



## **Avaliação da taxa de gestação em ovelhas nulíparas e múltíparas, utilizando inseminação artificial por laparoscopia e por via cervical**

*Evaluation of gestation rate in nulliparous and multiparous ewes, using artificial insemination by laparoscopy and by cervical route*

**Raissa Costa Amorim\***, Misael das Virgens Santana, Tuanny Creusa Medeiros Damasceno, Francisco Felipe Ferreira Soares, Kenney de Paiva Porfírio, Ney Rômulo de Oliveira Paula, Janaína de Fátima Saraiva Cardoso, Ana Lys Bezerra Barradas Mineiro

Laboratório de Fisiopatologia da Reprodução Animal, Universidade Federal do Piauí, UFPI, Teresina, PI, Brasil.

\*E-mail: raissa.costa18@hotmail.com

A ovinocultura, apesar de ser uma atividade em expansão no Brasil, é considerada ainda com certo atraso, se comparado a outros países. Isso, pois há necessidade de inovação e ampliação de técnicas associadas à reprodução, principalmente as inseminações artificiais por tempo fixo, devido a uma maior agilidade obtida ao executar os procedimentos necessário para produção de animais geneticamente melhorados. Assim, foi realizado o estudo com propósito de analisar se há diferença significativa na taxa de gestação entre ovelhas nulíparas e múltíparas, assim como avaliar maior ou menor eficiência em inseminações artificiais por laparoscopia e via cervical, utilizando sêmen congelado-descongelado. Para realização da pesquisa, trinta e duas fêmeas mestiças de Santa Inês, com escore corporal entre 2,5 a 3,5 (escala de 1 a 5), foram divididas em dois grupos: um com dezesseis ovelhas nulíparas e outro com dezesseis múltíparas. Todas foram submetidas a protocolo longo de sincronização de estro (14 dias), no qual, no primeiro dia, foram implantadas esponjas intravaginais impregnadas com 60 mg de medroxiprogesterona - MAP (Progespon®). No décimo quarto dia do tratamento, após retirada das esponjas, os animais receberam 300 UI de Gonadotrofina Coriônica Equina - eCG (Novormon®) e, 54 horas após ( $\pm 2$  horas), foram feitas as inseminações artificiais. Os dois grupos de ovelhas foram subdivididos, no qual metade de cada um foi inseminada por laparoscopia e a outra metade por via cervical. Ficando, assim, ovelhas nulíparas e múltíparas inseminadas pelas duas técnicas estudadas. Após 60 dias foram feitos diagnósticos gestacionais por ultrassonografia e os dados obtidos foram analisados utilizando teste F, à 5% de significância. A taxa de gestação das fêmeas nulíparas inseminadas foi 75% (12 prenhes) e a das ovelhas múltíparas foi 68,75% (11 prenhes); nas ovelhas múltíparas inseminadas por laparoscopia, a taxa de gestação foi de 87,5% (7 prenhes), e as por via cervical foi 50% (4 prenhes); as ovelhas nulíparas inseminadas por via laparoscópica apresentaram taxa de gestação de 62,5% (5 prenhes) e as inseminadas por via cervical foi 87,5% (7 prenhes). Logo, observou-se que não houve diferença significativa nos diferentes tratamentos, independente da ordem dos partos ( $P > 0,05$ ). Assim sendo, no presente estudo, a técnica para inseminação mais viável seria a que gerasse menor dispêndio para o produtor, e não fazendo-se necessária a escolha entre ovelhas nulíparas ou múltíparas.

**Palavras-chave:** ovelhas, nulíparas, múltíparas, inseminação artificial.

**Keywords:** sheep, nulliparous, multiparous, artificial insemination.



## **Induction of synchronous estrus in Morada Nova ewes: effects of distinct progestagen duration regimen and non-surgical embryo recovery as a tool to access efficiency measurements**

*Indução do estro sincrônico em ovelhas Morada Nova: efeitos do regime de duração distinto do progestágeno e recuperação não cirúrgica do embrião como uma ferramenta para acessar medidas de eficiência*

**Lúcia Prellwitz<sup>1</sup>, Aline Matos Arrais<sup>2</sup>, Marco Roberto Bourg de Mello<sup>3</sup>, Gabriel Brun Vergani<sup>4</sup>, Sergio Novita Esteves<sup>5</sup>, Nathalia Oliveira Barbosa<sup>6\*</sup>, Bruno Pena Carvalho<sup>7</sup>, Jenniffer Hauschildt Dias<sup>8</sup>, Maria Emilia Franco Oliveira<sup>9</sup>, Jeferson Ferreira da Fonseca<sup>10</sup>.**

<sup>1,6</sup>Universidade Federal Fluminense, Niterói- RJ, Brasil; <sup>2</sup>Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica - RJ, Brasil; <sup>3</sup>Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica - RJ, Brasil; <sup>4</sup>Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal-SP, Brasil; <sup>5</sup>Embrapa, São Carlos- SP, Brasil; <sup>7</sup>Embrapa, Rio Branco- AC, Brasil; <sup>8</sup>Universidade Federal de Viçosa, Viçosa- MG, Brasil; <sup>9</sup> Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal-SP, Brasil; <sup>10</sup>Embrapa, Sobral - CE, Brasil.

\*E-mail: nathaliaoliveirabarbosa@id.uff.br

The first step for applying superovulation is to know the responsiveness of the ewe to different estrous synchronous protocol duration and possible implications on embryo yield. On the other hand for non-surgical embryo recovery (NSER) a well consolidated protocol should be tested and, in Morada Nova ewes, successful non-surgical uterine access was reported (Fonseca et al., 2019. *Reprod Fertil Devel*, 31:17-26). In this context, the objective of this study was to evaluate the efficiency different synchronous estrus induction and NSER as additional tool to evaluate the results these protocols in pluriparous Morada Nova ewes. A total of 18 pluriparous sheep were divided into three treatment groups with 6 (T6, n=6), 9 (T9, n=6) and 12 (T12, n=6) days of 60 mg of medroxyprogesterone acetate (Progespon<sup>®</sup>, Zoetis, Campinas, São Paulo, Brazil). Sponges were inserted and removed at 7:00 p.m. Twelve hours before sponge removal, all the ewes received 200 IU of eCG (Folligon<sup>®</sup>, MSD animal health / Intervet, Cruzeiro-São Paulo, Brazil) and 37.5 µg of d-cloprostenol (Prolise<sup>®</sup>, ARSA SRL, Buenos Aires Aires, Argentina) i.m. Estrus was checked twice a day (every 12 h) for three days and mated during estrus with four proven fertility sheep. Corpora lutea were counted by B-mode and Doppler transrectal ultrasonography (7.5 MHz linear transducer, M5 Vet<sup>®</sup>, Mindray, Shenzhen, China) prior to NSER. The ewes still received a cervical relaxation protocol consisting of 37.5 µg of d-cloprostenol and 1 mg of estradiol benzoate (Sincrodiol<sup>®</sup>, OuroFino, Cravinhos, Brazil) i.m. 16 h and 50 IU oxytocin (Ocitocina Forte<sup>®</sup>, UBCVet, São Paulo, Brazil) i.v. 20 min before NSER (6.5 days after estrus onset). Qualitative data were analyzed by Fisher's exact test and quantitative data were sequenced by the Kruskal-Wallis test, with a mean of 5%. Seventeen sheep (17/18) responded to estrus, with an average onset of 40.23h ± 1.7 and duration of 23.29h±1.2. Successful NSER was done in 82.3% (14/17). The number of corpora lutea (1.8±0.1, 2.7±0.2 and 1.6±0.1), recovered structures (1.4±0.5, 1.2±0.9 and 1.0±0.1) and the viable embryos (1.0±0.3, 1.2±0.4 and 1±0.3) were similar (P>0.05) for T6, T9 and T12, respectively. The NSER mean duration was 27.6±1.4 min, with recovery of 99.8% of injected fluid and embryo recovery rate of 62.97% (17/27). These preliminary results indicated that all protocols provided similar results and that NSER can be successfully performed and used as additional toll in synchronous estrous induced Morada Nova ewes independently from the duration of progestogen regimen to assure that viable embryos can be produced by ewes subjected by these protocols.

Financial support: Embrapa (02.13.06.026.00.04) and Fapemig (CVZ-PPM 00201-17).

**Keywords:** superovulation, progesterone, embryo transfer, small ruminants.

**Palavra-chave:** superovulação, progesterona, transferência de embriões, pequenos ruminantes.



## **Índices hemodinâmicos e ecogenicidade uterina no puerpério em ovelhas** *Hemodynamic indices and uterine echogenicity of the puerperium in sheep*

**Izadora Zanetti Monico<sup>1</sup>, João Vitor Pagoto Careta<sup>1</sup>, Renato Favarato<sup>1</sup>, Amanda Ribeiro Collati<sup>1</sup>,  
Nilson Nunes Morais Junior<sup>2</sup>, Renato Travassos Beltrame<sup>2,\*</sup>**

<sup>1</sup>Graduandos do Curso de Medicina Veterinária, Centro Universitário do Espírito Santo - UNESC, Colatina, ES, Brasil; <sup>2</sup>Instituto Federal do Espírito Santo (IFES), Colatina, ES, Brasil, Colatina - ES; <sup>3</sup>Professor do curso de Medicina Veterinária, Centro Universitário do Espírito Santo - UNESC, Colatina - ES, Brasil,

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

O índice de pulsatilidade (IP) e o índice de resistência (IR) são medidas da variância da velocidade do fluxo sanguíneo dentro de um vaso ao longo do ciclo cardíaco. Na artéria uterina, estas variáveis conjuntamente a ecogenicidade do útero podem fornecer informações importantes para a avaliação da involução uterina no pós parto. Este trabalho teve como objetivo avaliar as mudanças nos índices hemodinâmicos e na ecogenicidade uterina nas primeiras cinco semanas do pós parto em ovelhas Santa Inês. Onze ovelhas diagnosticadas gestantes após sincronização para monta controlada, foram mantidas em pastagem de *Panicum maximum* cv. Aruana, e suplementadas com silagem e concentrado a base de milho. Quinze dias antes da data programada para o parto (4 gestações simples e 7 gemelares) as fêmeas foram confinadas em baía maternidade recebendo exclusivamente a dieta acima descrita. Água e sal mineralizado foram fornecidos *ad libitum*. Ultrassonografia convencional do útero e dopplervelocimetria de ambas as artérias uterinas foram realizadas imediatamente antes e durante as primeiras 5 semanas do pós parto em intervalos de 7 dias. Durante o experimento, as ovelhas permaneceram clinicamente saudáveis e sem doença uterina puerperal. As imagens foram obtidas por via transretal, pelo mesmo operador com os animais em estação e sem sedação. Os índices hemodinâmicos avaliados foram o índice de pulsatilidade (IP) e o índice de resistência (IR). Utilizou-se o volume da amostra (gate) de 1mm, frequência do transdutor de 7.5 MHz, frequência de repetição de pulso (PRF) de 1.0 KHz e filtro de parede (WF) de 171 KHz. Considerou-se o dia do parto como dia 0 (D0). Os dados foram agrupados para avaliar mudanças em decorrência de lado da artéria, ecogenicidade uterina e índices hemodinâmicos (IP e IR), em relação ao momento do pós parto. Foram definidos 5 momentos (M): Gestante: M0; D1-D10: M1; D11-D20: M2; D21-D30: M3; e >D30: M4. Médias foram analisadas pelo procedimento MIXED do SAS considerando-se o menor critério de informação de akaike corrigido (AICC). IR foi maior no lado direito ( $0.58 \pm 0.01$  x  $0.55 \pm 0.01$ ) ( $P < 0.01$ ). O IP e IR aumentaram no decorrer do pós parto. IP: M1-  $0.86 \pm 0.07$ ; M2:  $0.93 \pm 0.04$ ; M3:  $1.01 \pm 0.04$ ; M4:  $1.14 \pm 0.04$ ; M5:  $1.14 \pm 0.04$  ( $P < 0.001$ ). IR: M1:  $0.52 \pm 0.02$ ; M2:  $0.54 \pm 0.01$ ; M3:  $0.58 \pm 0.01$ ; M4:  $0.61 \pm 0.01$ ; M5:  $0.60 \pm 0.01$  ( $P < 0.01$ ) Ecograficamente, a completa involução uterina por meio da ultrassonografia convencional foi detectada a partir dos 28 dias pós parto, quando evidenciou-se ausência de conteúdo e regeneração endometrial caracterizada por ecogenicidade e contornos normais. O aumento dos índices hemodinâmicos no puerpério estão relacionados a redução progressiva do fluxo sanguíneo uterino. Estas mudanças devem ser consideradas essenciais para a redução do tamanho do útero, involução uterina e retorno da fêmea à atividade reprodutiva.

**Palavras-chave:** doppler espectral, puerpério, involução uterina, ovelhas.

**Keywords:** *spectral doppler, puerperium, uterine involution.*



#

## Donor evaluation and scoring for non-surgical embryo transfer in Santa Inês sheep

*Avaliação e ranqueamento de doadoras para coleta de embriões não cirúrgica em ovelhas Santa Inês*

**Lucia Prellwitz<sup>1,\*</sup>, Fabiana Nunes Zambrini<sup>2</sup>, José Domingos Guimarães<sup>3</sup>, Marco Antônio Paula de Sousa<sup>4</sup>, Leticia Pereira Alcaraz de Andrade<sup>5</sup>, Joanna Maria Gonçalves Souza-Fabjan<sup>6</sup>, Maria Emília Franco de Oliveira<sup>7</sup>, Jeferson Ferreira da Fonseca<sup>8</sup>**

<sup>1</sup>Graduanda de Medicina Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói-RJ, Brasil; <sup>2</sup>Doutoranda em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, Brasil; <sup>3</sup>Professor, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, Brasil; <sup>4</sup>Doutorando em Ciência Animal, Universidade Federal do Pará, Castanhal-PA, Brasil; <sup>5</sup>Graduanda, Instituto de Biologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro-RJ, Brasil; <sup>6</sup>Professora adjunta, Universidade Federal Fluminense, Niterói-RJ, Brasil; <sup>7</sup>Professora, Universidade Estadual de São Paulo, Jaboticabal-SP, Brasil; <sup>8</sup>Pesquisador, Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral-CE, Brasil

\*E-mail: luprellwitz@gmail.com

Multiple Ovulation and Embryo Transfer (MOET) can be used to maximize the offspring production of valuable and endangered animals. Given the several particularities of the ovine cervical anatomy, Non-Surgical Embryo Recovery (NSER) in ewes can be a challenge, resulting in extensive commercial use of surgical methods. However, several advances have been made on NSER techniques and instruments, cervical relaxation protocols and selection of donor ewes. NSER success depends, firstly, on adequate cervical clipping and traction and, then, on its transposition (Fonseca et al., 2019. *ReprodFertilDevel*, 31:17-26). This study checked the effectiveness of ranking the difficulty to clip/traction and traverse the cervix with the Hegar dilator as a predictor method for selecting suitable animals to undergo NSER. A total of 46 pluriparous Santa Inês received intravaginal sponges containing 60 mg medroxyprogesterone (Progespon<sup>®</sup>, Syntex, Buenos Aires, Argentina) during six days plus 200 IU eCG (Novormon 5000<sup>®</sup>, Syntex, Buenos Aires, Argentina) i.m. and 37.5 µg d-cloprostenol (Prolise<sup>®</sup>, ARSA S.R.L., Buenos Aires, Argentina) latero-vulvar 24 h before sponge removal. Out of these, 42 ewes manifested estrus and were naturally mated during estrus. NSER was attempted seven days after estrus onset. The ewes received a relaxation protocol based on 37.5 µg d-cloprostenol latero-vulvar and 1 mg estradiol benzoate (Estrogen<sup>®</sup>, Biofarm, São Paulo, Brazil) i.m. 16 h before NSER plus 50 IU oxytocin (Ocitocina Forte UCB<sup>®</sup>, São Paulo, Brazil) i.v. 20 min before the procedure. NSER was performed following the method previously described (Fonseca et al., 2019. *ReprodDomAnim*, 54:118-125). Each animal received a grade according to the difficulty of traversing its cervix with the Hegar dilator: Grade 1 (very easy; <1 min; Grade 2 (easy; 1 to 3 min); Grade 3 (moderate difficulty; 3 to 7 min); Grade 4 (difficult; 7 to 10 min); and Grade 5 (impossible to penetrate). Data are presented in a descriptive form. Adequate cervical clipping and traction was done in 78.6% (33/42). NSER success rates were 100.0% (4/4) to score 1, 88.9% (8/9) to score 2, 90.9% (10/11) to score 3, 40% (2/5) to score 4 and 0.0% (9/9). Overall success of NSER rate was 72.7% (24/33). NSER was not possible in nine ewes for either the cervix was not located due to vestibule-vaginal stenosis (33.3%; 3/9) or cervix was adequately clipped but traction was not good enough to allow cervical transposing attempt (66.6%; 6/9). This grading system may indicate the probability of individual animals to successfully proceed with NSER. It is suggested that a selective system for donors should include an attempt to clip/traction/traverse the cervix, ranking the difficulty of the process, before starting a MOET/NSER protocol. Animals that receive scores 4 and 5 could be excluded from the protocol in order to prevent the use of unable or laborious animals, avoiding wasting resources. Financial support: Embrapa (02.13.06.026.00.04) and Fapemig (CVZ-PPM 00201-17)

**Keywords:** embryo recovery, Hegar dilator, sheep.

**Palavras-chave:** recuperação de embriões, dilatador de Hegar, ovelhas.



**Ação da ciclodextrina associada ao colesterol frente a viabilidade do sêmen ovino**  
*Action of cholesterol-loaded-cyclodextrin versus viability of ram semen*

**Juliano Pianowski Marques Silva<sup>1</sup>, André Felipe Berto de Almada<sup>1</sup>, Jonathan Soares de Lima<sup>1</sup>,  
Carlos Renato de Freitas Guaitolini<sup>1</sup>, André Maciel Crespillo<sup>2</sup>,  
Camila de Paula Freitas Dell'Aqua<sup>3</sup>, José Antônio Dell'Aqua Junior<sup>3</sup>, Márcio Luiz Denck  
Tramontin<sup>1</sup>, Danielle Andressa Oliveira Sestari<sup>1</sup>, Rosiara Rosaria Dias Maziero<sup>1,\*</sup>**

<sup>1</sup>Universidade Paranaense, Umuarama, PR, Brasil; <sup>2</sup>Universidade de Santo Amaro, São Paulo, SP, Brasil;

<sup>3</sup>Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, SP, Brasil.

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

Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da adição de ciclodextrina ligada ao colesterol (CLC), a meio diluidor comercial, na cinética e viabilidade de espermatozoides ovinos congelados e descongelados. Foram colhidos 5 ejaculados de 5 ovinos totalizando 25 ejaculados com intervalos semanais. Foram utilizados animais da raça Dorper, com idade entre 12 e 30 meses. Os ejaculados foram obtidos por eletroejaculação e divididos em 3 grupos: grupo controle, grupo 1 mg de CLC e grupo 2 mg de CLC. O sêmen foi diluído em meio comercial com diferentes concentrações de CLC (0; 1 e 2 mg /  $120 \times 10^6$  espermatozoides), onde as amostras permaneceram incubadas a temperatura ambiente durante 10 minutos. Em seguida, as amostras foram acondicionadas em palhetas de 0,5 mL e destinadas a refrigeração a 5°C por 4 horas e após isso submetidas ao vapor de N<sub>2</sub>L por 10 minutos. Seguiu-se então a congelamento em caixa isotérmica por 10 minutos e as amostras foram acondicionadas em botijão criogênico. Para a análise estatística utilizou-se o programa Statistical Analyses System (SAS, Institute Inc., 1999; Cary, USA), com os testes Shapiro-Wilk (Proc-Univariate) para análise de dados com normalidade e o Qui-Quadrado (Proc-GLM) para a análise de homogeneidade das variações. Foram avaliados os parâmetros de cinética espermática, integridade de membrana plasmática e acrossomal (IMPA, %) e níveis intracelulares de ânion superóxido (O<sub>2</sub><sup>-</sup>). Tanto a motilidade progressiva, porcentagem de espermatozoides rápidos, a integridade de membrana e acrossomal e a geração de ânion superóxido foram mais satisfatórias, com a utilização de 1 mg de CLC /  $120 \times 10^6$  espermatozoides, previamente a congelamento, do que quando se utilizou a concentração de 2 mg CLC /  $120 \times 10^6$  (MP= 23,84 ± 11,4 %; RAP= 52,96 ± 8 %; IMPA= 55,86 ± 18,59 %; O<sub>2</sub><sup>-</sup>= 60,45 ± 21). Pôde-se constatar que, a utilização de CLC na concentração de 1 mg se mostrou eficaz para a melhora dos parâmetros de motilidade progressiva (MP= 28,96 ± 8,6 %), porcentagem de espermatozoides rápidos (RAP= 41,24 ± 18,8 %) e integridade de membrana plasmática e acrossomal (56,04 ± 20,8 %). Além disto, o grupo de estudo com 1 mg de CLC diminuiu o nível de formação de ânion superóxido (O<sub>2</sub><sup>-</sup>= 51,63 ± 17), radical livre prejudicial ao espermatozoide. A utilização de 2 mg de CLC não trouxe benefício nos parâmetros avaliados, com diminuição da velocidade de deslocamento dos espermatozoides (VAP= 52,96 ± 8 µm/s; p < 0,05). Podemos concluir que, a utilização de CLC na concentração de 1 mg se mostrou eficaz para a melhora dos parâmetros de motilidade progressiva, porcentagem de espermatozoides rápidos e integridade de membrana plasmática e acrossomal. Além disto, o grupo de estudo com 1 mg de CLC diminuiu o nível de formação de ânion superóxido, radical livre prejudicial ao espermatozoide. A utilização de 2 mg de CLC não trouxe benefício nos parâmetros avaliados, com diminuição da velocidade de deslocamento dos espermatozoides. A melhora dos parâmetros espermáticos traz benefícios aos protocolos de congelamento de sêmen ovino, são poucos os estudos que sugerem novos protocolos que melhorem a congelabilidade nesta espécie, o que impossibilita a plena difusão desta biotecnologia.

