveira Andrade¹, Veronica Alexandra Becerra Becerra¹,
Camila de Paula Freitas Dell'Aqua², Marc Henry^{1,*}**

¹Setor de Reprodução Animal, Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinárias, Escola de Veterinária, UFMG, Brasil; ²Laboratório CERAN, Departamento de Reprodução Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP, Botucatu, SP, Brasil.

*E-mail: henrym2601@gmail.com

Este estudo teve como objetivo avaliar as diferenças estruturais e funcionais de espermatozoides bubalinos relacionadas à resistência espermática ao processo de congelamento-descongelamento. Um total de 129 ejaculados, coletados por meio de vagina artificial convencional de 13 touros Murrah (*Bubalus bubalis*), foram avaliados, diluídos em meio Tris-ácido cítrico-frutose contendo 10% de lipoproteínas de baixa densidade, e submetidos aos processos de resfriamento e congelamento, seguindo curvas de queda de temperatura previamente padronizadas. Para as avaliações realizadas pós-descongelamento, as amostras foram descongeladas a 37 °C/30 s e mantidas incubadas a 37 °C por 180 minutos. Os ejaculados foram avaliados durante o processo de congelamento-descongelamento no sistema CASA em seis momentos: pré-resfriamento (PR), pré-congelamento (PC), cinco minutos pós-descongelamento (T5) e a cada uma hora durante a incubação pós-descongelamento (T60, T120 e T180). De acordo com a longevidade da motilidade total obtida pela diferença entre as avaliações no pré-resfriamento e no tempo 180 pós-descongelamento, foram formados dois grupos experimentais: os ejaculados que perderam menos que 41,2% da motilidade total entre as duas avaliações compuseram o grupo de resistência espermática boa (RB, n=23), e aqueles que perderam mais que 65,1% compuseram o grupo de resistência espermática ruim (RR, n=22) ao processo de congelamento-descongelamento. Em cada ejaculado, foram avaliadas a integridade das membranas plasmática e acrossomal (MPA) e a peroxidação lipídica (LPO) por citometria de fluxo, empregando a associação das sondas IP e FITC-PSA e a sonda C11-BODYPY (Molecular Probes) para MPA e LPO, respectivamente. Considerou-se como significativo $p \leq 0,05$. As características do sêmen *in natura* não diferiram significativamente entre os grupos. A motilidade total (MT) e a progressiva (MP) foram significativamente maiores no grupo RB, nos tempos que seguiram o descongelamento [(MT: T0 = 89,4 vs. 77,3%, T60 = 86,0 vs. 65,0% , T120 = 78,5 vs. 42,7% e T180 = 62,8 vs. 16,1%, no grupo RB e RR, respectivamente) (MP: T0 = 61,5 vs. 47,1%, T60 = 56,7 vs. 36,7% , T120 = 52,5 vs. 20,4 e T180 = 35,3 vs. 3,0%, no grupo RB e RR, respectivamente)]. Os parâmetros VCL, VSL e VAP mostraram-se significativamente superiores no grupo RB desde o início (PR) até o fim das avaliações (T180). Na análise de MPA, a porcentagem de espermatozoides com integridade de ambas as membranas plasmática e acrossomal foi significativamente maior no grupo RB nos dois tempos avaliados (T0 = 67,8 vs. 49,1 % e T180 = 61,1 vs. 45,6 %, grupos RB e RR, respectivamente). Não foi observada diferença significativa entre eles na intensidade da peroxidação lipídica, em nenhum dos dois tempos avaliados. No tempo T0, a intensidade da peroxidação lipídica foi 221,57 e 211,27 U.A., no grupo RB e RR, respectivamente, enquanto no tempo T180, os valores foram 385,26 e 332,77 U.A., respectivamente. Em cada um dos grupos, foi observado aumento significativo da peroxidação lipídica com o decorrer do tempo. Por este estudo, conclui-se que as diferenças na resistência dos espermatozoides bubalinos ao congelamento-descongelamento estão relacionadas à lesão das membranas plasmática e acrossomal, as quais não são resultantes da peroxidação lipídica.