**Palavras-chave:** ciclodextrina ligada ao colesterol, parâmetros espermáticos, sêmen ovino, viabilidade seminal.

**Keywords:** *cholesterol-loaded-cyclodextrin, ram semen, seminal viability, sperm parameters.*

## **Efecto del semen refrigerado sobre la calidad espermática y tasa de preñez en ovinos** *Effect of cooled semen on ovine sperm quality and pregnancy rate*

**Mariana de Paula Rodrigues<sup>1,\*</sup>, Miguel Sormanti Valenzuela<sup>1</sup>, João Diego de Agostini Losano<sup>2</sup>**

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

\*E-mail: mafejuli@hotmail.com

La agropecuaria es la principal actividad económica en Paraguay, y en los últimos años la ovinocultura ha conquistado un respetado puesto entre las principales producciones nacionales. Sin embargo, la implementación y desarrollo de tecnología en la reproducción ovina, aun es escasa en el país. Por un lado, el uso del semen *in natura* en los programas reproductivos es el más común entre las propiedades, por otro lado, el semen refrigerado presenta la ventaja de permitir el transporte, mayor tiempo para el uso y la misma facilidad de aplicación. Fueron utilizadas muestras seminales de 5 ovinos, mantenidas en contenedores de transporte de semen, refrigeradas en diluyentes a base de yema de huevo y lecitina de soja, en temperatura de 15°C, durante 12, 24 y 48 horas, y evaluadas según su motilidad, vigor, integridad de membranas plasmática y acrosomal, morfología y actividad citoquímica mitocondrial. Posteriormente, 150 hembras ovinas recibieron terapia hormonal para la sincronización del celo y fueron inseminadas artificialmente a tiempo fijo con muestras seminales refrigeradas a 15°C, durante 24 horas en diluyente a base de yema de huevo y lecitina de soja, y muestras seminales *in natura* (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 ( $92.37 \pm 0.90$ ;  $89.54 \pm 1.07$ ;  $P=0.04$ ), pero, por otro lado, presentó mayor cantidad defectos espermáticos totales ( $10.92 \pm 0.97$ ;  $6.62 \pm 0.83$ ;  $P=0.0008$ ), el tiempo de refrigeración que más causó daño a las células espermáticas fue de 48 horas, donde hubo significativo descenso en la motilidad, vigor, integridad de membranas y actividad mitocondrial. La tasa de preñez observada en el estudio fue de 15.3% para el grupo lecitina, 14% para el grupo yema de huevo y 13.3% para el grupo control, sin diferencia significativa entre los grupos evaluados ( $P>0.05$ ). A pesar de las diferencias estadísticas encontradas en determinadas evaluaciones espermáticas, los diluyentes y la refrigeración no afectaron el potencial fertilizante de la muestra seminal, de modo a concluir que tanto los diluyentes a base de lecitina de soja y de yema de huevo, cuanto la refrigeración pueden ser utilizados, remplazando el uso del semen *in natura*, sin que haya perjuicio en la productividad del hato.

**Palabras-clave:** semen, ovino, diluyente, refrigeración, fertilidad.

**Keywords:** semen, ovine, extender, refrigeration, fertility.

## Efeito de diferentes concentrações de L-carnitina em diluente para criopreservação de sêmen em ovinos

*Effect of different concentrations of L-carnitine in extender for semen cryopreservation in sheep*

**Clara Vieira de Souza<sup>1,\*</sup>, Felipe Zandonadi Brandão<sup>2</sup>, Juliana Dantas Rodrigues Santos<sup>1</sup>, Vivian Angélico Pereira Alfradique<sup>3</sup>, Vanessa Moreira Barbosa dos Santos<sup>1</sup>, Lucia Prellwitz<sup>1</sup>, Paulo Sergio Cerqueira Rangel<sup>4</sup>, Andreza Amaral da Silva<sup>5</sup>, Joanna Maria Gonçalves Souza-Fabjan<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Medicina Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Santa Rosa, RJ, Brasil; <sup>2</sup>Professores do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Santa Rosa, RJ, Brasil; <sup>3</sup>Medicina Veterinária, Universidade Federal Viçosa, Viçosa, MG, Brasil; <sup>4</sup>Medicina Veterinária, Universidade do Grande Rio, Duque de Caxias, RJ, Brasil; <sup>5</sup>Professora do curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, Brasil.

\*E-mail: claravieira.vet@gmail.com

The cryopreservation process causes oxidative stress to the sperm cell and the addition of antioxidants to the extender for semen freezing helps protect the sperm. L-carnitine (LC) is an endogenous compound that limits the  $\beta$ -oxidation pathway, acting in the transport of fatty acids to the mitochondria and in the transport of intermediates. This study evaluated the effect of two different LC concentrations, on two different ram semen extender containing or not egg yolk for cryopreservation. Four Santa Inês rams were used during the breeding season. After the semen collection, macroscopic (volume, odor, color, appearance) and microscopic evaluations (spermatic kinematics, spermatic membrane integrity, sperm capacitation, hypoosmotic test) were performed. A pool of semen from all males was formed. Two extenders, TRIS-yolk or OptiXcell™ IMV commercial medium (without egg yolk) were used, totaling six experimental groups: IMV - (0, 5 and 10 mM LC) and TRIS - (0, 5 and 10 mM LC). After the sperm concentration, the semen was diluted, followed by a new evaluation and the final concentration per straw is  $100 \times 10^6$ . Subsequently, the semen of each treatment was packed in 0.25 mL straws and cryopreserved with a cooling rate of 0.25 °C/min until 5 °C and the freezing rate used was 20 °C/min from 5 to -120 °C. Immediately after thawing, samples of each treatment were evaluated and lipid peroxidation of the spermatozoa was quantified. Before and after the freeze-thaw process, several parameters were evaluated: spermatic kinematics, hypoosmotic test, plasma membrane integrity, capacitation status and lipid peroxidation level. Regarding plasma membrane integrity, hypoosmotic test and capacitation status, we did not find any protective effect of LC. Damage caused by oxidative stress can cause few changes in plasma membrane structure. LC can also stabilize the sperm plasma membrane, perhaps through interaction with the phospholipid membrane, which modulates plasma membrane fluidity. Under these conditions, sperm cryopreserved in TRIS-egg yolk extender had higher VSL, VCL, LIN, WOB and STR indices compared to the IMV extender ( $P < 0.05$ ). Supplementation of 10 mM LC positively affected the VAP parameter in TRIS-yolk and VSL in the IMV extender. In fact, the addition of 5 mM LC improved the STR parameter on the IMV extender. In the groups supplemented with LC, IMV had higher ( $P < 0.05$ ) lipid peroxidation than the TRIS treatments. In conclusion, although LC had affected some isolated parameters, its supplementation in the semen extender did not have a consistent beneficial effect on ram spermatozoa after thawing, independently of the extender used, and under the conditions of the present study, the use of TRIS extender was superior than IMV extender for ram sperm cryopreservation in the evaluated parameters. Financial support: FAPERJ Young Scientist Program of Our State (E-26/203.168/2017).

**Keywords:** antioxidant, CASA, oxidative stress, lipid peroxidation.

**Palavras-chave:** antioxidante, CASA, estresse oxidativo, lipoperoxidação.

## Parâmetros fisiológicos e bioquímicos de carneiros submetidos à coleta de sêmen por eletroejaculação utilizando diferentes protocolos hormonais

*Physiological and biochemical parameters of rams submitted to the collection of semen by electroejaculation using different hormonal protocols*

Daniel Andrews de Moura Fernandes<sup>1,\*</sup>, Gabriel Feliciano Felizardo<sup>1</sup>, Clara Vieira de Souza<sup>1</sup>, Caroline Gomes do Espírito Santo<sup>1</sup>, Juliana Dantas Rodrigues Santos<sup>1</sup>, Augusto Taira Ryonosuke<sup>1</sup>, Vanessa Moreira Barbosa dos Santos<sup>1</sup>, André Luis Rios Rodrigues<sup>1</sup>, Rodolfo Ungerfeld<sup>3</sup>, Felipe Zandonadi Brandão<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ, Brasil; <sup>2</sup>Professor da Faculdade de Veterinária da Universidade de la Republica – Uruguay.

\*E-mail: daniel\_andrews\_2@yahoo.com.br

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da associação do GnRH (4,2µg/animal), da prostaglandina (250µg/animal-d-cloprostenol) e da ocitocina (10UI/animal) sobre os parâmetros fisiológicos e bioquímicos de carneiros submetidos a eletroejaculação visando a coleta de sêmen. Para tal, foram avaliados quatro grupos experimentais:  $G_{\text{controle}}$  = salina;  $G_{\text{OX+PGF2}\alpha}$  = PGF2 $\alpha$  + Ocitocina;  $G_{\text{GnRH}}$  = GnRH;  $G_{\text{OX+PGF2}\alpha+\text{GnRH}}$  = GnRH + PGF2 $\alpha$  + Ocitocina. Para coleta do sêmen foram determinados quatro ciclos de estímulos, cada um, com dez pulsos, e aumento de 1 volt a cada ciclo. Os estímulos foram iniciados com 2 volts e chegando no máximo à 5 volts. Uma vez que o animal terminava a ejaculação o procedimento era finalizado. Não houve efeito do tratamento na frequência respiratória e na temperatura retal. Houve um aumento da Fc em todos os grupos no momento término da coleta quando comparado com o momento antes da coleta, sendo este maior no  $G_{\text{controle}}$  ( $G_{\text{controle}}$  = 96,3 ± 8,1 vs 199,7 ± 8,1;  $G_{\text{OX+PGF2}\alpha}$  = 83,9 ± 8,1 vs 168,2 ± 8,1;  $G_{\text{GnRH}}$  = 89,2 ± 8,1 vs 160,9 ± 8,1;  $G_{\text{OX+PGF2}\alpha+\text{GnRH}}$  = 93,9 ± 8,1 vs 178,4 ± 8,1, respectivamente nos tempos antes e término da coleta). O  $G_{\text{OX+PGF2}\alpha+\text{GnRH}}$  teve queda da Fc no momento 30 min após o término da coleta retornando aos valores basais, enquanto os demais grupos apenas retornaram a seus valores basais no momento 90 min após o término da coleta. A glicose apresentou aumento significativo entre os tempos 5 min antes da EE e 10 min depois da EE em todos o grupos estudados. Nos grupos  $G_{\text{OX+PGF2}\alpha}$  e  $G_{\text{GnRH}}$  houve redução nos valores circulantes no tempo 30 min depois da EE, enquanto nos  $G_{\text{controle}}$  e  $G_{\text{OX+PGF2}\alpha+\text{GnRH}}$  a diminuição ocorreu a partir do tempo 90 min após o término da EE. Os valores de glicemia diferiram entre os protocolos no momento 180 min após EE, apresentando aumento significativo no  $G_{\text{OX+PGF2}\alpha+\text{GnRH}}$  (68,29 ± 3,73<sup>A</sup>) em relação aos  $G_{\text{controle}}$  e  $G_{\text{GnRH}}$  (57,9 ± 3,7 vs 56,2 ± 3,8), porém não diferindo do  $G_{\text{OX+PGF2}\alpha}$  (65,37 ± 3,73<sup>AB</sup>). A CK apresentou aumento dos valores nos grupos a partir do tempo 120 min depois da EE quando comparados aos momentos 1 hora e 5 min antes da EE e 10 min depois da EE. No tempo 120 min depois da EE, também foi observado aumento significativo dos valores nos  $G_{\text{OX+PGF2}\alpha}$  e  $G_{\text{OX+PGF2}\alpha+\text{GnRH}}$  (1901,8 ± 163,9 e 1755,3 ± 158,3) quando comparados com os  $G_{\text{controle}}$  e  $G_{\text{GnRH}}$  (1256,1 ± 163,9 e 899,5 ± 158,3). Conclui-se que os protocolos utilizados não foram suficientes para promover alterações significativas nos parâmetros fisiológicos e bioquímicos que justifiquem a sua utilização em carneiros da raça Santa Inês.

**Palavras-chave:** ovinos, eletroejaculação, reprodução, biotecnologias, bem-estar.

**Keywords:** sheep, electroejaculation, reproduction, biotechnology, welfare.



## **Efeito da administração de doses basais diárias de GnRH na qualidade seminal de carneiros Santa Inês**

*Effect of the daily administration of basal dosis of GnRH on seminal quality of Santa Inês rams*

**Caroline Gomes do Espírito Santo<sup>1\*</sup>, Ana Beatriz da Silva Carvalho<sup>1</sup>, Clara Vieira de Souza<sup>1</sup>, Juliana Dantas Rodrigues Santos<sup>1</sup>, Mario Felipe Alvarez Balaro<sup>1</sup>, Paula Renata Cortat de Souza<sup>1</sup>, Marta Maria Campos Pereira da Costa<sup>1</sup>, Marina Monteiro Netto<sup>1</sup>, Paulo Victor dos Santos Pereira<sup>1</sup>, Rodolfo Ungerfeld<sup>2</sup>, Felipe Zandonadi Brandão<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense – UFF, Niterói, RJ, Brasil.

<sup>2</sup>Facultad de Veterinaria de la Universidad de la Republica, Montevideo, Uruguay.

\*E-mail: carolinegomes@id.uff.br

A qualidade seminal é diretamente influenciada pela concentração plasmática de testosterona circulante, de forma que a administração de análogos de GnRH pode promover benefícios a fertilidade de carneiros. Entretanto, este hormônio, quando utilizado em doses altas, momentos antes da coleta de sêmen, gera, posteriormente, devido ao aumento do andrôgeno, um feedback negativo nos pulsos endógenos de GnRH no hipotálamo e, conseqüentemente, a diminuição da concentração de LH e FSH. Deste modo, o estudo objetivou verificar os efeitos da administração diária de doses basais GnRH na qualidade espermática de carneiros da raça Santa Inês. Foram formados dois grupos, controle ( $G_{\text{controle}}$ ;  $n=7$ ) e tratamento ( $G_{\text{GnRH}}$ ;  $n=8$ ). O grupo tratamento recebeu quatro doses diárias de 2,5  $\mu\text{g}$  de acetato de buserelina (Sincroforte®; Ourofino Saúde Animal Ltda, São Paulo, Brasil) durante 21 dias, por via intramuscular. O sêmen foi coletado por meio da eletroejaculação a cada quatro dias ao longo do experimento, compilando duas coletas antes do início das aplicações de GnRH e duas após seu término. As variáveis foram analisadas quanto ao efeito de tempo, tratamento e interação tempo e tratamento. Os dados quantitativos foram submetidos a ANOVA e comparação de médias pelo Teste de Tukey ( $CV \leq 30\%$ ) ou Teste de Fisher LSD ( $CV > 30\%$ ) ( $P < 0,05$ ). Dados ordinais (cor, odor, aspecto e turbilhonamento) pareados e não pareados foram avaliados pelo teste de Friedman e Mann-Whitney ( $P < 0,05$ ), respectivamente. Houve efeito de tratamento e tempo na motilidade total ( $G_{\text{controle}}$ :  $91,1 \pm 8,4\%$  vs.  $G_{\text{GnRH}}$ :  $93,7 \pm 10,2\%$ ), além do manutenção da motilidade total, em  $G_{\text{GnRH}}$  ao longo das coletas (primeira coleta –  $G_{\text{controle}}$ :  $94,8 \pm 3,6\%$  vs.  $G_{\text{GnRH}}$ :  $96,7 \pm 3,1\%$ ; Última coleta –  $G_{\text{controle}}$ :  $89,0 \pm 9,2\%$  vs.  $G_{\text{GnRH}}$ :  $95,9 \pm 4,6\%$ ). A motilidade progressiva também apresentou efeito de tratamento ( $G_{\text{controle}}$ :  $36,3 \pm 15,2\%$  vs.  $G_{\text{GnRH}}$ :  $30,9 \pm 11,7\%$ ). No teste hiposmótico, houve efeito de tratamento positivo sobre os espermatozoides íntegros ( $G_{\text{controle}}$ :  $74,8 \pm 11,0\%$  vs.  $G_{\text{GnRH}}$ :  $78,0 \pm 10,4\%$ ). Também houve efeito positivo de tratamento nas variáveis aspecto ( $G_{\text{controle}}$ : mediana: 1 primeiro quartil: 1 terceiro quartil: 2 vs.  $G_{\text{GnRH}}$ : mediana: 1 primeiro quartil: 1 terceiro quartil: 3). Já o turbilhonamento foi melhor no  $G_{\text{controle}}$  ( $G_{\text{controle}}$ : mediana: 4 primeiro quartil: 3 terceiro quartil: 4 vs.  $G_{\text{GnRH}}$ : mediana: 3 primeiro quartil: 2 terceiro quartil: 4). Resultados como os obtidos na motilidade total, integridade espermática e aspecto podem ser explicados devido a melhoria gerada pela testosterona na qualidade do plasma seminal, responsável pela manutenção espermática. Já os efeitos negativos nas demais características citadas podem se dar devido as características individuais dos animais alocados nos grupos experimentais. Em conclusão, a administração de GnRH em doses basais é favorável a importantes parâmetros seminais fundamentais para a fertilidade de machos.

**Palavras chave:** sêmen, eletroejaculação, motilidade, qualidade espermática, CASA.

**Keywords:** semen, electroejaculation, motility, sperm quality, CASA.



## Superovulation of Morada Nova Ewes with protocols diverging only progesterone duration regimen

*Superovulação de ovelhas Morada Nova com protocolos divergentes apenas do regime de duração da progesterona*

**Aline Matos Arrais<sup>1,\*</sup>, Marco Roberto Bourg de Mello<sup>2</sup>, Gabriel Brun Vergani<sup>3</sup>,  
Lucas Machado Figueira<sup>4</sup>, Marco Antonio Paula de Sousa<sup>5</sup>, Bruno Pena Carvalho<sup>6</sup>,  
Narian Romanello<sup>7</sup>, Lúcia Prellwitz<sup>8</sup>, Joanna Maria Gonçalves Souza-Fabjan<sup>9</sup>,  
Jeferson Ferreira da Fonseca<sup>10</sup>**

<sup>1</sup>Doutoranda, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica - RJ, Brasil; <sup>2</sup> Professor associado, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica - RJ, Brasil; <sup>3</sup> Mestrando, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal-SP, Brasil; <sup>4</sup> Doutorando, Universidade Federal de Lavras- Lavras- MG, Brasil; <sup>5</sup> Doutorando, Universidade Federal do Pará, Castanhal- PA, Brasil; <sup>6</sup> Analista, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Rio Branco- AC – Brasil; <sup>7</sup> Doutoranda, Universidade de São Paulo- SP, Brasil; <sup>8</sup> Graduanda, Universidade Federal Fluminense, Niterói- RJ, Brasil; <sup>9</sup> Professora adjunta, Universidade Federal Fluminense, Niterói-RJ, Brasil; <sup>10</sup> Pesquisador, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Coronel Pacheco- MG, Brasil.

\*E-mail: alinematosarraais@yahoo.com.br

Despite the importance of Morada Nova for Northeast sheep production systems, information about embryo production of this breed is scarce with only one report of multiple ovulation and surgical embryo recovery (Brasil et al., 2016. *ArqBrasMedVetZootec*, 68:1390-1394) and non-surgical uterine access (Fonseca et al., 2016. *Theriogenology*, 86:144-151). In this context, the objective of this study was to evaluate the efficiency of different superovulation protocols in pluriparous Morada Nova using non-surgical embryo recovery (NSER) to access embryo production. A total of 18 ewes were equally assigned to three treatments group with 6 (T6, n=6), 9 (T9, n=6) and 12 (T12, n=6) days of 60 mg MAP intravaginal sponges (Progespon<sup>®</sup>, Zoetis, Campinas, São Paulo, Brazil) permanence. Sponges were inserted and removed at 7:00 p.m. Sixty hours before sponge removal, all ewes started to receive six decreasing doses (25-25-15-15-10-10%), at intervals of 12 (07:00 a.m and 7:00 p.m.) of 133 mg of pFSH (Folltropin<sup>®</sup>, Vetoquinol, Mairiporã - São Paulo, Brazil). Ewes also received 37.5 µg of d-cloprostenol (Prolise<sup>®</sup>, ARSA SRL, Buenos Aires, Argentina) together with 5<sup>th</sup> and 6<sup>th</sup> FSH dose. Estrus was checked twice a day (every 12 h) for three days and mated while in estrus with, four rams of proven fertility. Corpora lutea were counted through transrectal ultrasonography in B mode and Doppler (7.5 MHz linear transducer; M5 Vet<sup>®</sup>, Mindray, Shenzhen, China) one day before NSER. Ewes received 37.5 µg of d-cloprostenol and 1 mg of estradiol benzoate (Sincrodiol<sup>®</sup>, OuroFino, Cravinhos, Brazil) i.m. 16 h and 50 IU oxytocin (Ocitocina Forte<sup>®</sup>, UBCVet, São Paulo, Brazil) i.v. 20 min prior to NSER (6.5 days after estrus onset). Qualitative data were analyzed by exact Fisher test and the quantitative data were sequenced by the multiple-media-test, Kruskal-Wallis test at 5% significance. All protocols showed similar efficiency (P>0.05). Seventeen sheep (17/18) responded to estrus, with an average onset of 21.88 h ±1.7 and duration of 41.64 h±2.9h. Successful NSER was done in 94.1% (16/17). The number of corpora lutea (7.8±2.8, 11.8±1.4 and 11.3±2.0), recovered structures (3.5±1.5, 8.0±2.7 and 6.8±2.0) and the viable embryos (2.5±1.4, 4.8±1.9 and 4.8±2.2) were similar (P>0.05) for T6, T9 and T12, respectively. The NSER mean duration was 30.8±2.6 min, with recovery of 99.1% of injected fluid and embryo recovery rate of 60.5% (95/157). These preliminary results showed that different duration progesterone regimes support good superovulatory answer, viable embryo production from T9 and T12 reached the average world reported answer for sheep (five viable embryos for donor collected) and that NSER can be successfully applied in Morada Nova ewes.

Financial support: Embrapa (02.13.06.026.00.04) and Fapemig (CVZ-PPM 00201-17).

**Keywords:** superovulation, progesterone, embryo transfer, small ruminant.

**Palavra-chave:** superovulação, progesterona, transferência de embriões, pequenos ruminantes.



## **O teste de vela de Hegar durante o estro pode selecionar receptoras de embrião para a realização da transferência de embriões transcervical em programas de MOTE de ovelhas da raça Santa Inês**

*Hegar dilator test during estrus can select ewes for transcervical embryo transfer in MOET programs of Santa Inês sheep*

**Vanessa Moreira Barbosa dos Santos<sup>1,\*</sup>, Mario Felipe Alvarez Balaro<sup>1</sup>,  
Juliana Dantas Rodrigues Santos<sup>1</sup>, Augusto Ryonosuke Taira<sup>1</sup>, Paulo Victor dos Santos Pereira<sup>1</sup>,  
Fernanda Martins Gonçalves<sup>1</sup>, Jeferson Ferreira da Fonseca<sup>2</sup>, Felipe Zandonadi Brandão<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói, Rio de Janeiro, Brasil; <sup>2</sup>Embrapa Caprinos e Ovinos, Coronel Pacheco, Minas Gerais, Brasil.

\*E-mail: vanessambs.alirj@gmail.com

Métodos para seleção de doadoras de embriões ovinas para a utilização do método não cirúrgico de coleta de embriões já foram demonstrados recentemente (J. R. Santos et al.2019. *ReprodDomAnim*,00:1-3), entretanto ainda não foi determinado um método que possibilite selecionar receptoras para a transferência transcervical de embriões. Sendo assim, o objetivo desse estudo foi usar o teste de transposição cervical utilizando a vela de Hegar durante o estro visando a seleção de receptoras aptas a passarem pela transferência de embriões não cirúrgica. Ovelhas adultas da raça Santa Inês (n=12) foram utilizadas após um protocolo hormonal de indução de estro sincronizado (Balaro et al.2015. *DomestAnimEndocrinol*, 54:10-14), o teste de transposição cervical foi realizado em dois momentos: durante o estro (32 horas após a remoção da esponja) e no diestro (D8, momento da transferência de embrião TE). Antes dos dois testes, as ovelhas foram sedadas utilizando-se maleato de acepromazina (0,1mg/kg; Vetnil, Louveira, Brasil) e diazepam (0,4 mg/kg; Teuto, Anápolis, Brasil), ambos intravenosos. O teste no momento da TE foi precedido pela anestesia epidural utilizando cloridrato de cetamina 10% (2,0 mg/kg; Syntec, São Paulo, Brasil) e administração 100 UI de ocitocina IV (10mL/animal; Biofarm, Jaboticabal, Brasil), visando a analgesia e dilatação cervical, respectivamente, antes das tentativas de passagem. Depois da localização da cérvix com espéculo, a cérvix foi fixada com pinça de Allis e exteriorizada utilizando tração caudal com duas pinças de Pozzi. Foram realizadas três tentativas de transposição de cérvix com inserção da Vela de Hegar, com a duração máxima de 5 minutos para cada tentativa, e intervalos de 10, 20 ou 40 minutos após medicação pré-anestésica (teste no estro) ou anestesia epidural (teste no diestro). O teste era considerado positivo se todos os anéis cervicais fossem transpostos, em qualquer tentativa, e se não passasse ao final das três tentativas, ele era considerado negativo. O resultado do teste no estro foi relacionado com o teste na TE e foram encontrados os seguintes resultados: verdadeiro positivo (VP, animal que passou nos dois testes) = 54,2% (13/24); verdadeiro negativo (VN, animal que não passou nos dois testes) = 20,8% (5/24); falso positivo (FP, animal que passou no teste no estro e não passou no teste no diestro) = 25,0% (6/24); falso negativo (FN, animal que não passou no teste no estro e passou no teste no diestro) = 8,3% (2/24); sensibilidade = 68,4%; especificidade = 71,4%; valor preditivo positivo = 86,7%; valor preditivo negativo = 45,2%; índice Kappa ( $\kappa$ ) = 0,34 e acurácia = 69,2%. Sendo assim, um VPP de 86,7% faz o teste ser considerado para detectar as ovelhas que realmente irão passar no teste de transposição cervical. Por fim, o baixo VPN indica que mesmo alguns animais classificados como negativos no teste do estro, podem vir a passar depois do teste de transposição cervical no diestro. Deste modo, o teste de vela no estro pode ser adotado em receptoras ovinas de embrião de modo a selecionar fêmeas involuadas pela via transcervical, sendo as demais destinadas ao procedimento semi-cirúrgico. Financiamento: CNPq (304956/2018-0) e Faperj (E-26/202.781/2018)

**Palavras-chave:** ovelha, cérvix, transferência de embriões.

**Keywords:** sheep, cervix, embryo transfer.



## Ocorrência de doenças uterinas diagnosticadas por ultrassonografia em ovelhas submetidas a programas de IATF

*Occurrence of uterine diseases diagnosed by ultrasonography in ewes submitted to IATF programs*

**Joyce Taynan Pereira Vasconcelos<sup>1</sup>, Riany Silva Vidal<sup>1</sup>, Rodolfo Marinho Cunha<sup>1</sup>, Rodrigo Alves Monteiro<sup>2</sup>, Marcos Antônio da Costa Junior<sup>1</sup>, Maria Beatriz dos Santos Xavier<sup>1</sup>, Fábio Mendonça de Souza<sup>3</sup>, Carlos Enrique Peña Alfaro<sup>4</sup>, Valdir Moraes de Almeida<sup>4,\*</sup>**

<sup>1</sup>Graduando em Medicina Veterinária, CSTR, Universidade Federal de Campina Grande, Paraíba, Brasil; <sup>2</sup>Pós-graduando em Medicina Veterinária UFPB; <sup>3</sup>Professor do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, PE, Brasil; <sup>4</sup>Professor da Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Campina Grande, Paraíba, Brasil.

\*E-mail: valdirvet@hotmail.com

Na realização de programas de sincronização hormonal do estro e Inseminação Artificial em Tempo Fixo-IATF em ovelhas, tem sido possível diagnosticar, por meio da ultrassonografia, doenças uterinas tais como a hidrometra e mucometra, caracterizadas por acúmulo de líquido estéril no lúmen uterino, de aspecto aquoso na hidrometra e seromucoso na mucometra e, a piometra, com acúmulo de secreção purulenta. Na maioria dos casos, observa-se persistência de corpo lúteo e a consequente manutenção dos elevados níveis de progesterona. Em estudo de campo, foram realizados 22 programas de IATF, em sete rebanhos ovinos do Estado de Pernambuco, no período compreendido entre os meses de janeiro e dezembro de 2018, com um total de 392 fêmeas inseminadas, das raças Santa Inês e Dorper, sob estro sincronizado por meio de protocolo hormonal, que consistiu na aplicação de presário intravaginal impregnado de progesterona (CIDR®), por um período de 12 dias e, no ato de sua retirada, administração intramuscular de 300UI de eCG (Novormon®), seguida da IATF-Laparoscópica 55 horas após. Observou-se a ocorrência destas doenças uterinas, quando da realização de exame ultrassonográfico transabdominal (SonoScape), para início da resincronização, realizada 60 a 80 dias da sincronização anterior, em fêmeas negativadas no ato da confirmação de prenhez, pós a IATF. No rebanho 1 - 7,5% apresentaram hidrometra (9/120), 1,6% mucometra (2/120) e 0,8% piometra (1/120); No rebanho 2 - 5% apresentaram hidrometra (4/80) e 1,25% mucometra (1/80); No rebanho 3 - 3,3% apresentaram hidrometra (2/60) e 0% mucometra (0/60); No rebanho 4 - 5,7% apresentaram hidrometra (2/35) e 2,8% mucometra (1/35); No rebanho 5 - 9% apresentaram hidrometra (2/22) e 13,6% mucometra (3/20); No rebanho 6 - 6% apresentaram hidrometra (3/50), 4% mucometra (2/50) e 2% piometra (1/50); No rebanho 7 - 8% apresentaram hidrometra (2/25) e 0% mucometra (0/25). No total das 392 fêmeas, observou-se que 6,1% apresentaram hidrometra (24/392), 2,3% apresentaram mucometra (9/392) e 0,5% apresentaram piometra (2/392). Não foram observadas diferenças estatísticas na incidência das patologias entre as raças e entre as patologias. Ressalta-se uma importante incidência das patologias uterinas em ovelhas provenientes de sincronização do estro e, a imprescindível reavaliação ultrassonográfica em fêmeas a serem resincronizadas.

**Palavras-chave:** hidrometra, piometra, ovino

**Keywords:** hidrometra, pyometra, sheep.



## Adición de butilhidroxitolueno (BHT) en la congelación de semen de carnero

*Addition of butylhydroxytoluene (BHT) in sheep semen freezing*

Camila Sepúlveda<sup>1</sup>, Rommy Diaz<sup>1</sup>, Silvana Bravo<sup>1</sup>, Mariana Torres<sup>2</sup>, Néstor Sepúlveda<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales, Centro de Biotecnología en Reproducción (BIOREN-CEBIOR), Universidad de La Frontera, Temuco, Chile; <sup>2</sup>Facultad de Veterinaria, Universidad de Sao Paulo, Brasil.

\*E-mail: nestor.sepulveda@ufrontera.cl

El Hidroxitolueno butilado o Butilhidroxitolueno (BHT) es un antioxidante análogo sintético de la vitamina E, usado ampliamente como antioxidante y conservante para evitar el deterioro oxidativo de los ácidos grasos en la industria de alimentos, cosméticos y productos farmacéuticos. BHT se ha adicionado a los diluyentes de congelación como una forma de prevenir los cambios en la permeabilidad de la membrana espermática durante la criopreservación, además se ha utilizado como un antioxidante no enzimático para eliminar especies reactivas de oxígeno (ROS) y mejorar la calidad del semen después de la congelación-descongelación en especies como bovinos, caprinos, humanos, equinos; felinos, caninos y peces. En ovinos el BHT sólo ha sido utilizado en semen enfriado, por esta razón se establece el presente estudio que pretende evaluar la adición de BHT al semen de carneros y evaluar su efecto sobre la funcionalidad de los espermatozoides después de un proceso de congelado-descongelado. Como donantes fueron utilizados 8 carneros de raza criolla Araucana a los cuales se extrajo semen 2 veces por semana utilizando una vagina artificial. Una vez evaluado el semen, se procedió a conformar un pool de semen y diluirlo en una solución que contenía TRIS, Ac. Cítrico, Fructosa, Glicerol, Yema de Huevo, Estreptomycin y Penicilina. Se realizaron 4 tratamientos: 1=Control; 2=1 mM BHT; 3=2,5 mM BHT y 4=5 mM BHT. Se realizaron 10 repeticiones (extracciones y congelación) y se envasaron cada vez 12 pajuelas de 0,25 ml ( $100 \times 10^6$  espermatozoides/ml) por cada tratamiento. Los parámetros funcionales de los espermatozoides fueron evaluados por citometría de flujo, utilizando los fluoróforos PNA-FITC/PI, DHE y C11-BODIPY para determinar la integridad de membrana, niveles de anión superóxido y lipoperoxidación de membrana, respectivamente. El porcentaje de células con las membranas plasmática y acrosomal íntegras no fue significativamente diferente, obteniéndose en el tratamiento 1=25,8± 3,4%; tratamiento 2=20,8 ± 2,8%; tratamiento 3=20,19 ± 1,8%; tratamiento 4=21,6 ± 2,2%. También, no se observaron diferencias significativas en los indicadores de estrés oxidativo ( $P > 0,05$ ), ya que las concentraciones de BHT utilizadas no lograron disminuir los niveles de anión superóxido y nivel de lipoperoxidación de la membrana espermática. Por lo tanto, la adición de concentraciones de 1mM; 2,5mM y 5mM de BHT no tendría un efecto beneficioso sobre el proceso de criopreservación de semen ovino.

**Palabras-clave:** criopreservación, antioxidantes, citometría de flujo

**Keywords:** *criopreservation, antioxidants, flow cytometry.*

**Produção *in vivo* de embriões ovinos do sexo masculino utilizando sêmen imunosexado**  
*In vivo production of male ovine embryos using immunosexed sperm*

**Keilla Moreira Maia<sup>1,\*</sup>, Bárbara Mara Bandeira Santos<sup>2</sup>, Bruna Farias Brito<sup>3</sup>,  
Giliane da Silva de Souza Cabral<sup>4</sup>, Leonardo Tondello Martins<sup>5</sup>, Saul Gaudêncio Neto<sup>5</sup>,  
Kaio César Simiano Tavares<sup>5</sup>, Cristiane Clemente de Mello Salgueiro<sup>2</sup>,  
Marcos Fernando de Resende Matta<sup>6</sup>**

<sup>1</sup>Faculdade Cisne de Quixadá, Quixadá, Ceará, Brasil; <sup>2</sup>Rede Nordeste de Biotecnologia, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, Ceará, Brasil; <sup>3</sup>Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, Ceará, Brasil; <sup>4</sup>Centro de Biociência e Biotecnologia, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro, Brasil; <sup>5</sup>Fortgen Technologies, Fortaleza, Ceará, Brasil; <sup>6</sup>HY Biotecnológica, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil.

O nascimento de crias do sexo desejado é particularmente almejado por todos os tipos de criação, principalmente por maximizar a produção animal com menor custo. Atualmente a técnica mais utilizada para sexagem espermática é a citometria de fluxo, que além de laboriosa possui também um alto custo. Diante disso o objetivo desse trabalho foi verificar o percentual de embriões do sexo masculino produzidos após inseminação artificial utilizando sêmen imunosexado por meio de anticorpo monoclonal contra proteína fêmea-específica associada à via clássica do complemento em ovinos. Para tanto foi coletado o sêmen de um ovino da raça Dorper de fertilidade comprovada e imediatamente após a coleta o sêmen foi submetido ao protocolo de imunosexagem de acordo com a recomendação do fabricante HY Biotecnológica. O ejaculado inicialmente foi diluído em tampão fosfato-salino (PBS) na proporção de 1:14, centrifugado a 600g, por 10 minutos e retirado o sobrenadante para remoção do plasma seminal. Em seguida foi adicionado 2,5ml do anticorpo monoclonal contra uma proteína fêmea-específica H-X, 12,5ml de PBS e 100 µl de soro de cobaia e mantidos em banho maria a 35°C, por 1 hora. Após o protocolo de imunosexagem o sêmen foi diluído no meio de conservação à base de água de coco em pó (ACP-102). Para a produção *in vivo* de embriões, cinco ovelhas foram sincronizadas e superovuladas para posterior inseminação artificial via laparoscopia. Para recuperação dos embriões foi realizado lavagem uterina cinco dias após a inseminação artificial por meio da técnica cirúrgica de hemilaparoscopia, na qual as fêmeas foram submetidas à anestesia inalatória. A determinação do sexo foi realizada em embriões com oito ou mais células, através do método de PCR (Polymerase Chain Reaction). Foram coletados 41 embriões, no entanto oito estavam degenerados não sendo possível a determinação do sexo. Dos 33 embriões viáveis obteve-se o percentual de embriões do sexo masculino de 72% e 38% de embriões do sexo feminino. Na natureza é conhecido que a proporção de nascimentos entre machos e fêmeas é de 50%, demonstrando que com o resultado obtido foi capaz de sexar os espermatozoides ovinos. O referido resultado corrobora com os obtidos previamente em bovinos nos quais foram observados 87% de embriões do sexo masculino de acordo com a mesma metodologia de imunosexagem. Esse resultado valida a técnica de imunosexagem por meio de anticorpo monoclonal contra proteína fêmea-específica associada à via clássica do complemento, técnica essa de fácil elaboração, podendo ser realizada na propriedade animal com custo inferior aos produtos atualmente disponíveis no mercado.

**Palavras-chave:** espermatozoide, sexagem, ruminantes.

**Keywords:** spermatozoa, sexing, ruminants

## Manejo reprodutivo de ovinos em duas mesorregiões do Estado do Rio Grande do Norte

*Reproductive management of sheep in two mesoregions of the State of Rio Grande do Norte*

**Ana Milena César Lima<sup>1,\*</sup>, Samilly Mesquita Alves<sup>2</sup>, Mariana Siqueira Damasceno<sup>3</sup>,  
Maria Dalila dos Santos<sup>3</sup>, Alice Andrioli<sup>4</sup>, Francisco Selmo Fernandes Alves<sup>4</sup>,  
Raymundo Rizaldo Pinheiro<sup>4</sup>, Janaina de Fátima Saraiva Cardoso<sup>5</sup>, Ney Rômulo de Oliveira Paula<sup>5</sup>**

<sup>1</sup>Discente de Doutorado em Ciência Animal da Universidade Federal do Piauí, Teresina, PI; <sup>2</sup>Discente de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE; <sup>3</sup>Discente do curso de Medicina Veterinária do Centro Universitário UNINTA, Sobral, CE; <sup>4</sup>Pesquisador (a) da Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral, CE; <sup>5</sup>Professor (a) do Curso de Medicina Veterinária e do Programa de Pós-Graduação da Universidade Federal do Piauí (UFPI), Teresina, PI.

\*E-mail: anamilenalima@yahoo.com.br

A produção de caprinos e ovinos no Nordeste brasileiro enquadra-se como atividade geradora de trabalho e renda, destacando-se também, como fonte de alimento de alto valor proteico e fortalecimento do comércio regional através dos produtos cárneos e lácteos. Contudo, diversos fatores contribuem para a baixa produtividade de caprinos e ovinos, como as falhas de manejos sanitário, nutricional e reprodutivo, principalmente pela ausência do uso de práticas biotecnológicas na produção. Assim o levantamento e caracterização das práticas de manejo adotadas nos rebanhos do Estado Potiguar tornam-se necessários para o estudo e adoção futura de medidas saneadoras para o desenvolvimento desta atividade. Deste modo, objetivou-se caracterizar o manejo reprodutivo adotado em propriedades de criação de ovinos nas mesorregiões do Central Potiguar (CP) e Oeste Potiguar (OP) do Estado do Rio Grande do Norte. Foram visitadas 47 propriedades, sendo 25 pertencentes à mesorregião CP e 22 na OP. Os dados foram obtidos por meio da aplicação de questionários individuais aos produtores, contendo informações acerca da identificação dos animais, o sistema de criação adotado e manejo reprodutivo. De acordo com os resultados obtidos nos questionários, pode-se observar que 51,1% (24/47) dos rebanhos são compostos por animais nativos, seguidos por 42,6% com mestiços (20/47) e apenas 6,4% (3/47) eram constituídos de animais exóticos. A maioria dos rebanhos era destinada a produção de carne (83,0%), criados em sistema semi-extensivo (68,1%) e extensivo (17%). Do total de produtores entrevistados, 34,0% (16/47) realizavam práticas de identificação dos animais e apenas 10,6% (5/47) separam os animais por idade. Já entre as práticas reprodutivas adotadas, a inseminação artificial e transferência de embriões, não eram adotadas por nenhum dos criadores. A monta natural não controlada (72,3%) era a forma de reprodução mais utilizada, seguida pela monta natural controlada (27,7%). Neste cenário, 95,7% (45/47) afirmaram não realizar estação de monta nos rebanhos ovinos, 29,8% (14/47) não separam as fêmeas antes de parir e 91,5% (43/47) afirmaram haver casos de morte de animais até desmame. Contudo, 87,2% dos produtores aplicam cuidados com os neonatos. Segundo os produtores as matrizes eram oriundas principalmente do próprio rebanho (74,5%), enquanto que 19,1% reprodutores tinham esta mesma origem. Já os demais machos e fêmeas são adquiridos de rebanhos vizinhos (70,2%) e em feiras e exposições (38,3%). Os machos dos rebanhos, 38,3% (18/47) não são castrados e 38,3% (18/47) são descartados anualmente por motivos de idade e 42,6% (20/47) por consanguinidade. A criação de ovinos nas duas mesorregiões estudadas do Estado do Rio Grande do Norte apresenta manejo reprodutivo deficitário, demandando a implantação de programas de conscientização e assistência técnica aos produtores para obtenção de melhores resultados reprodutivos e produtivos.

**Palavras-chave:** ovinocultura, produção animal, reprodução.

**Keywords:** *production animal, reproduction, sheep farming.*

***In vitro* effect of leptin on follicular development and oocyte maturation in sheep**  
*Efeito in vitro da leptina sobre o desenvolvimento folicular e a maturação oocitária em ovelhas*

**Gizele Augusta Lemos da Silva<sup>1,\*</sup>, Taís Jobard Silva e Macedo<sup>1</sup>, Jamile Maiara Silva Santos<sup>1</sup>,  
Maria Éllida de Souza Bezerra<sup>1</sup>, Vanúzia Gonçalves Menezes<sup>1</sup>, Bruna Bortoloni Gouveia<sup>1</sup>,  
Lara Mariana Rios<sup>1</sup>, Thae Lane Barbosa Gama Lins<sup>1</sup>, Alane Pains Oliveira do Monte<sup>1</sup>,  
Ricássio de Souza Barberino<sup>1</sup>, André Mariano Batista<sup>2</sup>, Maria Helena Tavares de Matos<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Nucleus of Biotechnology Applied to Ovarian Follicle Development, Federal University of São Francisco Valley, Petrolina-PE, Brazil; <sup>2</sup>Laboratory of Animal Reproduction, Federal Rural University of Pernambuco, Recife-PE.

\*E-mail: giseleaugusta.lemos@gmail.com

Leptin, a hormone that is produced in adipose tissue, has been implicated in the regulation of ovarian folliculogenesis. Therefore, the aim of the present study was to evaluate the effects of leptin on the development of isolated secondary follicles cultured *in vitro*. Pairs of ovaries were collected, and secondary follicles were isolated and cultured for 18 days in  $\alpha$ -Minimal Essential Medium ( $\alpha$ -MEM) with 3.0 mg/ml bovine serum albumin (BSA), 10 ng/ml insulin, 2 mM glutamine, 2 mM hypoxanthine, 5.5  $\mu$ g/ml transferrin, 5.0 ng/ml selenium and 50  $\mu$ g/ml ascorbic acid ( $\alpha$ -MEM<sup>+</sup> - control medium) or  $\alpha$ -MEM<sup>+</sup> supplemented with 10 or 25 ng/mL leptin. Every two days the medium was changed and every six days, the following parameters were analyzed: percentage of morphologically normal follicles and antrum formation. In addition, at the end of the culture, the percentage of fully-grown oocytes (oocytes  $\geq$  110  $\mu$ m), intracellular glutathione (GSH) levels, and mitochondrial activity were also evaluated. Moreover, the chromatin configuration was analyzed after *in vitro* maturation (IVM) of the oocytes. Percentages of normal and atretic follicles, antrum formation and fully grown oocytes were compared by the chi-square test. GSH data and active mitochondria were submitted to the non-parametric Kruskal-Wallis test, followed by the Student Newman Keuls test. IVM data were submitted to the Fischer Exact ( $p < 0.05$ ). After 18 days of culture, no difference ( $p > 0.05$ ) on the percentage of morphologically normal follicles was observed among treatments. Nevertheless, the percentages of antrum formation and fully grown oocytes ( $\geq$  110  $\mu$ m) were higher ( $p < 0.05$ ) in 25 ng/mL leptin (32.6% and 30.4%, respectively) than in  $\alpha$ -MEM<sup>+</sup> (7.4% and 5.6%, respectively) and 10 ng/mL leptin (3.7% and 14.8%, respectively). In addition, at the end of culture, GSH levels and mitochondrial activity were higher ( $p < 0.05$ ) in 10 or 25 ng/mL leptin than in  $\alpha$ -MEM<sup>+</sup>. Moreover, the concentration of 25 ng/mL leptin (33.33%) showed a higher ( $p < 0.05$ ) percentage of oocytes in MII than the control medium (5.26%). In conclusion, 25 ng/mL leptin promoted higher *in vitro* maturation rates by improving follicular development and growth, GSH level and mitochondrial activity of ovine oocytes.

**Palavras-chave:** atividade mitocondrial, GSH, ovário, ovino.

**Keywords:** *mitochondrial activity, GSH, ovary, ovine.*

## Efeito da adição de Ácido Fólico na cinética espermática do sêmen ovino criopreservado

*Effect of Folic Acid addition on sperm kinetics of cryopreserved sheep semen*

**Filipe Nunes Barros<sup>1,\*</sup>, Marcos Antônio Celestino de Sousa Filho<sup>1</sup>,  
Jefferson Hallisson Lustosa da Silva<sup>1</sup>, Luanna Soares de Melo Evagelista<sup>5</sup>,  
Anna Monallysa Silva de Oliveira<sup>1</sup>, Maria Michele Araujo de Sousa Cavalcante<sup>1</sup>,  
Francisco Felipe Ferreira Soares<sup>1</sup>, Yndyra Nayan Teixeira Carvalho Castelo Branco<sup>2</sup>,  
Marlon de Araújo Castelo Branco<sup>3</sup>, Antônio de Sousa Júnior<sup>4</sup>, José Adalmir Torres de Souza<sup>5</sup>**

<sup>1</sup>Pós-graduando em Ciência Animal, Universidade Federal do Piauí (UFPI), Teresina, Piauí, Brasil; <sup>2</sup>Professora da Universidade Federal de Sergipe (UFS), N. S da Glória, Sergipe, Brasil; <sup>3</sup>Professor da Faculdade Maurício de Nassau; <sup>4</sup>Professor do Colégio Técnico de Teresina (CTT), Teresina, Piauí, Brasil; <sup>5</sup>Professor da Universidade Federal do Piauí (UFPI), Teresina, Piauí, Brasil.