Palavras-chave: criopreservação espermática, CASA, citometria de fluxo.

Keywords: sperm cryopreservation, CASA, flow cytometry.



Desempenho reprodutivo de búfalas leiteiras submetidas à sincronização hormonal em diferentes momentos pós-parto

Reproductive efficiency of dairy buffaloes submitted to hormonal synchronization at different moment postpartum

Mayumi Santos Botelho Ono^{1,*}, André Mariano Batista², Rafael Artur da Silva Junior¹, Cláudio Coutinho Bartolomeu²

¹Doutoranda em Ciência Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE, Brasil; ²Professor do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE, Brasil.

*E-mail: mayumi_sbo@hotmail.com

Nos últimos anos a aceitação do búfalo como uma espécie importante para os sistemas de produção fez com que este se tornasse alvo de inúmeros estudos visando à obtenção de índices reprodutivos cada vez mais satisfatórios. Sabe-se que o desempenho reprodutivo está relacionado intimamente com retorno da atividade ovariana e com a involução uterina após o parto, de maneira que o período puerperal ocorra rapidamente e seja possível o estabelecimento de uma nova gestação garantindo a obtenção de um bezerro/animal/ano. Objetivou-se neste trabalho avaliar o efeito da sincronização hormonal realizada em diferentes momentos no pós-parto. Foram utilizadas búfalas da raça Murrah (*Bubalus bubalis*), clinicamente saudáveis, as quais foram submetidas à IATF aos 35 (n=198), 45 (n=164) e 60 (n=274) dias pós-parto (DPP). O diagnóstico de gestação foi realizado aos 35 dias após a IATF. A taxa de concepção foi calculada (nº fêmeas gestantes/ nº de fêmeas inseminadas) e utilizou-se o modelo de regressão logística binária para investigar a associação entre a concepção e momento da sincronização, obtendo-se a razão de chances (OR) e o intervalo de confiança de 95%. Foi ainda avaliado o número de doses de sêmen por concepção em cada grupo. Observou-se que os animais sincronizados aos 35 DPP apresentaram maior taxa de concepção que aqueles submetidos aos 45 e 60 DPP (79%, 62% e 57%, respectivamente). Ainda, de acordo com a regressão logística, àqueles pertencentes ao grupo 35 DPP apresentaram 1,9 mais chances de conceber que os do grupo 60 DPP (IC 95%: 1,340-2,946; p<0,002). Entretanto, não foi observada diferença entre o número de doses de sêmen por concepção entre os grupos (p=0,092). As búfalas alcançam o pico de lactação por volta do segundo mês pós-parto, sendo necessária maior demanda de nutrientes para a produção de leite na glândula mamária. Tendo em vista que o incremento da produção de leite vem sendo associado ao comprometimento do desempenho reprodutivo, sugere-se que os animais que conseguem conceber antes do pico de lactação estejam menos susceptíveis a estes efeitos. Ainda, como a gestação é fixada em aproximadamente 10 meses, o período de serviço tem uma influência direta na eficiência reprodutiva, uma vez que quanto maior o tempo para estabelecer uma concepção, maior o intervalo entre partos e menor será a taxa de nascimentos do rebanho. Assim, pode-se concluir que o manejo reprodutivo realizado em búfalas aos 35 dias pós-parto neste estudo foi vantajoso, sendo possível o aumento das chances de concepção em quase duas vezes, quando comparado àqueles realizados aos 45 e 60 dias, possibilitando a redução do período de serviço, conseqüentemente, a redução do intervalo entre partos, e melhorando a eficiência reprodutiva do rebanho.

Palavras-chave: bubalinocultura, puerpério, IATF.

Keywords: buffaloes breeding, postpartum, TAI.