\*Email: filipenbarros@hotmail.com

O *Computer Assisted Sperm Analysis* (CASA) foi desenvolvido no intuito de diminuir a subjetividade da avaliação espermática, fornecendo dados precisos e importantes do movimento individual de cada célula espermática do ejaculado. Sabendo-se que a criopreservação seminal permite a conservação do sêmen por tempo indeterminado, e que, ela gera danos na cromatina, nas membranas e nas proteínas espermáticas, afetando negativamente a funcionalidade dos espermatozoides, surgiu a possibilidade do uso de micronutrientes atuando como antioxidantes, visando melhorar a viabilidade espermática. Pesquisas mostraram que o Ácido Fólico atua na replicação de genes celulares, contribui para inibição da peroxidação lipídica e desoxidação dos radicais livres, protegendo a membrana celular e o DNA, podendo ser um importante antioxidante. O objetivo deste estudo foi analisar a correlação entre os parâmetros da cinética espermática (motilidades total(MOTT) e progressiva(MOTP); velocidades curvilínea(VCL), linear progressiva(VSL) e media da trajetória(VAP)) obtidos através do CASA, e a adição do Ácido Fólico ao diluidor TRIS-gema utilizado na criopreservação. O projeto foi realizado no Laboratório de Biotecnologia da Reprodução Animal, da Universidade Federal do Piauí, onde foram utilizados seis ovinos Santa Inês. Foram coletados sete ejaculados de cada animal por vagina artificial, com auxílio da fêmea em estro, intercaladas entre 48 e 72 horas. Utilizou-se ejaculados que apresentaram valores mínimos de 70,0% de motilidade e 3 de vigor. Então, uma alíquota do ejaculado, diluída em formol salino (diluição 1:200) foi utilizada para avaliação da concentração e morfologia espermática. Após colheita e análise macro e microscópica, misturou-se as amostras formando o *pool*. Em seguida, o *pool* foi diluído em meio de criopreservação Tris-Gema e dividido em 3 grupos: o Grupo 1, o controle; Grupo 2 adicionou-se 10000 uM de Ácido Fólico; Grupo 3 adicionou-se 5000 uM de Ácido Fólico. Posteriormente, envasou-se as amostras de sêmen em palhetas (0,25 mL), processando em máquina de congelamento de sêmen. Um mês depois, avaliou-se os parâmetros da motilidade espermática (MOTT, MOTP, VCL, VSL e VAP) através do CASA. Foram procedidas as análises de variância dos parâmetros avaliados e obtidas as médias e desvios-padrões. As médias foram comparadas pelo teste de Duncan ao nível de significância de 5%. Foi utilizado o software SAS (Statistical Analysis System) versão 9.0. Observou-se que os diferentes níveis de Ácido Fólico utilizados não promoveram melhorias nos parâmetros cinéticos avaliados ( $P > 0,05$ ). Entretanto os grupos testados também não prejudicaram os parâmetros, tendo em vista que todos valores mantiveram-se acima do preconizado pelo Colégio Brasileiro de Reprodução Animal. Esses resultados podem ser devido, por exemplo, a suposição da quantidade ideal da substância a ser utilizada ou a forma e período de administração do micronutriente, tendo em vista que pesquisas utilizando o Ácido Fólico como antioxidante concentram-se na sua maioria, na espécie humana.

**Palavras-chave:** cinética espermática, sêmen, antioxidante, ácido fólico.

**Keywords:** *spermatic kinetics, semen, antioxidant, folic acid.*



## **Inseminação artificial por retração cervical em ovelhas Santa Inês com reduzido período pós-parto: estudo preliminar**

*Artificial insemination by cervical retraction in Santa Inês ewes with reduced postpartum period: preliminary study*

**Katariny Cardoso de Almeida<sup>1</sup>, William Morais Machado<sup>2</sup>, Celso Henrique Souza Costa Barros<sup>3</sup>, Paola Pereira das Neves Snoeck<sup>4</sup>, Caio Tácito Gomes Alvares<sup>4,\*</sup>**

<sup>1</sup>Bolsista ICB, Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), BA, Brasil;

<sup>2</sup>Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, UESC, BA, Brasil; <sup>3</sup>Médico Veterinário, Doutor em Ciência Animal, UESC, BA, Brasil; <sup>4</sup>Departamento de Ciências Agrárias e Ambientais, Curso de Medicina Veterinária, UESC, BA, Brasil.

\*E-mail: ctgalvares@uesc.br

A inseminação artificial permite que reprodutores de elevado padrão genético possam servir a um número superior de fêmeas por estação reprodutiva. Em ovinos, porém, existem entraves que limitam sua utilização em larga escala. A cérvice da ovelha é altamente tortuosa, com anéis desalinhados, que promovem uma barreira física, mesmo em condição de estro. Neste sentido, a técnica de inseminação artificial por retração cervical (IRC) permite maior alinhamento dos anéis cervicais, facilitando sua transposição e a deposição intrauterina do sêmen. Quanto ao sêmen ovino, seu potencial de fertilização aumenta quando usado líquido refrigerado. Considerando que a ovelha pode apresentar completa involução uterina em até 28 dias pós-parto, porém, tendendo a apresentar o canal cervical dilatado, este trabalho teve como objetivo avaliar a ciclicidade e índices reprodutivos de ovelhas Santa Inês submetidas à técnica de sincronização de estro e IRC em reduzido período pós-parto. O estudo foi realizado na Estação Experimental Fazenda Almada, UESC, Ilhéus, BA. Foram utilizadas 19 ovelhas pluríparas com idade entre três e seis anos, peso vivo médio de  $55,00 \pm 4,00$ kg e escore de condição corporal médio de  $3,5 \pm 0,5$  (escala de 1-5), dois rufiões vasectomizados e um reprodutor Santa Inês PO com comprovada fertilidade para coleta e processamento do sêmen. As ovelhas foram inseminadas entre 40-45 dias pós-parto (dpp). Para tal, foram submetidas ao protocolo hormonal curto de seis dias, sendo no D0 implante de esponja intravaginal contendo 60mg de MAP, aplicação IM de 120,5µg de cloprostenol e 200 UI de eCG no D5 e retirada da esponja no D6. Em  $55,0 \pm 1,0$ h após o protocolo foi realizada a IRC, com sêmen do reprodutor (MT 90%; MP 80%; Vigor 4,0) refrigerado a 5°C, concentração espermática de  $150 \times 10^6$  spz/dose. Após identificação de retorno do estro pelos rufiões ( $17 \pm 2$  d), o reprodutor foi utilizado para repasse. A ocorrência de estro foi de 79% (15/19), sendo o intervalo médio entre protocolo e estro de  $39 \pm 11$ h. O retorno fisiológico de estro com repasse ocorreu em 26% (5/19) das ovelhas. Ao diagnóstico por US 35 dias pós IRC, ocorreu 16% (3/19) de gestação, 53% (10/19) de vazias e 31% (6/19) de perda embrionária. A gestação pós-repasse foi de 100% (5/5). O protocolo hormonal foi bem sucedido quanto à manifestação de estro em ovelhas entre 40-45dpp. Houve satisfatória taxa de concepção com IRC (47%, 9/19), contudo, é possível que o ambiente uterino pós-involução ainda não estivesse apto para manter uma nova gestação, como demonstra a elevada perda embrionária no estudo. Dessa forma, o tratamento hormonal pode ser indicado para retomar a ciclicidade reprodutiva aos 40-45dpp, porém, não se observou viabilidade da IRC com sêmen refrigerado neste período em ovelhas Santa Inês.

**Palavras-chave:** ciclicidade, dias pós-parto, IATF, involução uterina, sincronização.

**Keywords:** *cyclicality, days postpartum, FTAI, uterine involution, synchronization.*

**Adição de suco de abacaxi e beterraba no diluente de sêmen ovino criopreservado***Addition of pineapple and beet juice in ovine cryopreserved semen diluents***Danielle Nunes Gurgeira<sup>1,\*</sup>, Alexandre da Rocha Bozzi<sup>2</sup>, Luíza Sartori<sup>1</sup>, Charleni Crisóstomo<sup>1</sup>,  
Ricardo Lopes Dias Costa<sup>3</sup>, Renato Travassos Beltrame<sup>4</sup>, Celia Raquel Quirino<sup>5</sup>**

<sup>1</sup>Mestranda do Programa de Pós Graduação em Produção Animal Sustentável do Instituto de Zootecnia, Nova Odessa - SP, Brasil; <sup>2</sup>Médico veterinário Mestre em Produção Animal Sustentável pelo Instituto de Zootecnia (IZ/APTA/SAA); <sup>3</sup>Pesquisador, Professor e Orientador da Pós Graduação em Produção Animal Sustentável do Instituto de Zootecnia, Nova Odessa-SP, Brasil; <sup>4</sup>Professor do Centro Universitário do Espírito Santo, Unesc, Colatina-ES, Brasil; Professora da Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes-RJ, Brasil  
\*E-mail: danielle.gurgeira@yahoo.com.br

Os espermatozoides dos mamíferos são muito susceptíveis a danos causados pelas espécies reativas ao metabolismo de oxigênio (ERMO), uma vez que possuem grande proporção de ácidos graxos poli-insaturados e são mais propensos a sofrerem com a oxidação. Há ainda a carência de enzimas citoplasmáticas antioxidantes agravando a resistência espermática frente ao estresse oxidativo. No sêmen, em quantidades fisiológicas, as ERMO promovem a capacitação, hiperativação, reação acrossomal e fusão com o oócito. No entanto, concentrações elevadas podem acarretar a imobilização e morte dos espermatozoides. É o que ocorre nas etapas de criopreservação do sêmen, diminuindo a capacidade de fertilização. Atualmente substâncias antioxidantes naturais, extraídas de plantas, como os compostos fenólicos que abrangem os flavonóides, ácidos fenólicos e tocoferóis, são utilizadas na indústria alimentícia e na medicina terapêutica e preventiva. O objetivo do trabalho foi avaliar motilidade total (MT) e motilidade progressiva (MP) de sêmen ovino criopreservado, adicionando suco de abacaxi e beterraba no diluente. Foram utilizados cinco carneiros machos adultos (2 a 4 anos) e todos submetidos a colheita de sêmen em dias alternados durante 10 dias, com o auxílio de vagina artificial. Foi extraído suco de abacaxi (A) e beterraba (B) e posteriormente divididos em 3 tratamentos adicionados no sêmen diluído: A10%, B10% e AB10%, além do grupo controle (C). Após a diluição primária, o sêmen foi separado em 4 alíquotas de um ml cada. De acordo com o tratamento, acrescido de um ml de diluente BotuBov® com a adição dos sucos, obtendo-se uma concentração final de  $400 \times 10^6$  sptz/ml. Análise de variância e teste de Tukey a 5% foram realizados no SAS. No pós-descongelamento houve diferença ( $P < 0,05$ ) entre os tratamentos para as médias de MT e MP. O grupo A10% apresentou menores porcentagens tanto em MT (10,3%) quanto em MP (3,1%) similar aos resultados obtidos no grupo AB10% (13,8% e 3,2%). Já o tratamento B10% apresentou maior percentual em MT e MP, com valores de 31,5% e 12,7% respectivamente. Conclui-se que o suco de beterraba pode ser utilizado junto ao diluente de sêmen ovino na concentração de 10%, sem apresentar toxicidade e com motilidade progressiva aceitável para a espécie ovina.

**Palavras-chave:** antioxidante, espermatozóide, diluente de sêmen, carneiro.

**Keywords:** antioxidant, spermatozoon, semen diluent, ram.

## Effect of estrus synchronization and superovulation protocol on the distribution of ovine embryos at different stages of development

*Efeito do protocolo de sincronização do cio e superovulação na distribuição de embriões ovinos em diferentes estágios de desenvolvimento*

**Ribrio Ivan Tavares Pereira Batista<sup>1\*</sup>, Gabriel Brun Vergani<sup>2</sup>, Monalisa Sousa Dias Lima<sup>3</sup>, Jeniffer Hauschildt Dias<sup>4</sup>, Dárcio Ítalo Alves Teixeira<sup>5</sup>, Kleibe de Moraes Silva<sup>6</sup>, Alexandre Weick Uchoa Monteiro<sup>7</sup>, Maria Emília Franco Oliveira<sup>8</sup>, Joana Maria Gonçalves Souza-Fabjan<sup>9</sup>, Jeferson Ferreira da Fonseca<sup>10</sup>**

<sup>1</sup>Professor, Universidade Federal do Vale do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina-MG, Brasil; <sup>2</sup>Mestrando em Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal-SP, Brasil; <sup>3</sup>Mestranda em Medicina Veterinária, Universidade do Estado do Ceará, Fortaleza-CE, Brasil; <sup>4</sup>Doutoranda em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, Brasil; <sup>5</sup>Professor, Universidade do Estado do Ceará, Fortaleza-CE, Brasil; <sup>6</sup>Pesquisador, Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral-CE, Brasil; <sup>7</sup>Analista, Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral-CE, Brasil; <sup>8</sup>Professora, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal-SP, Brasil; <sup>9</sup>Professora adjunta, Universidade Federal Fluminense, Niterói-RJ, Brasil; <sup>10</sup>Pesquisador, Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral-CE, Brasil.

\*E-mail: ribrio@yahoo.com.br

The compatibility between the embryo development stage and the estrous cycle moment of the embryo recipient is an important factor in the multiple ovulation and embryo transfer (MOET) program. This aspect contributes significantly to the pregnancy establishment. Thus, the present study aimed to evaluate the effect of estrus synchronization and superovulation protocol on the distribution of ovine embryos at different stages of development. For this, from October to November of 2018, 60 ewes of the Santa Ines (SI; n = 20), Morada Nova (MN; n = 20) and Somalis (SO; n = 20) breeds received intravaginal devices of 0.3 g progesterone (CIDR<sup>®</sup>, São Paulo, Brazil) for nine days and six decreasing doses (25-25-15-15-10-10%) of p-FSH (133 mg – Folltropin V<sup>®</sup>, Vetoquinol, Brazil) i.m. every 12 h. Superovulatory treatment was initiated 60 h before device withdrawal and 37.5 µg of d-cloprostenol (Prolise<sup>®</sup>, Agener União, Brazil) was administered via laterovulvar together with the fifth dose of p-FSH. Females were monitored for estrous response and were naturally mated with fertile rams. Ewes still received 25 µg of gonadorelin (Gestran Plus<sup>®</sup>, Agener União, Brazil) i.m. 36 h after device withdrawal and 16 h before beginning of the non-surgical collection of embryos, received 1 mg of estradiol benzoate (Sincrodiol<sup>®</sup>, Ouro Fino, Cravinhos, Brazil) and 37.5 µg of d-cloprostenol via laterovulvar and 20 min from start 50 IU oxytocin (Ocitocina Forte<sup>®</sup>, UBCVet, São Paulo, Brazil) iv. Embryo collection was performed between days D6 and D7 after the first natural mating by the non-surgical embryo recovery (NSER; Fonseca et al., 2013. *SmallRuminRes*, 111: 96-99). Data were presented in a descriptive way. A total of 53 ewes presented estrus (SO=18, MN=17, SO=18) and 445 structures were recovered from 48 ewes (SI=16, MN=15 and SO=17) subjected to NSER; of which 86.3% (384/445) were classified as viable embryos, according to the criteria established by the IETS and 7.6% as unfertilized. Of the total viable structures, embryos of 8-16 cells and morula stage represented 11.7% (45/384), while the compact morula (CM) 70.8% (270/384), blastocyst stage [initial (5.5%), blastocyst (10.7%) expanded (1.3%) and hatched (0.5)] were 18.0% (69/384). Specifically, 83.3 (174/209), 89.6 (121/135) and 88.1% (89/101) of viable structures and 75.3% (131/174), 71.9 (87/121) and 60.7 (54/89) embryos in the CM stage were observed for the SI, MN and SO breeds, respectively. In conclusion, the protocol of estrus synchronization and superovulation was efficient in the synchronization of ovulation, which reflected in the prevalence of embryos in the stage of compact morula, when the collection is performed between days D6 and D7 after the first natural mating. This time relative do estrus onset should be revised to 6 to 7 day to allow recovering of more advanced than younger embryonic stages, specially for cryopreservation. Financial support: Embrapa (02.13.06.026.00.04) and Fapemig (CVZ-PPM 00201-17).

**Keywords:** MOET, *in vitro* embryo production, embryonic development.

**Palavras-chave:** MOTE, produção *in vivo* de embriões, desenvolvimento embrionário.

## **Integridade e potencial de membranas espermáticas de sêmen ovino criopreservado com adição de suco de abacaxi e beterraba**

*Integrity and potential of sperm membranes from cryopreserved ovine semen with addition of pineapple and beet juice*

**Danielle Nunes Gurgeira<sup>1,\*</sup>, Alexandre da Rocha Bozzi<sup>2</sup>, Luíza Sartori<sup>1</sup>, Charleni Crisóstomo<sup>1</sup>, Ricardo Lopes Dias Costa<sup>3</sup>, Renato Travassos Beltrame<sup>4</sup>, Celia Raquel Quirino<sup>5</sup>**

<sup>1</sup>Mestranda do Programa de Pós Graduação em Produção Animal Sustentável do Instituto de Zootecnia, Nova Odessa - SP, Brasil; <sup>2</sup>Médico veterinário Mestre em Produção Animal Sustentável pelo Instituto de Zootecnia (IZ/APTA/SAA); <sup>3</sup>Pesquisador, Professor e Orientador da Pós Graduação em Produção Animal Sustentável do Instituto de Zootecnia, Nova Odessa-SP, Brasil; <sup>4</sup>Professor do Centro Universitário do Espírito Santo, Unesc, Colatina-ES, Brasil; <sup>5</sup>Professora da Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes-RJ, Brasil.

\*E-mail: danielle.gurgeira@yahoo.com.br

Os espermatozoides dos mamíferos são muito susceptíveis a danos causados pelas espécies reativas ao metabolismo de oxigênio (ERMO), uma vez que possuem grande proporção de ácidos graxos poli-insaturados e são mais propensos a sofrerem com a oxidação. Há ainda a carência de enzimas citoplasmáticas antioxidantes agravando a resistência espermática frente ao estresse oxidativo. No sêmen, em quantidades fisiológicas, as ERMO promovem a capacitação, hiperativação, reação acrossomal e fusão com o oócito. No entanto, concentrações elevadas podem acarretar na imobilização e morte dos espermatozoides. É o que ocorre nas etapas de criopreservação do sêmen, diminuindo a capacidade de fertilização. Atualmente substâncias antioxidantes naturais, extraídas de plantas, como os compostos fenólicos que abrangem os flavonóides, ácidos fenólicos e tocoferóis, são utilizadas na indústria alimentícia e na medicina terapêutica e preventiva. O objetivo do trabalho foi avaliar o potencial de membrana mitocondrial, integridade de membrana plasmática e acrossomal dos espermatozoides de sêmen ovino criopreservado, adicionando suco de abacaxi e beterraba no diluente. Foram utilizados cinco carneiros machos adultos (2 a 4 anos) e todos submetidos a colheita de sêmen em dias alternados durante 10 dias, com o auxílio de vagina artificial. Foi extraído suco de abacaxi (A) e beterraba (B) e posteriormente divididos em 3 tratamentos adicionados no sêmen diluído: A10%, B10% e AB10%, além do grupo controle (C). Após a diluição primária, o sêmen foi separado em 4 alíquotas de um ml cada. De acordo com o tratamento, acrescido de um ml de diluente BotuBov® com a adição dos sucos, obtendo-se uma concentração final de  $400 \times 10^6$  spz/ml. Análise de variância e teste de Tukey a 5% foram realizados no SAS. Os valores de citometria de fluxo, diferiram ( $P < 0,05$ ) pelo alto potencial de membrana mitocondrial (LHP) no grupo B10% (7,38) do AB10% (17,94). Os valores de citometria de fluxo avaliaram a integridade de membrana plasmática e acrossomal, não havendo diferença ( $P > 0,05$ ) entre os tratamentos. Porém, o grupo B10% apresentou o maior valor somado de membrana plasmática íntegra, com um total de 34%, indicando um possível efeito protetor do suco de beterraba. Conclui-se que o suco de beterraba pode ser utilizado junto ao diluente de sêmen ovino na concentração de 10%, mantendo a integridade das membranas e melhorando o potencial de membrana mitocondrial.

**Palavras-chave:** antioxidante, espermatozoide, diluente de sêmen, carneiro.

**Keywords:** *antioxidant, spermatozoon, semen diluent, ram.*



## **Apenas o uso da ocitocina é eficiente para a transposição cervical visando a coleta de embrião não cirúrgica em ovelhas da raça Santa Inês**

*Only the oxytocin use is efficient for cervical transposition in order to collect non-surgical embryos in Santa Inês sheep*

**Vanessa Moreira Barbosa dos Santos<sup>1,\*</sup>, Mario Felipe Alvarez Balaro<sup>1</sup>,  
Juliana Dantas Rodrigues Santos<sup>1</sup>, Augusto Ryonosuke Taira<sup>1</sup>, Paulo Victor dos Santos Pereira<sup>1</sup>,  
Fernanda Martins Gonçalves<sup>1</sup>, Jeferson Ferreira da Fonseca<sup>2</sup>, Felipe Zandonadi Brandão<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói, Rio de Janeiro, Brasil; <sup>2</sup>Embrapa Caprinos e Ovinos, Coronel Pacheco, Minas Gerais, Brasil.

\*E-mail: vanessambs.alirj@gmail.com

Métodos para dilatação cervical visando a coleta de embriões vêm sendo descritos na literatura (J. F. Fonseca et al.2019. *ReprodFertilDev*, 31:17-26), entretanto, tais protocolos são baseados no uso de estrógeno e prostaglandina, que poderiam influenciar negativamente no ambiente uterino pré-coleta de embrião, e conseqüentemente na qualidade embrionária. Com isso, o objetivo desse estudo foi avaliar o efeito do protocolo baseado apenas na administração de ocitocina, visando seus efeitos na dilatação cervical e na taxa de passagem para coleta de embrião. Igualmente, verificar os seus efeitos sobre o corpo lúteo por meio da ultrassonografia. Para tal, foram estabelecidos dois grupos experimentais: O G<sub>Controle</sub> baseado em protocolo já consolidado pelo grupo utilizando estradiol associado com ocitocina e cloprostenol (C.R. Leite et al.2018. *Theriogenol*, 106:247-252), e o segundo G<sub>Teste</sub> utilizando apenas ocitocina antes do teste de transposição cervical. Foram utilizadas 26 ovelhas adultas da raça Santa Inês em um delineamento cross-over. Após um protocolo hormonal de indução do estro sincronizado (Balaro et al. 2015. *DomestAnimEndocrinol*, 54:10-14), o teste de transposição cervical foi realizado no diestro (D8, momento da coleta do embrião). Doze horas antes da transposição cervical visando possível coleta de embriões, ovelhas G<sub>Controle</sub> receberam 0,12mg de cloprostenol i.m. (Agener União, São Paulo, Brasil), 100 mg benzoato de estradiol i.v. (Agener União, São Paulo, Brasil) diluído com 2,5mL de álcool absoluto e 2,5mL de solução salina. Ovelhas G<sub>Teste</sub> receberam 5,1mL de solução salina i.v. e 0,5mL de solução salina i.m. 12h antes da tentativa de passagem da cérvix. Ambos os tratamentos (G<sub>Controle</sub> e G<sub>Teste</sub>) receberam 100 UI de ocitocina i.v. (BioFarm, São Paulo, Brasil) 15 min antes da realização do teste de transposição cervical. Exames ultrassonográficos transretais avaliaram a vascularização, área e diâmetro dos corpos lúteos (CL) nos seguintes tempos: t0h (antes da administração do protocolo, 12h antes da tentativa de transposição cervical no diestro), t24h, t48h, t72h, t96h, t120h e t144h. A taxa de transposição cervical não diferiu entre ovelhas G<sub>Controle</sub> (57,7 %- 15/26) e ovelhas G<sub>Teste</sub> (57,7 %- 15/26). Nas avaliações foi possível observar que CLs de ovelhas G<sub>Controle</sub> regrediram precocemente quando comparado com ovelhas G<sub>Teste</sub>, assim como a vascularização também diminuiu a partir do t96h, onde o escore de vascularização de todos os corpos lúteos de ovelhas G<sub>Controle</sub> sendo igual a 1. A área (77,45±21,35mm<sup>2</sup>), o diâmetro (9,85±1,5mm) e frequência de CLs vascularizados ou não (84,7% dos CLs permaneceram vascularizados até o t144h), não diferiram ao longo do tempo no grupo G<sub>Teste</sub>. Entretanto, verificou-se que no G<sub>Controle</sub> a área (67,7 ± 39,8 vs. 19,4 ± 3,5mm<sup>2</sup>), e o diâmetro (8,8 ± 3,0 mm<sup>2</sup> vs. 5,0 ± 0,4mm<sup>2</sup>) dos CLs diminuíram entre t72h e t96h. Igualmente, a frequência de CLs vascularizados diferiu no G<sub>Controle</sub> entre t0h e t24h (91,7% vs. 66,7%). Sendo assim, podemos considerar que um protocolo de dilatação cervical utilizando apenas ocitocina é preferencial em relação ao protocolo tradicional utilizando estrógeno e prostaglandina, pois não possui o efeito deletério da prostaglandina sobre o CL.

**Financiamento:** CNPq (304956/2018-0); Embrapa (02.13.06.026.00.02).

**Palavras-chave:** produção in vivo de embrião, ovelhas, dilatação cervical.

**Keywords:** *in vivo embryo production, sheep, cervical dilatation.*

## **Stress response and sexual performance of acutely joined adult and yearling rams according to the social dominance position**

*Resposta ao estresse e desempenho sexual após o agrupamento agudo de carneiros jovens e adultos de acordo com a posição de dominância social*

**Lorena Lacuesta<sup>1</sup>, Rodolfo Ungerfeld<sup>1</sup>, Agustín Orihuela<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Departamento de Fisiología, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, Lasplacas 1620, 11600, Montevideo, Uruguay; <sup>2</sup>Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Av. Universidad 1001, Colonia Chamilpa, Cuernavaca Morelos 62210, México.

\*E-mail address: lacuesta16@gmail.com

The response to social stressors vary according to the social hierarchy position that each animal occupies. The aim of this experiment was to compare the stress response and the individual sexual behavior toward an estrous ewe of adult (expected to be dominants) and yearling (expected to be subordinated) rams after joining. Sixteen Saint Croix (8 adults, sexually experienced; and 8 yearling 10 months old, sexually inexperienced) rams were housed in individual pens from Day -30 to Day 0. On Day 0, one adult and one yearling ram were joined in a neutral pen and cortisol concentration was measured. Social position was determined from Day 1 to Day 10 using the food competition test. Before and after joining, sexual behavior (courtship: ano-genital sniffing, flehmen and lateral approach; and mating behavior: mounts, mounts with ejaculation and ejaculation/total mounts) toward an estrous ewe during 20 min was recorded. In 7/8 dyads the adult ram was dominant, and in the other the yearling ram resulted dominant. Cortisol concentration did not differ according to social position but there was a peak of cortisol 30 min after joining the rams (-60 min:  $7.5 \pm 1.4$  nmol/L; 30 min:  $18.6 \pm 3.6$  nmol/L; 120 min:  $6.3 \pm 1.1$  nmol/L;  $P < 0.0001$ , LS mean  $\pm$  SEM). The frequency of courtship behaviors decreased after joining (ano-genital sniffing:  $P = 0.0009$  and lateral approaches:  $P < 0.0001$ ), but the frequency of ano-genital sniffing and flehmen did not vary according to social position. The frequency of ano-genital sniffing varied with time ( $P = 0.0009$ ): it decreased from Day -1 ( $26.7 \pm 3.4$ ) to Day 12 ( $18.7 \pm 2.6$ ) and remained low on Day 22 (Day 22:  $18.8 \pm 2.3$ ). Flehmen did not vary with social position but there was an interaction between social position and time ( $P = 0.01$ ). Dominant rams displayed flehmen more times than subordinated rams on Days -1 ( $6.8 \pm 1.9$  vs  $2.5 \pm 0.7$  respectively,  $P < 0.05$ ) and 12 ( $9.7 \pm 2.3$  vs  $2.6 \pm 0.5$  respectively,  $P < 0.0001$ ). The frequency of lateral approaches decreased after joining the rams ( $P < 0.0001$ ), and was greater in subordinates than in dominant rams (square root:  $7.4 \pm 0.3$  vs  $6.3 \pm 0.3$  respectively,  $P < 0.05$ ). There was an interaction between social position and time ( $P = 0.02$ ): subordinated rams displayed more lateral approaches than dominant rams on Days -1 ( $109.4 \pm 16.4$  vs  $52.3 \pm 7.8$  respectively,  $P < 0.0001$ ) and 12 ( $52.6 \pm 7.8$  vs  $32.5 \pm 6.4$  respectively,  $P < 0.05$ ). The frequency of mating behaviors did not vary with social position, and there was no interaction with time, but increased after joining rams (mounts and mounts with ejaculation:  $P < 0.0001$  and ejaculation/total mounts:  $P < 0.005$ ). Mounts and mounts with ejaculation increased on Day 3 (mounts:  $8.1 \pm 2.2$ ; mounts with ejaculation:  $3.3 \pm 0.4$ ), returned to initial values on Day 6 (mounts:  $4.2 \pm 0.9$ ; mounts with ejaculation:  $1.8 \pm 0.2$ ). Ejaculation/total mounts increased on Day 12 ( $0.7 \pm 0.08$ ), returning to initial values on Day 22 ( $0.6 \pm 0.08$ ). It was concluded that joining unknown adult and yearling rams was stressful, and rams modified similarly their sexual strategy regardless their social position, increasing the mating frequency and decreasing the courtship behaviors.

**Keywords:** social hierarchy, social stress, dominance, sexual behavior, testosterone.

**Palavras-chave:** *hierarquia social, estresse social, dominância, comportamento sexual, testosterona.*

***In vivo* embryo production in Brazilian naturalized goats**  
*Produção in vivo de embriões em cabras brasileiras naturalizadas*

**Jennifer Hauschildt Dias<sup>1,\*</sup>, Gabriel Brun Vergani<sup>2</sup>, Monalisa Sousa Dias Lima<sup>3</sup>,  
Dárcio Ítalo Alves Teixeira<sup>4</sup>, Kleibe de Moraes Silva<sup>5</sup>, Alexandre Weick Uchoa Monteiro<sup>5</sup>,  
Ribrio Ivan Tavares Pereira Batista<sup>6</sup>, Maria Emília Franco Oliveira<sup>2</sup>,  
Joanna Maria Gonçalves Souza-Fabjan<sup>7</sup>, Jeferson Ferreira da Fonseca<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, Brasil; <sup>2</sup>Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal-SP, Brasil;

<sup>3</sup>Universidade do Estado do Ceará, Fortaleza-CE, Brasil; <sup>4</sup>Universidade do Estado do Ceará, Fortaleza-CE, Brasil;

<sup>5</sup>Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral-CE, Brasil; <sup>6</sup>Universidade Federal do Vale do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina-MG, Brasil; <sup>7</sup>Professora adjunta, Universidade Federal Fluminense, Niterói-RJ, Brasil.

\*E-mail: jennifer.hauschildt@gmail.com

Multiple ovulation and embryo transfer (MOET) is one of the most interesting reproductive biotechniques to be used in order to allow a rapid progression in the number of offspring per female. However, it is an underutilized reproductive biotechnology due to the variability of superovulatory response found and the high cost (Baldassare e Karatzas, 2004. *AnimReprod Sci*, 82/83:255-266). Brazilian naturalized breeds have socio-economic regional importance, but there is no studies reporting the effectiveness of *in vivo* embryo production on these animals. Thus, the aim of this study was to assess the efficiency of superovulation and viable embryo yield in Canindé and Moxotó goats raised and managed in different places. From September to October of 2018, 15 Canindé and 15 Moxotó goats were subjected to embryo recovery after a superovulation protocol that consisted of insertion of acetate medroxyprogesterone intravaginal sponge (60 mg of MAP, Progespon<sup>®</sup>, Syntex, Buenos Aires, Argentina), which was maintained for six days. On the MAP sponge insert was administrated i.m. d-cloprostenol (37.5 µg, Prolise<sup>®</sup>, Agener União, Brazil). Superovulatory treatment was initiated 60 h prior to MAP sponge withdrawal, with six decreasing doses (25-25-15-15-10-10%) of p-FSH (133 mg - Folltropin V<sup>®</sup>, Vetoquinol, Brazil) injected i.m. every 12 h. Goats also received three administrations i.m. of flunixin-meglumine (24.9 mg; Banamine<sup>®</sup>, MSD, São Paulo, Brazil) on Days 2, 3 and 4 after MAP sponge withdrawal (D0). Females were monitored for estrous response and naturally mated with fertile male goats. Embryo recovery was performed six days after estrous manifestation, by the transcervical technique (Fonseca et al., 2013. *SmallRuminRes*, 111:96-99). Because of divergent production systems, comparisons between breeds were not recommended and data are presented in a descriptive form. Estrous response rate was 73.3% (11/15) for Canindé and 80% (12/15) for Moxotó goats. The recovery was possible in all Moxotó goats and in 10 Canindé goats, when only one animal was not collected due to vestibular stenosis. The average number of corpora lutea found by breed was 9.6±1.4 and 13.9±1.0 for Canindé and Moxotó goats, respectively. Recovery rates were 35% (37/106) and 53% (88/167) and the embryonic viability rates were 92% (34/37; 18 morulae, 16 blastocyst, one degenerated embryo and two unfertilized eggs) and 89% (78/88; 37 morulae, 39 blastocyst, two eight cell embryos and ten unfertilized eggs) for Canindé and Moxotó goats, respectively. The recovery rate is according to other studies using the same technique (Fonseca et al., 2016. *Theriogenology*, 86:144-151). It is concluded that the *in vivo* embryo production is feasible in Brazilian naturalized goat breeds. Because of MOET protocol was developed in dairy goats, further studies considering breed special related features should be done to improve embryo yield and recovery, specially in the Canindé breed.

Financial support: Embrapa (02.13.06.026.00.04) and Fapemig (CVZ-PPM 00201-17).

**Keywords:** embryo recovery, goats, PIV.

**Palavras-chave:** caprinos, recuperação de embriões, PIV.



## **Doses basais de GnRH determinam aumento das glândulas vesiculares em carneiros da raça Santa Inês**

*Basal doses of GnRH determine increase of vesicular glands in Santa Inês sheep*

**Caroline Gomes do Espírito Santo<sup>1,\*</sup>, Mario Felipe Alvarez Balaro<sup>1</sup>,  
Juliana Dantas Rodrigues Santos<sup>1</sup>, Augusto Ryonosuke Taira<sup>1</sup>,  
Vanessa Moreira Barbosa dos Santos<sup>1</sup>, Fernanda Martins Gonçalves<sup>1</sup>,  
Lucas de Figueiredo Cardoso Barbosa<sup>1</sup>, Rodolfo Ungerfeld<sup>2</sup>, Felipe Zandonadi Brandão<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense, UFF, Niterói, RJ, Brasil; <sup>2</sup>Facultad de Veterinaria de la Universidad de la Republica, Montevideo, Uruguay.

\*E-mail: carolinegomes@id.uff.br

A ultrassonografia (US) é um recurso bastante utilizado em fêmeas ovinas para acompanhar o efeito das biotécnicas reprodutivas sobre o trato genital. Todavia, o uso da US visando o acompanhamento do trato genital masculino, sobre o efeito de biotécnicas reprodutivas, ainda é insipiente. Assim, este estudo objetivou verificar se a administração de GnRH em baixas doses por um período de 21 dias influenciaria o tamanho e desenvolvimento das glândulas sexuais acessórias e testículos de carneiros jovens. Foram utilizados quinze carneiros da raça Santa Inês, divididos em dois grupos randomizados. No grupo tratamento ( $G_{\text{GnRH}}$ ;  $n=8$ ), os animais receberam quatro doses diárias de 2,5 µg de acetato de busserelina (Sincroforte®; Ourofino Saúde Animal Ltda, São Paulo, Brasil) durante 21 dias, por via intramuscular (i.m.). No grupo controle ( $G_{\text{controle}}$ ;  $n=7$ ), os animais receberam salina i.m. nos mesmos tempos. Foi realizada a biometria das glândulas vesiculares (área e média da altura e comprimento), prostática (média da altura em três pontos distintos) e bulbouretrais (área e diâmetro), por US modo-B transretal (Frequência 7,5 MHz; profundidade 5 cm). Já os testículos foram avaliados quanto à altura, largura e profundidade, pela via transcutânea (Frequência 7,5 MHz; profundidade 7 cm). Foram realizadas, um total de cinco avaliações, sendo elas: imediatamente antes da aplicação hormonal (T0), semanalmente (T1, T2 e T3) e uma semana após o término (T4). Os dados foram avaliados pela ANOVA para medidas pareadas e pelo Teste de Tukey ( $CV \leq 30\%$  -  $P < 0,05$ ). A área das glândulas vesiculares diferiu entre tratamentos ( $G_{\text{controle}}$ :  $302,5 \pm 81,1$  mm vs.  $G_{\text{GnRH}}$ :  $343,0 \pm 89,1$ mm), assim como a média de altura pelo comprimento ( $G_{\text{controle}}$ :  $21,5 \pm 3,1$  mm vs.  $G_{\text{GnRH}}$ :  $22,9 \pm 3,0$  mm) correspondendo a única glândula que sofreu efeito das aplicações de GnRH. Apenas foi encontrado efeito de tempo quanto às glândulas prostática e bulbouretrais. Já para os testículos não houve nenhum efeito (tempo e tratamento). Com relação as glândulas vesiculares, tal achado pode ser associado à sua função na reprodução de carneiros, que é diretamente influenciada por andrógenos, sua secreção corresponde a cerca de 75% da composição seminal e é rica em nutrientes que afetam diretamente a função espermática. Em conclusão, o uso do GnRH em baixas doses por 21 dias determinou aumento das glândulas vesiculares que podem proporcionar melhoria na qualidade seminal.

**Palavras chave:** ultrassonografia, glândulas acessórias, testículos, biometria.

**Keywords:** *ultrasonography, accessory glands, testicles, biometry.*

## Second step for non-surgical embryo transfer in sheep: Cervical transposing in diestrus nulliparous and pluriparous ewes

*Segundo passo para a transferência não cirúrgica de embriões em ovelhas: Transposição cervical em ovelhas nulíparas e plúriparas em diestro*

**Aline Matos Arrais<sup>1,\*</sup>, Marco Roberto Bourg de Mello<sup>2</sup>, Gabriel Brun Vergani<sup>3</sup>, Sergio Novita Esteves<sup>4</sup>, Alexandre Rossetto Garcia<sup>5</sup>, Verônica Schinaider do Amaral Pereira<sup>6</sup>, Lúcia Prellwitz<sup>7</sup>, Maria Emilia Franco Oliveira<sup>8</sup>, Joanna Maria Gonçalves Souza-Fabjan<sup>9</sup>, Jeferson Ferreira da Fonseca<sup>10</sup>**

<sup>1</sup>Doutoranda, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, Brasil; <sup>2</sup>Professor associado, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, Brasil; <sup>3</sup>Mestrando, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal-SP, Brasil; <sup>4,5</sup>Pesquisador, Embrapa, São Carlos, SP, Brasil; <sup>6</sup>Analista, Embrapa, São Carlos, SP, Brasil; <sup>7</sup>Graduanda, Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ, Brasil; <sup>8</sup>Professora substituta, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP, Brasil; <sup>9</sup>Professora adjunta, Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ, Brasil;

<sup>10</sup>Pesquisador, Embrapa, Sobral, CE, Brasil.

\*E-mail: alinematosarraais@yahoo.com.br

Transcervical transposition in sheep cannot be achieved without any cervical relaxation drug (Gusmão et al., 2007, *RevBrasSaúdeProdAn*, 8:1-10). The first step testing the viability of cervical relaxation protocol for transcervical embryo transfer in sheep is to check the effect of these drugs on pregnancy. Although combination of estradiol benzoate and oxytocin did not compromise pregnancy establishment, no attempts of cervical transposition was reported in sheep (Lewis, 2010. *SheepGoatResJ*, 25:21-25). In Brazilian conditions, preliminary study showed that association of hCG with E2-OT association given at expected times for embryo transfer appeared not disturbing pregnancy (Arrais et al., 2018. *AnimRep*, 15:338), but cervical transposition was not tested. Thus, we tested if E2-OT combination can allow efficient relax cervix, the second step before testing transcervical embryo transfer both in pluriparous and for the first time in nulliparous sheep. For this, nulliparous (n = 13) and pluriparous (n = 16) Morada Nova females (mean age = 23.8±1.8 and 48.3± 3.3 months; mean weight = 38.3±1.8 and 40.7± 1.0 and mean body condition score = 3.3±0.1 and 3.3± 0.1, respectively) were subjected to synchronous estrus induction with insertion of intravaginal sponges containing 60 mg of MAP (Progespon<sup>®</sup>, Zoetis, Campinas, São Paulo, Brazil) for 6 days. Sponges were inserted and removed at 7:00 p.m. Twenty-four hours before sponge removal, all sheep received 37.5 µg of d-cloprostenol (Prolise<sup>®</sup>, ARSA SRL, Buenos Aires, Argentina) and 200 IU of eCG (Novormon<sup>®</sup>, Zoetis, São Paulo, Brazil) i.m. Estrus was checked twice a day (every 12 hours) for three days. The ewes received 1 mg of estradiol benzoate (Sincrodio<sup>®</sup>, Ouro Fino, Cravinhos, Brazil) i.m. 16 h and 50 IU oxytocin (Ocitocina Forte<sup>®</sup>, UBCVet, São Paulo, Brazil) i.v. 20 min before the procedure (7 days after estrus onset). The attempt of cervical transposition was performed with the aid of a metal rod for the maximum time of 10 minutes. Qualitative data were analyzed by Fisher's exact test while quantitative data evaluated by one-way ANOVA at 5% significance. The cervical transposition was performed successfully in 82.75% of the females (24/29), being nulliparous 69.23% (9/13) and pluriparous 93.75% (15/16) (P>0.05). The transposition time was 5.9±0.7 and 4.5±0.6 min, and the number of rings of 6.8±0.2 and 7.7±0.4 in lambs and sheep, respectively (P>0.05). These preliminary results show that it is possible to perform cervical relaxation and transposition in nulliparous and pluriparous sheep using estradiol benzoate and oxytocin. Considering the great success observed in the present study, we are ready to do next step – try to test another experimental design including no drug as in goat and finally apply an attempt to transfer embryos to sheep by non-surgical method.

Financial support: Embrapa (02.13.06.026.00.04) and Fapemig (CVZ-PPM 00201-17).

**Keywords:** recipients; small ruminants, non-surgical inoovulation.

**Palavra-chave:** receptoras, pequenos ruminantes, inoovulação não-cirúrgica.



**Alterações dos parâmetros seminais microscópicos de reprodutores ovinos da raça Morada Nova, decorrentes de fatores ambientais estacionais, no município de Mogeiro (PB)**

*Changes in the microscopic seminal parameters of Morada Nova sheep breeders, due to seasonal environmental factors, in the municipality of Mogeiro (PB)*

**Aline Helena Albuquerque da Silva\*, Kamila Giffoni Sales Michiles, Ellen Cordeiro Bento da Silva**

Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE, Brasil.

\*E-mail: linealbuquerque.l@hotmail.com

A ovinocultura é praticada em vários países, sob a influência de diferentes tipos climáticos, sendo no Nordeste brasileiro uma atividade ampla e crescente. Mesmo os ovinos apresentando uma boa adaptação ao sertão nordestino, um dos fatores limitantes para uma produção em larga escala é o clima semiárido predomina. Isso se deve à escassez e má distribuição pluvial, a alimentação dos rebanhos predominantemente à base da vegetação nativa, bem como às precárias condições socioeconômicas e de capacitação técnica dos criadores. Os fatores ambientais interferem diretamente na produtividade espermática dos reprodutores ovinos e na durante a fase reprodutiva, com redução da taxa de fertilidade. Assim, objetivou-se avaliar a interferência das alterações ambientais estacionais sobre os parâmetros seminais microscópicos de ovinos reprodutores da raça Morada Nova, no município de Mogeiro-PB. O experimento foi conduzido em uma propriedade rural, localizada no município de Mogeiro, semiárido paraibano, situada a - 7°17'58" S e -35°28'46 W.Gr., ao longo de um ano. Foram utilizados três carneiros, dos quais foram coletados três ejaculados por animal pelo método da vagina artificial, com intervalo mínimo de 48 horas, nos meses de março, julho e novembro do ano de 2008, totalizando 18 amostras seminais. Os parâmetros seminais avaliados foram a motilidade (0 a 100), o vigor (0 a 5) e o turbilhonamento espermático (0 a 5) em microscópio óptico (100X). Os parâmetros climatológicos analisados foram a precipitação, a temperatura média e a umidade relativa do ar. Tais informações foram retiradas do banco de dados do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), referente às datas de coleta do ano de 2008. Os resultados obtidos foram submetidos ao teste estatístico da ANOVA e teste Tukey, com nível de significância de 5% ( $P < 0,05$ ). Não foi observada diferença estatística ( $P > 0,05$ ) para o turbilhonamento (março:  $4,32 \pm 1,03$ ; julho:  $4,42 \pm 0,67$ ; novembro:  $4,08 \pm 0,70$ ) e vigor (março:  $4,36 \pm 0,67$ ; julho:  $4,21 \pm 0,40$ ; novembro:  $4,00 \pm 0,00$ ) entre os diferentes meses de avaliação. Por outro lado, a motilidade do mês de novembro ( $85,83 \pm 4,69$ ) foi maior ( $P < 0,05$ ) do que a de março ( $76,67 \pm 10,73$ ), sem diferir da de julho ( $82,92 \pm 6,20$ ). Sabe-se que a motilidade espermática é um parâmetro de extrema relevância, diretamente relacionado à taxa de fertilidade do gameta masculino. Entretanto, esta sofre a influência de diferentes fatores ambientais estacionais, com destaque para a temperatura e disponibilidade de alimentos. Apesar de estudos anteriores demonstraram que os espermatozoides ovinos apresentam motilidade mais elevada nos períodos chuvosos e com temperaturas mais baixas, os resultados obtidos evidenciam o oposto. Neste trabalho, a motilidade foi maior no mês de novembro do que no de julho, fato que pode ser associado ao aumento de infestação pelo *Haemonchus contortus* e dermatites escrotais por contato com a vegetação, no período chuvoso, interferindo no estado nutricional dos ovinos e diminuindo a qualidade do sêmen. Conclui-se que as variações ambientais estacionais comprometem a motilidade espermática e, assim, a fertilidade de ovinos.

**Palavras-chave:** ambiente, carneiro, fertilidade, sêmen.

**Keywords:** *environment, sheep, fertility, semen.*

## Efeito da suplementação do ácido linoleico ao diluidor Tris-Gema sobre a atividade mitocondrial em sêmen congelado de ovinos

*Effect of the addition of linoleic acid to the Tris-Gema diluent on mitochondrial activity in frozen semen of sheep*

**Isôlda Márcia Rocha do Nascimento<sup>1,\*</sup>, Jefferson Hallisson Lustosa da Silva<sup>2</sup>,  
Felipe Pereira da Silva Barçante<sup>3</sup>, Yndyra Nayan Teixeira Carvalho Castelo Branco<sup>4</sup>,  
Marlon de Araújo Castelo Branco<sup>5</sup>, Antonio de Sousa Júnior<sup>1</sup>, José Dantas e Silva Neto<sup>6</sup>,  
Marana Poncion Portela Guimarães<sup>6</sup>, José Adalmir Torres de Souza<sup>7</sup>**

<sup>1</sup>Professores de Agropecuária, Universidade Federal do Piauí, PI, Brasil; <sup>2</sup>Pós-Graduando em Ciência Animal, Universidade Federal do Piauí, PI, Brasil; <sup>3</sup>Professor de Zootecnia, Instituto de Ensino Superior Múltiplo, MA, Brasil; <sup>4</sup>Professora de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Piauí, SE, Brasil; <sup>5</sup>Professor de Enfermagem, Faculdade Maurício de Nassau, PI, Brasil; <sup>6</sup>Graduandos de Zootecnia, Instituto de Ensino Superior Múltiplo, MA, Brasil; <sup>7</sup>Professor de Medicina Veterinária, Laboratório de Biotecnologia da Reprodução Animal, Universidade Federal do Piauí, Teresina, PI, Brasil.

\*E-mail: isoldamarcia@ufpi.edu.br

O processo de congelação espermática submete as células a baixas temperaturas, levando alterações bioquímicas irreversíveis aos espermatozoides mais sensíveis. Na atualidade, estudos neste sentido visam suplementar diluidores com substâncias que confirmam maior estabilidade à célula espermática. Assim, objetivou-se avaliar o efeito da suplementação de diferentes concentrações de ácido linoleico conjugado (CLA) ao diluidor Tris-Gema, sobre a atividade mitocondrial em sêmen congelado de ovinos. Para tanto foram utilizados 36 ejaculados provenientes de seis reprodutores ovinos da raça Dorper. Os animais foram submetidos a seis coletas de sêmen, duas vezes por semana, a cada 48 horas, por vagina artificial. Posteriormente, o ejaculado foi avaliado quanto as características físicas imediatas e avaliação morfológica pela técnica da *preparação úmida*. Dos ejaculados obtidos, foi formado um *pool* em cada seção de coleta, que foi fracionado e diluído em meio Tris-Gema com diferentes concentrações de ácido linoleico conjugado (CLA): T1 (0µM de CLA); T2 (0,5 µM de CLA); T3 (5 µM de CLA); T4 (50 µM de CLA). Os tratamentos foram homogeneizados com o auxílio de um processador ultrassônico. O sêmen diluído de cada tratamento foi novamente avaliado quanto às características físicas e, posteriormente, congelado em sistema automatizado em máquina de congelação de sêmen TK-3000. Após 15 dias da congelação, as amostras de sêmen foram descongeladas e submetidas a avaliação da atividade mitocondrial, utilizando o fluorocromo catiônico lipofílico JC-1. Para tanto, uma alíquota de 50µL de sêmen pós-descongelada foi diluída em 150µL de Tris contendo 5µL de JC-1 (0,15mM em DMSO) e incubada por 10 minutos a 38°C. Um total de 200 espermatozoides foi avaliado em microscópio de epifluorescência, com aumento de 1000x, sob óleo de imersão, usando-se filtro de emissão LP 515nm e BP 450-490nm para excitação. As células coradas em laranja na região da peça intermediária foram classificadas com *alto potencial de membrana mitocondrial*, e aquelas coradas em verde, na mesma região, foram classificadas com *baixo potencial mitocondrial*. Não houve diferença entre os tratamentos (T1= 61,75; T2= 59,42; T3= 57,42 e T4= 56,25). Esses resultados foram diferentes de outros estudos onde afirmam que a suplementação de ácido linoleico conjugado ao diluidor melhora a atividade mitocondrial dos espermatozoides criopreservados. Conclui-se que suplementação de ácido linoleico conjugado ao Tris-Gema não melhorou a atividade mitocondrial de espermatozoide após o processo de congelação, nas concentrações utilizadas.

**Palavras-chave:** espermatozoides, atividade mitocondrial, criopreservação, sêmen, ovino.

**Keywords:** *spermatozoids, mitochondrial activity, cryopreservation, semen, sheep.*



## **Sincronização de estro com MAP e eCG ou Synchrovine® em ovelhas Santa Inês criadas sob clima tropical úmido**

*Estrus synchronization with MAP and eCG or Synchrovine® in Santa Inês ewes under tropical humid climate*

**Caio Tacito Gomes Alves<sup>1,\*</sup>, Antônio Jorge Del Rei<sup>2</sup>, Cláudio Coutinho Bartolomeu<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Departamento de Ciências Agrárias e Ambientais, UESC, BA, Brasil; <sup>2</sup>Departamento de Tecnologia Rural Animal, UESB, BA, Brasil; <sup>3</sup>Departamento de Medicina Veterinária, UFRPE, BA, Brasil.

\*Email: ctgalvares@uesc.br

O avanço genético de um rebanho pode ser alcançado utilizando-se biotécnicas de reprodução animal, como a sincronização de estro e IATF. A influência da raça nos resultados de IATF cervical já foi reportada, sinalizando a importância de estudos em raças específicas, a exemplo da Santa Inês, considerada de valor adaptativo e baixa estacionalidade reprodutiva na ovinocultura brasileira, progressivamente presente na formação de rebanhos multiplicadores. Devido à importância técnica e econômica dos tratamentos hormonais, este estudo teve como objetivo avaliar a utilização de diferentes protocolos em ovelhas Santa Inês sob condições de clima tropical úmido. O estudo foi realizado na Estação Experimental Fazenda Almada, UESC, Ilhéus/BA (14°48'S, 39°03'O, precipitação pluviométrica anual média de 1988 mm, temperatura  $23,4 \pm 1,5^\circ\text{C}$  e umidade relativa  $85,4 \pm 4,0\%$ ). Foram utilizadas 83 ovelhas da raça Santa Inês, pluríparas, com idade entre três e quatro anos, peso vivo médio de  $52,20 \pm 4,60$  kg e escore de condição corporal médio de  $3,4 \pm 0,4$  (escala 1-5), além de quatro rufiões vasectomizados para identificação do estro. As ovelhas foram separadas em dois grupos de diferentes protocolos de sincronização do estro; no grupo 1 (Synchrovine®, n=43) foram aplicadas duas doses IM de 125µg de cloprostenol com intervalo de sete dias; no grupo 2 (MAP, n=40) foram inseridas esponjas intravaginais contendo 60mg de acetato de medroxiprogesterona mantidas por nove dias, no sétimo dia foram aplicados IM 125µg de cloprostenol e 200 UI de eCG. A observação do estro ocorreu a partir do fim de cada protocolo por um período de 72 horas, duas vezes ao dia, às 7:00h e 19:00h, com auxílio de carneiros vasectomizados, na proporção de 1:10 fêmeas. Também foram monitorados o intervalo protocolo – estro e distribuição do início do estro. O protocolo MAP proporcionou maior número de ovelhas em estro que o Synchrovine® (97,5% vs. 76,8%, respectivamente,  $P < 0,05$  pelo teste Qui-quadrado). A maioria das ovelhas manifestou estro no intervalo entre 25 e 48 horas após o final do tratamento, independente do protocolo hormonal, sendo 94,0% no grupo Synchrovine® ( $40,9 \pm 9,6\text{h}$ ) e 79,6% no MAP ( $39,4 \pm 11,2$ ), o que se refletiu na semelhança dos intervalos protocolo – estro. No entanto, o número de ovelhas em estro nas primeiras 24 horas foi maior no o protocolo MAP, 15,4% vs 0,0% ( $P < 0,05$ ), o que pode ser justificado pela utilização do eCG, pois sua ação estimulante sobre crescimento folicular contribui para elevação dos níveis séricos de estrógeno. O número de ovelhas que apresentaram estro tardiamente (após 48 h do tratamento) foi similar, 6,0% e 5,0% nos protocolos Synchrovine® e MAP, respectivamente. Os resultados obtidos neste estudo foram semelhantes aos encontrados em estudos com outras raças. Portanto, o Synchrovine® pode ser recomendado para sincronização do estro em ovelhas da raça Santa Inês, visando IATF ou encurtamento e economicidade na estação reprodutiva, uma vez que o tratamento hormonal com prostaglandina apresenta facilidade de aplicação, menor custo, além de ser considerado um método ético, por sua rápida metabolização e por não apresentar riscos de resposta humoral, como ocorre com o uso sucessivo do eCG.

**Palavras-chave:** PGF2-alfa, protocolo hormonal, ovinos.

**Keywords:** hormonal protocol, PGF2-alpha, sheep.



## **Manejo na estação reprodutiva de ovinos para melhoria da prolificidade e taxa de sobrevivência de cordeiros em um rebanho comercial do Rio Grande do Sul**

*Management of the reproductive season of sheep to improve the prolificity and survival rate of lambs in a commercial herd of Rio Grande do Sul*

**Marina Franco<sup>1,\*</sup>, Vanessa de Freitas Dalenogare<sup>2</sup>, José Guilherme do Rego Marcondes<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Universidade Estadual de Londrina, Londrina, PR, Brasil; <sup>2</sup>Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. <sup>3</sup>Centro Universitário Filadélfia, Londrina, PR, Brasil.

\*E-mail: mafranco11@hotmail.com

No período de julho a setembro de 2018, foi realizado o acompanhamento do manejo de pré-parto, parto e pós-parto de ovelhas em uma propriedade destinada à produção de ovinos, no município de Encruzilhada do Sul-RS. Na estação reprodutiva de 2018, 226 ovelhas foram selecionadas para o encarceiradas no período entre 19 fevereiro e 08 de abril, seguindo os protocolos sanitários de vacinação e vermifugação. Durante os meses de fevereiro e março as matrizes receberam flushing alimentar, ficando em piquetes com pastagens de Aruana e Campo Nativo, com o intuito de melhorar o escore corporal, aumentar as taxas de ovulação e, conseqüentemente, aumentar a prolificidade do rebanho. O manejo reprodutivo foi realizado por meio da monta natural, utilizando matrizes mestiças da raça Texel, e machos reprodutores PO da raça Texel, sendo 1 macho para 80 matrizes, divididos em 3 ciclos. Ao final da estação reprodutiva foram diagnosticadas 160 matrizes prenhes, das quais nasceram 185 cordeiros, sendo 23 partos gemelares. Obtendo-se uma taxa de sobrevivência de cordeiros de 91,44% e, conseqüentemente, taxa de mortalidade de 7,56%. Esta taxa representa 14 animais, sendo 7 casos de natimortalidade, 4 de perimortalidade, 2 de mumificação fetal e 1 de espinha bífida. É importante ressaltar que na literatura são descritas taxas de mortalidade em torno de 15%, portanto a propriedade acompanhada possui um índice de destaque, sendo o resultado do manejo geral de qualidade, desde o período anterior à estação de monta até o desmame. Dentre os cuidados especiais implantados, pode-se enfatizar o diagnóstico de gestação por ultrassonografia transabdominal realizado no 30º dia após a identificação de cobertura, realização de escriturações zootécnicas com dados da data de cobertura, planejamento de data de parto, separação das ovelhas prenhes das demais e monitoramento diário. As matrizes com gestação gemelar, logo após o diagnóstico de gestação e as matrizes de gestação simples com 15 dias antes da data prevista de parto foram levadas para um campo nativo associado com Azevém INIA CAMARO e Cornichão SÃO GABRIEL. Em 15 de julho iniciaram-se as rondas diurnas e noturnas, devido à proximidade da data de início da parição, com a finalidade de identificar ovelhas em trabalho de parto. O primeiro parto da estação 2018, ocorreu no dia 19 de julho e o último parto no dia 06 de setembro, sendo observado uma maior ocorrência de partos no intervalo entre às 5:00 da manhã às 17:30 da tarde. Após o parto, todas as ovelhas foram levadas até o galpão, que possui baias individuais e piso antiderrapante. Nesse local eram realizadas a mumificação umbilical do cordeiro com iodo 10%, identificação com brinco com numeração e cor para diferenciação do sexo, pesagem e escrituração zootécnica. As matrizes recebiam identificação como paridas de parto simples ou gemelar, escrituração zootécnica de escore de condição corporal, de habilidade materna e de úbere, ambos variando de 1 a 5. Passadas 12 horas de observação no galpão de parição, eram soltos no piquete maternidade. Aos 30 dias de nascidos os cordeiros eram vacinados contra clostridiose, vermifugados, e a cada 30 dias eram feitas pesagens de cordeiros e matrizes até o desmame. O cuidado intenso com as matrizes e os cordeiros desde o período anterior ao nascimento até o desmame, contribuiu para que a taxa de mortalidade dessa propriedade ficasse significativamente abaixo do que costuma ser relatado na literatura.

**Palavras-chave:** pequenos ruminantes, prenhez, reprodução, taxa de mortalidade.

**Keywords:** mortality rate, pregnancy, reproduction, small ruminants.



**Is the vascularization percentage of the corpora lutea during the initial luteal phase affected by the dose of pFSH used in the superovulatory treatment of sheep?**

*O percentual de vascularização de corpos lúteos durante a fase luteal inicial é afetado pela dose de pFSH usada no tratamento superovulatório de ovelhas?*

**Júlia Ribeiro Bevilaqua<sup>1,\*</sup>, Heloisa Coelho Ferreira<sup>1</sup>, Gabriel Brun Vergani<sup>1</sup>,  
Maria Amélia Ferrão Pupin<sup>1</sup>, Giovanna Serpa Maciel<sup>1</sup>, Mariana Garcia Kako Rodriguez<sup>1</sup>,  
Naiara Nantes Rodrigues<sup>1</sup>, Jeferson Ferreira da Fonseca<sup>2</sup>, Maria Emília Franco de Oliveira<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>FCAV/UNESP, Jaboticabal, SP, Brazil; <sup>2</sup>Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral, CE, Brazil.

\*E-mail: bevilaquaju@hotmail.com

The in vivo production of embryos is used to accelerate the multiplication of the herds, but the efficiency of this biotechnology is widely variable in small ruminants. The variability of the superovulatory responses and the production of viable embryos has been related to several factors, including the dose of gonadotrophin used in the hormonal treatment of superovulation, and the occurrence of prematurely regressing corpora lutea. In this context, the present study was performed to evaluate the effect of different doses of pFSH on the superovulatory response and vascularization percentage of the corpora lutea (CLs) formed. Twenty-seven Santa Inês ewes (35-45kg of body weight and 2-3 years old) were submitted to synchronization protocol with intravaginal progesterone device (CIDR®) for nine days. On Day 0 and 8 were injected i.m. d-cloprostenol (37.5 µg, Prolise®). The superovulatory treatment started on Day 6 and consisted in eight decreasing injections (20, 20, 15, 15, 10, 10, 5 and 5%) with 12-hr intervals in total doses of 100 (G100), 133 (G133) or 200 mg (G200) of pFSH (Folltropin V®) (n=9/total dose). On Day 6, ewes also received 300 IU of eCG i.m. (Novormon®). Ultrasonographic (B-mode and Color Doppler) evaluations of the corpora lutea formed were daily conducted during the period corresponding to the initial luteal phase (Day 11 to 15). At the corresponding day of embryo collection, the superovulatory response (total number of CLs, number of normal (health) CLs, and number of regressing CLs) were evaluated by videolaparoscopy. The ultrasound images were assessment using specific software (Adobe FireWorks® CS6 and Image J®) to calculate the vascularization percentage of the CLs. Data were compared using the Tukey test ( $P < 0.05$ ). The superovulatory response (number of total CLs, normal CLs and regressing CLs) did not differ between groups (G100:13.8 ± 1.8, 11.1 ± 2.8 and 2.7 ± 1.7; G133: 8.7 ± 1.1, 8.6 ± 1.3 and 1.7 ± 1.1; and G200: 14.2 ± 2.4, 8.4 ± 3.2 and 6.8 ± 3.2, respectively). However, the vascularization percentage of the CLs was higher ( $P < 0.0001$ ) in G200 (62.4 ± 0.005%) than G100 (57.1 ± 0.006%) and G133 (59.2 ± 0.008%). In conclusion, the vascularization percentage of the corpora lutea during the initial luteal phase is affected by the dose of pFSH used in the superovulatory treatment of sheep. Despite this, the superovulatory response does not differ between doses of pFSH. Further studies are needed to determine the relationship between the vascularization percentage of the corpora lutea and its functionality. Financial support: FAPESP (n° 2017/04193-9).

**Keywords:** superovulation, vascularization, ultrasound, corpora lutea.

**Palavras-chave:** superovulação, vascularização, ultrassom, corpo lúteo.

**Avaliação técnica reversível de rufião em ovinos (*Ovis aires*)**  
*Reversible technical evaluation of ruffian in sheep (*Ovis aires*)*

**Mirela Balistrieri Dias<sup>1,\*</sup>, Marina Galindo Chenard<sup>2</sup>, Vivian de Assunção Nogueira Carvalho<sup>4</sup>,  
Alline Ferreira Brasil<sup>5</sup>, Isabelle Magalhães da Cunha<sup>2</sup>, Saulo Andrade Caldas<sup>4</sup>,  
Fernando Elísio Amaral Torres<sup>5</sup>, Michel José Sales Abdalla Helayel<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Graduanda de Medicina Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ, Brasil; <sup>2</sup>Mestrandas do Programa de Pós Graduação em Medicina Veterinária (Clínica e Reprodução Animal), Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ, Brasil; <sup>3</sup>Professor do curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ, Brasil; <sup>4</sup>Professores do curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, Brasil; <sup>5</sup>Professores do curso de Medicina Veterinária, Universidade Estácio de Sá, Rio de Janeiro, RJ.

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

O uso de rufiões em ovinos é essencial para a detecção do estro e permitir a aceleração da puberdade, diminuição do anestro pós-parto, manifestação de cio prolongada e sincronização da ovulação. A técnica ideal de preparo de rufião deve ter maior durabilidade, fácil realização, baixo custo e segurança para não fecundação das fêmeas. O trabalho tem como objetivo avaliar viabilidade e eficácia de duas técnicas reversíveis de preparo de rufião e compará-las segundo suas funcionalidades, durabilidades e possíveis complicações. O estudo foi aprovado no CEUA sob número 23101. 001708/2015-62 e realizado no Setor de Caprinos e Ovinos da Universidade Federal do Tocantins (UFT), no período de maio a agosto de 2015. Foram utilizados 12 ovinos (*Ovis aires*), mestiços, entre 14 e 20 meses de idade, clinicamente saudáveis. Os animais foram divididos em 2 grupos submetidos à técnica de obstrução parcial do prepúcio com abraçadeira plástica: G1 na região distal do óstio prepucial e G2 na região cranial à flexura sigmoide. Após a anestesia local, foi introduzido um gabarito de silicone no prepúcio, afastando a prega prepucial da parede abdominal para inserção do trocarte. A prega prepucial foi transpassada de lado a lado com o trocarte (G1 na região distal do óstio prepucial e G2 na região cranial à flexura sigmoide), passou-se a abraçadeira plástica, fixou-se na extremidade de sua cânula e fechou-a, provocando estenose do prepúcio com diâmetro pré-estabelecido pelo gabarito. Ambos os procedimentos foram realizados em condições adequadas de antissepsia, jejum, anestesia local e antibiótico-profilaxia. Realizou-se coletas de sangue dos animais antes do procedimento (tempo 0) e, 48 e 96 horas após procedimento para realização de hemograma, dosagem de proteínas plasmáticas totais e de fibrinogênio. Imediatamente após a cirurgia, os rufiões receberam um bucal marcador e foram alocados em piquetes, contendo 40 fêmeas por três meses sob observação visual. Verificou-se que, neste período, não houve formação de aderência, lesões ou complicações nos locais de colocação do lacre. Os rufiões mantiveram a capacidade de identificar e subir nas fêmeas em estro, garantindo boa aplicabilidade do método para detecção do cio, sendo mais eficaz do que as técnicas convencionais de rufião que exigem período de recuperação longo, alto risco de complicações e por vezes afetam a libido. Após os três meses de estação de monta a abraçadeira plástica foi retirada, e os animais mantiveram a capacidade de exteriorizar o pênis, não foi identificada presença de lesões e/ou aderências no local de colocação do lacre. Todos voltaram a cobrir as fêmeas, indicando a manutenção da libido, corroborando com outras técnicas reversíveis que permitem o retorno do potencial reprodutivo do animal. Os índices hematológicos se mantiveram dentro da normalidade, o que indica baixa agressão tecidual. Portanto, ambas as técnicas foram eficazes, pois mantiveram a libido, permitiram a detecção das fêmeas em estro, ofereceram baixo risco de complicações, foram economicamente viáveis, seguras e apresentaram reversibilidade.

**Palavras-chave:** estro, prepúcio, detecção, cio, libido.

**Key words:** estrus, foreskin, detection, cio, libido.

## **Efeito da suplementação do ácido linoleico ao diluidor Tris-Gema sobre a termorresistência em sêmen descongelado de ovino**

*Effect of the addition of linoleic acid to the Tris-Gema diluent on thermoresistance in thawed semen of sheep*

**José Adalmir Torres de Souza<sup>1,\*</sup>, Jefferson Hallisson Lustosa da Silva<sup>2</sup>, Felipe Pereira da Silva Barçante<sup>3</sup>, Yndyra Nayan Teixeira Carvalho Castelo Branco<sup>4</sup>, Marlon de Araújo Castelo Branco<sup>5</sup>, Antonio de Sousa Júnior<sup>6</sup>, José Dantas e Silva Neto<sup>7</sup>, Marana Poncion Portela Guimarães<sup>7</sup>, Isôlda Márcia Rocha do Nascimento<sup>6</sup>**

<sup>1</sup>Professor de Medicina Veterinária, Laboratório de Biotecnologia da Reprodução Animal, Universidade Federal do Piauí, PI, Brasil; <sup>2</sup>Médico Veterinário, Universidade Federal do Piauí, PI, Brasil; <sup>3</sup>Professor de Zootecnia, Instituto de Ensino Superior Múltiplo, MA, Brasil; <sup>4</sup>Professora de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Piauí, SE, Brasil; <sup>5</sup>Professor de Enfermagem, Faculdade Maurício de Nassau, PI, Brasil; <sup>6</sup>Professores de Agropecuária, Universidade Federal do Piauí, PI, Brasil; <sup>7</sup>Zootecnista, Instituto de Ensino Superior Múltiplo, MA, Brasil.

\*E-mail: adalmir@ufpi.edu.br

Os processos de congelamento e descongelamento do sêmen induzem danos bioquímicos, funcionais e ultra-estruturais aos espermatozoides, resultando em redução da motilidade e vigor espermático. Estudos apontam que a utilização de ácidos graxos confere proteção aos espermatozoides contra choques térmicos e manutenção da motilidade e vigor espermática. Assim, objetivou-se avaliar o efeito da suplementação com diferentes concentrações de ácido linoleico conjugado (CLA) ao diluidor Tris-Gema sobre a termorresistência em sêmen descongelado de ovino. Para tanto, foram utilizados 36 ejaculados provenientes de seis reprodutores ovinos da raça Dorper. Os animais foram submetidos a seis coletas de sêmen, a cada 48 horas, por vagina artificial. Posteriormente, o ejaculado foi avaliado quanto as características físicas imediatas e avaliação morfológica pela técnica da *preparação úmida*. Dos ejaculados obtidos, foi formado um *pool* em cada seção de coleta, que foi fracionado para diluição em meio Tris-Gema com diferentes concentrações de ácido linoleico conjugado (CLA): T1 (0 $\mu$ M de CLA); T2 (0,5  $\mu$ M de CLA); T3 (5  $\mu$ M de CLA); T4 (50  $\mu$ M de CLA). Os tratamentos foram homogeneizados com o auxílio de um processador ultrassônico. O *pool* de sêmen diluído de cada tratamento foi novamente avaliado quanto às características físicas e, posteriormente, congelado em sistema automatizado em máquina de congelamento de sêmen TK-3000. Após 15 dias da congelamento, as amostras de sêmen foram descongeladas e submetidas ao teste de termorresistência. As amostras foram descongeladas, acondicionadas em microtubos de 1,5 mL e incubadas a 37°C e, posteriormente, avaliadas quanto à motilidade total e o vigor espermático, por meio de microscopia de contraste de fase com placa aquecedora acoplada, com aumento de 400x, nos tempos 0, 60, 120 e 180 minutos pós-descongelamento. Houve diferença significativa entre os tratamentos, nas variáveis motilidade e vigor, respectivamente (T1= 3,54 e 2,29; T2=29,58 e 2,17; T3= 21,67 e 1,92 e T4= 15,42 e 1,67), com o T1 e T2 apresentando melhores resultados sobre essas duas características na comparação de médias pelo teste de Tuckey a 5%, no tempo de 180 minutos. Esses resultados corroboram com outros estudos onde afirmam que a suplementação com ácido linoleico conjugado ao diluidor melhora a longevidade do espermatozoide, pois confere uma maior proteção durante o processo de congelamento. Conclui-se que suplementação de 0,5  $\mu$ M de ácido linoleico conjugada ao Tris-Gema melhorou a motilidade e o vigor, após o processo de congelamento.

**Palavras-chave:** espermatozoides, criopreservação, longevidade espermática.

**Keywords:** sperm, cryopreservation, sperm longevity.



## **Doppler colorido no 17º dia pós cobertura em ovelhas é efetivo para detectar fêmeas não gestantes**

*Colour doppler in the 17th day post-mating in sheep is effective to detect non-pregnant females*

**Izadora Zanetti Monico<sup>1</sup>, Kairan Rodrigues Trindade<sup>1</sup>, João Vitor Pagoto Careta<sup>1</sup>,  
Renato Favarato<sup>1</sup>, Amanda Ribeiro Collati<sup>1</sup>, Nilson Nunes Morais Junior<sup>2</sup>,  
Renato Travassos Beltrame<sup>3,\*</sup>**

<sup>1</sup>Graduandos do Curso de Medicina Veterinária, Centro Universitário do Espírito Santo - UNESC, Colatina, ES, Brasil; <sup>2</sup>Instituto Federal do Espírito Santo (IFES), Colatina, ES, Brasil; <sup>3</sup>Professor do curso de Medicina Veterinária, Centro Universitário do Espírito Santo - UNESC, Colatina - ES, Brasil.

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

O diagnóstico precoce de ovelhas não gestantes após inseminação artificial ou monta é de grande importância para eficiência reprodutiva da fazenda. Objetivou-se analisar a funcionalidade do corpo lúteo (CL) e verificar a eficácia de diagnóstico negativo de gestação, utilizando a ultrassonografia Doppler transretal. Quinze fêmeas da raça Santa Inês, foram cobertas por monta controlada, utilizando-se três machos sabidamente férteis. As fêmeas foram sincronizadas mediante inserção de esponja vaginal impregnada com 60 mg de medroxiprogesterona (MAP Progespon<sup>®</sup>, Intervet / Schering-Plough) em um dia aleatório do ciclo estral, considerado como dia (D)0. No D6 pela manhã, foram retiradas as esponjas e administrado por via intramuscular (IM) 37.5 µg de D-cloprostenol (0.5 mL Prolise<sup>®</sup>) e 333 UI de eCG (Novormon<sup>®</sup>). Os ovários foram avaliados por ultrassonografia Doppler colorido nos dias 14 e 17 pós-cobertura, sendo pontuada a vascularização do CL subjetivamente por escore (1 a 4) ou estimativa do percentual de vascularização (0-100%), por dois avaliadores. Definiu-se a presença do CL com nota menor que 2 ou 25%, após avaliado os dois ovários, como ovelha não gestante. As configurações do *Doppler* foram padronizadas e utilizadas durante toda pesquisa foram frequência do transdutor 7.5 MHz, frequência de repetição de pulso [PRF]: 1.0 KHz e filtro de parede [WF]: 171KHz. O diagnóstico de gestação foi realizado aos 21 dias e confirmado aos 60 dias pós-cobertura por ultrassonografia Modo B. Os achados do D60 foram comparados com o diagnóstico precoce, classificando cada animal como verdadeiro positivo (VP), verdadeiro negativo (VN), falso positivo (FP), falso negativo (FN), determinando-se para cada dia a sensibilidade (SENS), especificidade (ESP), valor preditivo positivo (VPP), valor preditivo negativo (VPN) e acurácia (ACC) da técnica. A avaliação subjetiva da vascularização do CL utilizando a ultrassonografia *Doppler* não foi eficiente para diagnosticar ovelhas não gestantes aos 14 dias após cobertura (FP=4; ACC 73.3%). No D17, o desempenho da avaliação mostrou maior eficiência sendo possível realizar diagnóstico de fêmeas negativas (SENS 100%, ESP 50%, VPP 84.6%, VPN 100% e ACC de 86.6%). Tomada de decisão frente aos valores apresentados devem estar atreladas ao impacto econômico frente a mudança de manejo, resincronização e ainda descarte. Deve-se considerar como inerente a técnica eficácia inferior a 100% para identificar ovelhas gestantes em decorrência de luteólise tardia e reabsorção. A ultrassonografia *Doppler* aos 17 dias após cobertura sugere que diagnóstico pode ser realizado para tomada de decisão em relação a ovelhas não gestantes.

**Palavras-chave:** fluxo sanguíneo luteal, luteólise, resincronização, ultrassonografia Doppler.

**Keywords:** luteal blood flow, luteolysis, resynchronization, Doppler ultrasonography.



## O muco cervical não é eficiente em predizer o momento da ovulação em ovelhas Santa Inês sincronizadas ao estro

*Cervical mucus is not efficient to predict the ovulation time in of Santa Ines ewes synchronized to estrus*

**Cleber Jonas Carvalho de Paula<sup>1,\*</sup>, Viviane Lopes Brair<sup>1</sup>, Lucia Prellwitz<sup>3</sup>, Dafne dos Santos Silva<sup>2</sup>, Ana Paula Pereira Schmidt<sup>1</sup>, Gabriel Brum Vergani<sup>4</sup>, Letícia Pereira Alcatraz de Andrade<sup>5</sup>, Rodrigo Oliveira Cunha<sup>6</sup>, Joanna Maria Gonçalves Souza-Fabjan<sup>7</sup>, Jeferson Ferreira da Fonseca<sup>8</sup>**

<sup>1</sup>Mestrando em Medicina Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói-RJ, Brasil; <sup>2</sup>Graduanda em Medicina Veterinária na Universidade do Grande Rio, Duque de Caxias-RJ, Brasil; <sup>3</sup>Graduanda em Medicina Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói-RJ, Brasil; <sup>4</sup>Mestrando em medicina veterinária na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal-SP, Brasil; <sup>5</sup>Graduanda no Instituto de Biologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro-RJ, Brasil; <sup>6</sup>Graduado em Medicina Veterinária pela Universidade do Grande Rio, Duque de Caxias-RJ, <sup>7</sup>Professora adjunta, Universidade Federal Fluminense, Niterói-RJ, Brasil; <sup>8</sup>Pesquisador, Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral-CE, Brasil.

\*E-mail: jonascarvalho17@hotmail.com

In goats, it has been demonstrated that cervical mucus evaluation is able to predict the time of ovulation after estrous hormonal synchronization, which is efficient in determining the ideal time of Artificial Insemination (Fonseca et al., 2017. *Reprod Biol*; 17:363-369). However, in sheep, this parameter is not established in the literature. The study was conducted in Coronel Pacheco (latitude 21°33' S and longitude 43°16' W), MG, Brazil. Eleven pluriparous crossbred ewes averaging three years old, raised under intensive system were used. Body weight was on average  $53 \pm 10$  kg, and body condition (1-5 scale) was  $3.2 \pm 0.6$ . All animals received a progesterone releasing device containing 0.3 g progesterone (Eazi-Breed CIDR<sup>®</sup>, Pfizer Animal Health, São Paulo, Brazil) for six days, and 24 h before its removal, 30 µg d-cloprostenol (Prolise<sup>®</sup>, Syntex, Buenos Aires, Argentina) and 200 IU eCG (Novormon<sup>®</sup> 5000, Syntex) i.m. were administered. After device removal, every 12 h until detection of ovulation, estrus was monitored with the use of rams; cervical mucus by the use of Collin speculum, and follicular dynamic by ultrasonography. Cervical mucus was classified as: 0) without cervical mucus; 1) Crystalline, mucus completely translucent, 2) Crystalline/Striated, mucus presents some opacity but not stretch marks; 3) Striated, evident stretch marks within crystalline areas; 4) Striated/Caseous, stretch marks coalesce and no visible translucent areas; and 5) Caseous, mucus appears a caseous mass with evident flocculation. The frequency of different mucus, ranging from 0 to 5 was respectively: 60 h (91; 9; 0; 0; 0 and 0%); 48 h (27; 55; 18; 0; 0 and 0%); 36 h (9; 27; 64; 0; 0 and 0%); 24 h (0; 18; 73; 9; 0 and 0%); 12 h before (0; 9; 36; 45; 9 and 0%) and at ovulation (0; 0; 27; 36; 36 and 0%). It is important to highlight that at 12 h before ovulation, ewes presented scores between 1 and 4, and at the time of ovulation, scores from 2 to 4, not being precise to determine the time of ovulation. These data are different from that reported in goats, i.e., the standardization of mucus score 3 or 4 at the time of ovulation. It may be concluded that the use of cervical mucus is alone not an efficient parameter to detect the time of ovulation in sheep.

Financial support: Embrapa (02.13.06.026.00.04) and Fapemig (CVZ-PPM 00201-17).

**Keywords:** Artificial Insemination, ultrasonography, follicular dynamics.

**Palavras-chave:** Inseminação Artificial, ultrassonografia, dinâmica folicular.

## Avaliação subjetiva do corpo lúteo no diagnóstico de gestação em ovelhas

*Subjective evaluation of corpus luteum to pregnancy diagnosis in ewes*

**Maruza Feriguetti Erler<sup>1</sup>, Izadora Zanetti Mônico<sup>1</sup>, Rabeche Schmith<sup>1</sup>, Nayara Oliveira Perim<sup>1</sup>,  
Emílio Padovani Neto<sup>1</sup>, José Eduardo de Brito Souza, Ana Clara Malegoni<sup>1</sup>, Nilson Nunes Morais  
Junior<sup>2</sup>, Renato Travassos Beltrame<sup>3,\*</sup>**

<sup>1</sup>Graduandos do Curso de Medicina Veterinária, Centro Universitário do Espírito Santo - UNESC, Colatina, ES, Brasil; <sup>2</sup>Instituto Federal do Espírito Santo (IFES), Colatina, ES, Brasil; <sup>3</sup>Professor do curso de Medicina Veterinária, Centro Universitário do Espírito Santo, UNESC, Colatina, ES, Brasil.

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

A otimização do desempenho reprodutivo em ruminantes é dependente de diagnóstico gestacional acurado. A ultrassonografia *Doppler* tem sido estudada como uma ferramenta prática na elucidação da dinâmica folicular e luteínica em animais de produção. Objetivou-se avaliar a eficácia da avaliação subjetiva da vascularização do corpo lúteo (CL) utilizando a ultrassonografia Doppler colorida por via transretal, para diagnóstico de gestação. Foram utilizadas 28 ovelhas não gestantes da raça Santa Inês, com peso corporal médio de 52.6 kg, mantidas em pastagem de *Panicum maximum* cv. Aruana, e suplementadas com silagem e concentrado a base de milho. Água e sal mineralizado foram fornecidos *ad libitum*. As fêmeas foram sincronizadas mediante dispositivo intravaginal contendo 0.36 g de progesterona (Primer<sup>®</sup>; Agener União - Brasil), em um dia aleatório do ciclo estral, considerado como dia D(0). No dia D(6), pela manhã os dispositivos foram retirados, e administrado por via IM, 2.5 mg de dinoprost (0.5 ml Lutalyse<sup>®</sup>) e 333 UI de eCG (Novormon<sup>®</sup>). As ovelhas foram inseminadas por via laparoscópica com sêmen congelado no D8, (54-60hs após retirada do dispositivo). Os ovários foram avaliados por ultrassonografia *Doppler* colorida (Z6 Vet, Mindray<sup>®</sup>) entre os dias 14 e 17 após inseminação. As configurações do *Doppler* padronizadas e utilizadas durante toda pesquisa foram frequência do transdutor de 7.5 MHz, frequência de repetição de pulso [PRF]: 1.0 KHz, filtro de parede [WF]: 171KHz. A vascularização do CL foi definida subjetivamente por escore (1 a 4) ou pela estimativa do percentual de vascularização (0-100%), definindo-se a presença de um CL com nota maior ou igual a 2 ou 25% no ovário como ovelha gestante. O diagnóstico efetuado aos 60 dias por ultrassonografia Modo B foi comparado com o diagnóstico precoce, classificando cada animal como verdadeiro positivo (VP), verdadeiro negativo (VN), falso positivo (FP), falso negativo (FN), determinando-se para cada dia a sensibilidade (SENS), especificidade (ESP), valor preditivo positivo (VPP), valor preditivo negativo (VPN) e acurácia (ACC) da técnica. O diagnóstico efetuado aos 14 e 15 dias não se mostrou eficiente (D15 - SENS 50% e ACC de 39,2%). Embora não se tenha utilizado o critério de tamanho do CL, resultados para avaliação subjetiva da vascularização do CL nos dias 16 e 17 foram similares em relação a SENS (100%) e VPN (100%) exibindo que já no D16 é possível identificar as fêmeas FN. Valores de ESP (65.2%) e ACC (71.4%) foram maiores no D17 em comparação aos demais dias. Neste mesmo dia o VPP foi de 38.4%. Embora perdas embrionárias e ciclos longos possam ser detectados entre 18 e 45 dias de gestação, os resultados sugerem que o Doppler é uma acurada ferramenta para diagnóstico de fêmeas não gestantes de maneira precoce, visto que no D16 existe uma pequena possibilidade de ocorrência de falso negativo.

**Palavras-chave:** fluxo sanguíneo luteal, luteólise, resincronização, ultrassonografia Doppler.

**Keywords:** luteal blood flow, luteolysis, resynchronization, Doppler ultrasonography.



## **Avaliação da integridade de membrana plasmática e acrossomal de espermatozoides ovinos criopreservados com ou sem o plasma seminal**

*Evaluation of plasma and acrosomal membrane integrity of ovine spermatozoa cryopreserved with or without seminal plasma*

**Lucas Dalle Laste Dacampo<sup>1,\*</sup>, Jéssica Ferreira Rodrigues<sup>1</sup>, Gabriel Maggi<sup>2</sup>,  
Lucio Pereira Rauber<sup>3</sup>, Andressa Pereira de Souza<sup>3</sup>, Mariana Groke Marques<sup>4</sup>,  
Francielli Weber Santos Cibin<sup>5</sup>, Daniela Dos Santos Brum<sup>5</sup>**

<sup>1</sup>Mestrandos do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal do Pampa, Uruguaiana, RS, Brasil; <sup>2</sup>Graduando do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Pampa, Uruguaiana, RS, Brasil; <sup>3</sup>Professores do Curso de Medicina Veterinária, Instituto Federal Catarinense, Concórdia, SC, Brasil; <sup>4</sup>Pesquisadora da EMBRAPA Suínos e Aves, Concórdia, SC, Brasil; <sup>5</sup>Professores do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Pampa, Uruguaiana, RS, Brasil.

\*E-mail: lucasdacampo@hotmail.com

Na maioria das espécies domésticas a criopreservação do sêmen causa danos irreversíveis aos espermatozoides. Em ovinos mais da metade dos espermatozoides são danificados ou mortos pelo processo de congelamento. Diante disso, são necessárias algumas alternativas para diminuir as injúrias a essas células, como a retirada do plasma seminal, que já é uma prática comum em outras espécies. Nosso objetivo foi avaliar a integridade de membrana plasmática e acrossomal dos espermatozoides criopreservados na presença ou não do plasma seminal. As amostras de sêmen foram coletadas de quatro carneiros pelo método de vagina artificial. As amostras foram analisadas de maneira subjetiva quanto a cinética. Um “pool” foi formado com o sêmen dos quatro carneiros e dividido em três grupos, sendo eles: Grupo Controle (GC), onde o sêmen foi congelado de forma convencional, Grupo Tratamento 1 (GT1) no qual o sêmen foi centrifugado a 2000xg para a retirada do plasma e posteriormente congelado e Grupo Tratamento 2 (GT2), em que o sêmen foi centrifugado porém não teve seu plasma retirado. As palhetas de sêmen de 0,25mL foram envasadas com concentração final de  $400 \times 10^6$  espermatozoide/mL com diluente Optixcell (IMV, França). Após o descongelamento das amostras todos os grupos foram avaliados por citometria de fluxo para análise de integridade de membrana plasmática e integridade de acrossoma, sendo as sondas utilizadas a PI (Propidium iodide) e FITC-PSA (FITC – *Pisum sativum* Aglutinina), respectivamente. Os dados obtidos foram submetidos ao teste de normalidade ANOVA e Tukey com nível de significância de 5%. Os grupos GC e GT2 apresentaram maior porcentagem de células com membrana plasmática lesionada (GC=79,4±8,3, GT1=73,4±3,5 e GT2=76,7±0,9; p=0,726), enquanto o grupo GT1 apresentou maior percentual de células com lesão de acrossoma (GC=93,9±2,6, GT1=97,8±0,5 e GT2=93,7±3,8; p=0,496). Em ambas as avaliações, não houve diferença estatística entre os tratamentos. Com isso, concluímos que a remoção do plasma seminal não contribuiu para a manutenção da integridade de membrana plasmática e acrossomal.

**Palavras-chave:** ovino, criopreservação, plasma seminal.

**Keywords:** sheep, cryopreservation, seminal plasma.

## Diagnóstico ultrassonográfico e tratamento da piometra em ovelha

### *Sonographic diagnosis and treatment of pyometra in sheep*

**Joyce Taynan Pereira Vasconcelos<sup>1</sup>, Riany Silva Vidal<sup>1</sup>, Matheus Ferreira Vilela Albuquerque<sup>2</sup>, José Felipe Napoleão Santos<sup>1</sup>, Gabrielly Medeiros Araújo Morais<sup>1</sup>, Alysson Alexandre de Lima Filho<sup>1</sup>, Fábio Mendonça de Souza<sup>3</sup>, Carlos Enrique Peña Alfaro<sup>4</sup>, Valdir Morais de Almeida<sup>4,\*</sup>**

<sup>1</sup>Graduando em Medicina Veterinária, CSTR, Universidade Federal de Campina Grande, Paraíba, Brasil;

<sup>2</sup>Graduando em Medicina Veterinária, IBGM; <sup>3</sup>Professor do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, PE, Brasil; <sup>4</sup> Professor da Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Campina Grande, Paraíba, Brasil.

\*E-mail: valdirvet@hotmail.com

Apresentando incidência rara e pouco relatada nas espécies de pequenos ruminantes e principalmente em ovinos, a piometra caracteriza-se por apresentar o útero com imagem ultrassonográfica ecogênica, por acúmulo de exsudato purulento nos vários compartimentos separados por trabéculas, não sendo observada a presença de placentomas e feto. O anestro é preservado devido a incapacidade do endométrio secretar prostaglandina, mantendo-se o corpo lúteo e a consequente liberação de progesterona. Em atendimento externo do Laboratório e Clínica de Reprodução Animal do Hospital Veterinário Universitário Prof. Ivon Macedo Tabosa, da UFCG-Patos-PB, observou-se, quando da realização de exame ultrassonográfico com fins de diagnóstico de gestação, a ocorrência de dois casos de piometra na espécie ovina, raça Santa Inês, sendo o primeiro em rebanho com número total de 250 fêmeas, localizada na microrregião do Vale do Ipojuca, no município de Jataúba, Pernambuco, e o segundo em rebanho da mesma raça, com número total de 180 fêmeas, localizado no agreste setentrional, município de Limoeiro, Pernambuco. Os animais não apresentaram sinais sistêmicos de doença e, encontravam-se em um lote de fêmeas adultas, pluríparas, que teriam sido acasaladas em estação de monta ocorrida há 90 dias. Ao exame geral, observou-se a normalidade de todos os sinais vitais e o bom estado geral. No exame ginecológico, pequena quantidade de secreção purulenta de origem uterina foi observada por meio da vaginoscopia e, na ultrassonografia transabdominal, presença de grande quantidade de conteúdo purulento, com apresentação ecogênica e flutuante ao movimento e endométrio espeçado. O Tratamento prescrito deu-se com antibioticoterapia sistêmica em três aplicações intra-muscular intervalada de 24 horas de oxitetraciclina, 20 mg/kg, associado a 0,125mg de cloprostenol, em duas aplicações intervaladas de 24 horas. Repetiu-se o mesmo tratamento após oito dias do término do primeiro ciclo. Ultrassonografias foram realizadas 15 e 30 dias após o tratamento e, o animal foi liberado para acasalamento em estação reprodutiva a campo. Os dois animais tiveram prenhez confirmada 60 dias após acasalamento.

**Palavras-chave:** piometra, tratamento, ovino.

**Keywords:** *pyometra, treatment, sheep.*

## **Efeito de diferentes diluentes sobre a viabilidade espermática do sêmen ovino mantido a 5°C por até 72 horas**

*Effect of different extenders on sperm viability of ram semen maintained at 5°C for up to 72 hours*

**José Francisco Manta Bragança<sup>1,\*</sup>, Sérgio Abreu Machado<sup>1</sup>, Daian Rodrigo Heydt<sup>2</sup>,  
Fernando de Oliveira Drissen<sup>2</sup>, Paulo Eduardo Bennemann<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Professores Medicina Veterinária Universidade do Oeste de Santa Catarina (Unoesc), Xanxerê-SC; <sup>2</sup>Acadêmicos Medicina Veterinária, Laboratório Reprodução Animal Unoesc, Xanxerê-SC.

\*E-mail: jose.braganca@unoesc.edu.br

No Brasil, a ovinocultura está presente em todas as regiões e em grande difusão, sendo que para isso, o manejo reprodutivo é importante para o bom desenvolvimento dessa atividade. Neste contexto, a inseminação artificial (IA) assume um papel fundamental. No entanto, a prática de IA com sêmen resfriado apresenta limitações em relação ao tempo de armazenamento da dose inseminante. Por esse motivo, a avaliação de diferentes diluentes que possam manter a integridade dos espermatozoides por um período maior de tempo se faz necessária. Como doadores de sêmen foram utilizados 5 carneiros Texel (15 repetições), coletados semanalmente avaliados e processados em heterospermia (pool de dois reprodutores) e distribuídos em split sample em 3 tratamentos sendo após a diluição armazenados a 5°C por até 72 horas. T1: diluente Triladyl<sup>®</sup> (Minitube), T2: diluente TRIS Salomon, T3: diluente Ovipro<sup>®</sup> (Minitube). As análises de motilidade e vigor espermáticos foram realizadas em microscopia de contraste de fase, por um único operador. Nas avaliações complementares foram realizadas a coloração Supra-vital e morfologia espermática em preparação úmida (formol citrato de sódio 2,94%). Todas as análises foram realizadas às 0, 24, 48 e 72 horas de armazenamento a 5°C. Foram utilizadas análises de medidas repetidas comparando o efeito dos tratamentos sobre os parâmetros de qualidade espermática. As variáveis motilidade, morfologia espermática e percentual de espermatozoides vivos foram avaliadas através da análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey-Kramer. A variável vigor espermático foi comparada através do teste de chi-quadrado. A morfologia espermática não diferiu entre os tratamentos e momentos de armazenamento. A motilidade espermática diferiu a partir das 48 horas de armazenamento entre os tratamentos T2 (54,09±3,49%) e T3 (71,66±1,35%). No entanto, às 72 horas o T3 (66,66±2,05%) diferiu dos demais grupos (T1-53,65±4,81% e T2-44,09±4,41%) (p<0,05). O vigor espermático variou entre os tratamentos somente no momento 72 horas onde o T2 (2,18±0,22) apresentou resultado inferior aos demais tratamentos (T1-2,46±0,21 e T3-2,93±0,06) (p<0,05). A integridade da membrana plasmática foi superior no T3 (67,13±1,03) às 72 horas de armazenamento em relação ao T1 (48,95±5,41%) e T2 (47,16±4,28%). De acordo com a literatura, a motilidade espermática é reduzida a valores inferiores a 40% quando o sêmen ovino é armazenado a 5°C por até 72 horas. Este dado difere do presente estudo onde T3 apresentou uma motilidade de 66,66±2,05% às 72 horas de armazenamento, porém o vigor reduziu (2,93±0,06). A conservação do sêmen resfriado é, em parte, dependente da habilidade do diluente em manter a atividade celular e integridade da membrana plasmática do espermatozoide. Dessa forma, é possível que o melhor resultado do T3 possa estar ligado a este fator. Sendo assim, nas condições em que foi realizada a avaliação conclui-se que, ao se considerar o limite mínimo de qualidade espermática estabelecido pelo CBRA, as doses inseminantes diluídas em Ovipro<sup>®</sup> mantiveram os parâmetros de motilidade e vigor até às 48 horas de armazenamento a 5°C.

**Palavras-chave:** sêmen ovino, doses inseminantes, diluentes.

**Keywords:** ram semen, inseminant doses, extenders.

## Avaliação da adição de Ácido Fólico na criopreservação de sêmen ovino

*Evaluation of the addition of Folic Acid in cryopreservation of sheep semen*

**Filipe Nunes Barros<sup>1,\*</sup>, Marcos Antônio Celestino de Sousa Filho<sup>1</sup>, Jefferson Hallisson Lustosa da Silva<sup>1</sup>, Luanna Soares de Melo Evagelista<sup>5</sup>, Anna Monallysa Silva de Oliveira<sup>1</sup>, Maria Michele Araujo de Sousa Cavalcante<sup>1</sup>, Francisco Felipe Ferreira Soares<sup>1</sup>, Yndyra Nayan Teixeira Carvalho Castelo Branco<sup>2</sup>, Marlon de Araújo Castelo Branco<sup>3</sup>, Antônio de Sousa Júnior<sup>4</sup>, José Adalmir Torres de Souza<sup>5</sup>**

<sup>1</sup>Pós-graduando em Ciência Animal, Universidade Federal do Piauí (UFPI), Teresina, Piauí, Brasil; <sup>2</sup>Professora da Universidade Federal de Sergipe (UFS), N. S da Glória, Sergipe, Brasil; <sup>3</sup>Professor da Faculdade Maurício de Nassau; <sup>4</sup> Professor do Colégio Técnico de Teresina (CTT), Teresina, Piauí, Brasil; <sup>5</sup>Professor da Universidade Federal do Piauí (UFPI), Teresina, Piauí, Brasil.

\*Email: filipenbarros@hotmail.com

A criopreservação seminal possibilita a conservação do germoplasma masculino por tempo indeterminado. Contudo, a técnica pode promover alterações afetando negativamente a funcionalidade e a sobrevivência dos espermatozoides. Estudos mostraram que a utilização de micronutrientes como antioxidantes poderia melhorar a viabilidade espermática e prevenir danos oxidativos. Dentre eles, sabe-se que Ácido Fólico (vitamina B9) é necessário para replicação de genes celulares, é eficiente na inibição da peroxidação lipídica e na desoxidação dos radicais livres, protegendo a membrana celular e o DNA, podendo ser assim, um importante antioxidante. O trabalho avaliou o efeito da adição do Ácido Fólico ao diluidor TRIS-gema utilizado na criopreservação, visando a melhoria do sêmen criopreservado quanto à cinética espermática, integridade da membrana plasmática, atividade mitocondrial e integridade da membrana acrossomal. O projeto foi realizado no Laboratório de Biotecnologia da Reprodução Animal, da Universidade Federal do Piauí, onde foram utilizados seis ovinos Santa Inês. Foram coletadas sete ejaculados de cada animal por vagina artificial, com auxílio da fêmea em estro, intercaladas entre 48 e 72 horas. Utilizou-se ejaculados que apresentaram valores mínimos de 70,0% de motilidade e 3 de vigor. Então, uma alíquota do ejaculado, diluída em formol salino (diluição 1:200) foi utilizada para avaliação da concentração e morfologia espermática. Após colheita e análise macro e microscópica, misturou-se as amostras formando o *pool*. Em seguida, o *pool* foi diluído em meio de criopreservação Tris-Gema e dividido em 3 grupos: o Grupo 1, o controle; Grupo 2 adicionou-se 10000 uM de Ácido Fólico; Grupo 3 adicionou-se 5000 uM de Ácido Fólico. Posteriormente, envasou-se as amostras de sêmen em palhetas (0,25 mL), processando em máquina de congelamento de sêmen. Avaliou-se motilidade e vigor pós-descongelamento através do teste de termoresistência lenta (TTR), nos tempos T0, T60, T120 e T180 minutos, uma semana após a congelamento das palhetas. Para avaliação da integridade da membrana plasmática, da atividade mitocondrial e da integridade acrossomal foram utilizadas sondas fluorescentes (DCF, IP; JC-1; FITC-PNA). Os efeitos do Ácido Fólico foram analisados utilizando ANOVA seguida pelo teste de Student Newman-Keuls. Os grupos que receberam 5000 e 10000 uM de Ácido Fólico apresentaram maior motilidade quando comparado ao grupo controle. A integridade de membrana plasmática, de acrossoma e a atividade mitocondrial não diferiram entre os grupos. Corroborando com a literatura, o uso desse micronutriente com potencial antioxidante reduziu a ação dos radicais livres, que alteram a membrana plasmática e o DNA espermático. Por conseguinte, levou a uma diminuição de espermatozoides com formas anormais, e, conseqüentemente a uma melhor motilidade espermática. Concluiu-se que a adição do Ácido Fólico nas concentrações de 5000 uM e 10000 uM ao diluidor seminal influenciaram diretamente na motilidade do sêmen ovino criopreservado.

**Palavras-chave:** biotecnologia, sêmen, antioxidante, ácido fólico.

**Keywords:** *biotechnology, semen, antioxidant, folic acid.*



## **Ácido gálico pode ser usado como único antioxidante no meio de base para o cultivo *in vitro* de folículos secundários isolados ovinos**

*Gallic acid can be used as the only antioxidant in the base medium for in vitro culture of ovine isolated secondary follicles*

**Gizele Augusta Lemos da Silva\***, Luana Batista de Araújo, Larissa do Carmo Rodrigues da Silva, Bruna Bortoloni Gouveia, Ricássio de Sousa Barberino, Thae Lanne Barbosa Gama Lins, Alane Pains Oliveira do Monte, Taís Jobard Silva e Macedo, Maria Helena Tavares de Matos

Nucleus of Biotechnology Applied to Ovarian Follicle Development, Federal University of São Francisco Valley, Petrolina, PE, Brazil.

\*E-mail: giseleaugusta.lemos@gmail.com

Gallic acid is a phenolic compound naturally found in several food and medicinal plants, which has proven antioxidant activity by directly eliminating reactive oxygen species (ROS), besides activating the expression of antioxidant enzymes in different types of cells. However, there are no studies demonstrating the effect of gallic acid during *in vitro* culture of ovine ovarian follicles. Thus, the aim of this study was to evaluate the effect of different concentrations of gallic acid on the *in vitro* development of ovine isolated secondary follicles, ROS and glutathione (GSH) levels and mitochondrial activity. Secondary follicles (n=75 follicles/treatment) were mechanically isolated from 40 ovine ovaries and cultured for 12 days in four experimental groups:  $\alpha$ -MEM supplemented with 3.0 mg/mL bovine serum albumin (BSA), 10 ng/mL insulin, 2 mM glutamine, 2 mM hypoxanthine, 5.5  $\mu$ g/mL transferrin, 5.0 ng/mL selenium and 50  $\mu$ g/mL ascorbic acid ( $\alpha$ -MEM+; control medium) or in  $\alpha$ -MEM supplemented with BSA, insulin, glutamine, hypoxanthine and different concentrations of gallic acid (25; 50 or 100  $\mu$ M), replacing the antioxidants present in the control medium (transferrin, selenium and ascorbic acid). Every six days, the following parameters were analyzed: percentage of normal follicles, antrum formation and follicular diameter. At the end of the culture, the percentage of fully grown oocytes ( $\geq 110\mu\text{m}$ ) was also calculated. Moreover, the intracellular levels of ROS, GSH and mitochondrial activity were evaluated in the normal oocytes. The results showed that after 12 days of culture, the percentage of normal follicles cultured in 100  $\mu$ M gallic acid (59.3%) was similar ( $p>0.05$ ) to the control medium ( $\alpha$ -MEM+: 52.3%) and higher ( $p<0.05$ ) than the other concentrations of gallic acid (25  $\mu$ M: 44.2%; 50  $\mu$ M: 45.6%). In addition, the percentage of antrum formation was higher ( $p<0.05$ ) in the group supplemented with 100  $\mu$ M gallic acid (62.5%) than the other treatments ( $\alpha$ -MEM+: 27.6%; 25  $\mu$ M: 42.6%; 50  $\mu$ M: 35.9%). At day 12, follicular diameter in the group cultured with 100  $\mu$ M gallic acid (312.7  $\mu\text{m}$ ) was higher ( $p<0.05$ ) than control medium (263.8  $\mu\text{m}$ ) and 25  $\mu$ M gallic acid (270.7  $\mu\text{m}$ ) and similar ( $p>0.05$ ) to 50  $\mu$ M gallic acid (278.2  $\mu\text{m}$ ). The percentage of fully grown oocytes ( $\geq 110\mu\text{m}$ ) were similar ( $p>0.05$ ) among  $\alpha$ -MEM+ (29.2%), 25 (34.4%) and 100 (40.6%)  $\mu$ M gallic acid. Furthermore, 25  $\mu$ M gallic acid increased ( $p<0.05$ ) the levels of ROS compared to the control and showed similar levels ( $p>0.05$ ) to 50 and 100  $\mu$ M of gallic acid, but these same treatments were similar to  $\alpha$ -MEM ( $p>0.05$ ). All treatments containing gallic acid increased ( $p<0.05$ ) GSH levels compared to the control. Only 25  $\mu$ M gallic acid increased ( $p<0.05$ ) mitochondria activity. In conclusion, 100  $\mu$ M gallic acid can be used as the single antioxidant in the base culture medium, maintaining the survival, promoting the *in vitro* development of ovine secondary follicles and increasing GSH levels.

**Keywords:** phenolic compound, *in vitro* growth, GSH, ovary, reproduction.

**Palavras-chave:** composto fenólico, crescimento *in vitro*, GSH, ovário, reprodução.



## **Influence of anatomy of cervical ostium on the efficiency of cervical traversing after relaxation protocol in Santa Ines ewes**

*Influência da anatomia do óstio cervical na eficiência da transposição cervical após protocolo de relaxamento em ovelhas Santa Inês*

**Viviane Lopes Brair<sup>1,\*</sup>, Lucia Prellwitz<sup>1</sup>, Rodrigo Oliveira Cunha<sup>2</sup>, Fabiana Nunes Zambrini<sup>3</sup>, José Domingos Guimarães<sup>3</sup>, Marco Antônio Paula de Sousa<sup>4</sup>, Joanna Maria Gonçalves Souza-Fabjan<sup>1</sup>, Maria Emília Franco de Oliveira<sup>5</sup>, Jeferson Ferreira da Fonseca<sup>6</sup>**

<sup>1</sup>Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói-RJ, Brasil; <sup>2</sup>Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade do Grande Rio – Unigranrio, Duque de Caxias-RJ; <sup>3</sup>Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, Brasil; <sup>4</sup>Faculdade de Ciência Animal, Universidade Federal do Pará, Castanhal-PA, Brasil; <sup>5</sup>Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual de São Paulo, Jaboticabal-SP, Brasil; <sup>6</sup>Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral-CE, Brasil.

\*E-mail: vivilopesbrair@gmail.com

Ewes have certain particularities in the cervical anatomy leading to the commercial use of surgical methods for collecting embryos in this species. However, the literature shows that Non-Surgical Embryo Recovery (NSER) is possible through specific protocols for cervical relaxation (Fonseca et al., 2019. *Reprod Fertil Devel*, 31:17-26). The cervical ostium may have several classifications: flap, duckbill, rosette, rose, spiral or papilla. This study aimed to assess the influence of cervical ostium anatomy on the difficulty of traversing cervical rings. A total of 42 pluriparous Santa Inês ewes received intravaginal sponges containing 60 mg medroxyprogesterone (Progespon<sup>®</sup>, Syntex, Buenos Aires, Argentina) for six days and 200 IU eCG (Novormon 5000<sup>®</sup>, Syntex, Buenos Aires, Argentina) i.m. and 37.5 µg d-cloprostenol (Prolise<sup>®</sup>, ARSA S.R.L., Buenos Aires, Argentina) latero-vulvar, both 24 h before sponge removal. Ewes were naturally mated during estrus and NSER was attempted 7 d after estrus onset. All ewes received a relaxation protocol based on 37.5 µg d-cloprostenol latero-vulvar and 1 mg estradiol benzoate (Estrogin<sup>®</sup>, Biofarm, São Paulo, Brazil) i.m. 16 h before NSER and 50 IU oxytocin (Ocitocina Forte UCB<sup>®</sup>, São Paulo, Brazil) i.v. 20 min before the procedure. NSER was performed following the method previously described (Fonseca et al., 2019. *Reprod Domest Anim*;54:118-125). Each animal received a classification of cervical ostium: rosette, rose, duckbill, flap, mosaic or mixed and a grade according to the difficulty of traversing cervix with the Hegar dilator: Grade 1 (very easy; <1 min); Grade 2 (easy; 1 to 3 min); Grade 3 (moderate difficulty; 3 to 7 min); Grade 4 (difficult; 7 to 10 min); and Grade 5 (impossible to penetrate). The frequency of cervical ostium found was: 43% duckbill (18/42), 36% rosette (15/42), 7% mixed with (3/42), 7% flap (3/42), 5% mosaic with (2/42) and 2% rose with (1/42). The percentage of transposition according to the classification of the cervical ostium (Grade, 1, 2, 3, 4 and 5) was, respectively: duckbill (5,6/ 16,7/ 16,7/ 11/ and 50%); rosette (13, 27, 13, 13 and 34%); mixed (0, 33, 67, 0 and 0%); flap (0, 0, 33, 0, 67%); mosaic (0, 0, 0, 0, 100%); rose (100, 0, 0, 0, 0%). Overall, NSER success rate was 57.1% (24/42). The most predominant cervical ostium in Santa Inês ewes was duckbill and it was possible to traverse 50% of animals. It was not possible to traverse both animals with cervixes classified as mosaic, whilst sheep presenting either mixed and rose cervix had 100% of efficiency. In conclusion, the current data suggest that the morphology of cervical ostium may have influence on the success of embryo collection by Non-Surgical Embryo Recovery (NSER) technique. Financial support: Embrapa (02.13.06.026.00.04) and Fapemig (CVZ-PPM 00201-17).

**Keywords:** embryo recovery, cervical ostium, sheep.

**Palavras-chave:** recuperação de embriões, óstio cervical, ovelhas.



## **Polimorfismos asociados a prolificidad en rebaños ovinos del sur de Chile**

*Polymorphisms associated to prolificacy in southern Chile sheep flock*

**Nestor Sepúlveda\*, Silvana Bravo, Karla Inostroza, Erwin Paz, Giovani Larama**

Laboratorio de Producción Animal, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

\*E-mail: nestor.sepulveda@ufrontera.cl

La identificación de marcadores genéticos en forma de SNP permite asociar su presencia a características productivas y posteriormente ser utilizados con herramienta para la selección genética. El objetivo del presente trabajo fue identificar mediante PCR-RFLP y secuenciación automática los principales polimorfismos asociados a prolificidad ubicados en los genes BMPR1-B, BMP-15 y GDF-9 en las razas Araucana, Chilota, Corridale y Austral. Se obtuvieron muestras de sangre (n=520) de 22 rebaños de las cuatro diferentes razas. Se extrajo ADN genómico y se usaron sets de partidores para amplificar las distintas regiones de los genes BMPR1-B, BMP-15 y GDF-9. Se realizó la PCR y los productos fueron separados mediante una electroforesis. Los productos de PCR fueron digeridos y separados por electroforesis en gel de agarosa. Los productos de PCR fueron secuenciados y posteriormente alineados utilizando los programas disponibles online; BLAST, MAFFT y CLUSTW. Se utilizó el software Genepop versión 3.4 para calcular las frecuencias alélicas y genotípicas a fin de determinar el equilibrio de Hardy-Weinberg en las poblaciones. Para el gen BMPR1B fue analizado el polimorfismo FecB; en el gen BMP15 se analizaron seis polimorfismos: FecX<sup>I</sup>, FecX<sup>B</sup>, FecX<sup>C</sup>, FecX<sup>G</sup>, FecX<sup>H</sup> y FecX<sup>R</sup>. En el gen GDF9 fueron analizados 13 polimorfismos: 152A>G, G1, G2, G3, 692T>C, G4, 729G>T, FecG<sup>A</sup>, G5, G6, FecG<sup>S</sup>, G7 y G8. No fueron detectados polimorfismos asociados a los genes BMPR1-B y BMP-15 en las razas analizadas. En la raza Araucana en el gen GDF9 se identificaron 8 SNP (G1, G2, G3, 692T>C, G4, G5, G6 y el SNP FecG<sup>A</sup> fue detectado por primera vez en una raza ovina. En la raza Austral, Corridale y Merino solo se identificó el polimorfismo G1. En la raza criolla Chilota fueron identificados los polimorfismos G1, G5, y G6. Al asociar la presencia de los SNP con prolificidad se encontró una asociación significativa de los SNP's G5 y G6 en ovejas Araucanas y el SNP G1 en ovejas chilotas.



## **Efeito da suplementação com ácido linoleico ao diluidor Tris-Gema sobre a integridade da membrana espermática em sêmen descongelado de ovino**

*Effect of the addition of linoleic acid to the Tris-Gema diluent on membrane integrity spermatic in thawed semen of sheep*

**José Adalmir Torres de Souza<sup>1,\*</sup>, Jefferson Hallisson Lustosa da Silva<sup>2</sup>, Felipe Pereira da Silva Barçante<sup>3</sup>, Yndyra Nayan Teixeira Carvalho Castelo Branco<sup>4</sup>, Marlon de Araújo Castelo Branco<sup>5</sup>, Antonio de Sousa Júnior<sup>6</sup>, José Dantas e Silva Neto<sup>7</sup>, Marana Poncion Portela Guimarães<sup>7</sup>, Isôlda Márcia Rocha do Nascimento<sup>6</sup>**

<sup>1</sup>Professor de Medicina Veterinária, Laboratório de Biotecnologia da Reprodução Animal, Universidade Federal do Piauí, PI, Brasil; <sup>2</sup>Médico Veterinário, Universidade Federal do Piauí, PI, Brasil; <sup>3</sup>Professor de Zootecnia, Instituto de Ensino Superior Múltiplo, MA, Brasil; <sup>4</sup>Professora de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Piauí, SE, Brasil; <sup>5</sup>Professor de Enfermagem, Faculdade Maurício de Nassau, PI, Brasil; <sup>6</sup>Professores de Agropecuária, Universidade Federal do Piauí, PI, Brasil; <sup>7</sup>Zootecnista, Instituto de Ensino Superior Múltiplo, MA, Brasil.

\*E-mail: adalmir@ufpi.edu.br

O processo de congelamento é responsável por danificar os espermatozoides de mamíferos, provocando a redução da motilidade, diminuição da capacidade de fertilização e infertilidade. A adição de ácidos graxos pode influenciar a estabilidade das membranas frente à criopreservação, reduzindo os efeitos da peroxidação lipídica sob ação das espécies reativas de oxigênio (ROS). Assim, objetivou-se avaliar o efeito da suplementação de diferentes concentrações de ácido linoleico conjugado (CLA) ao diluidor Tris-Gema sobre a *integridade da membrana espermática* em sêmen descongelado de ovino. Para tanto, foram utilizados 36 ejaculados provenientes de seis reprodutores ovinos da raça Dorper. Os animais foram submetidos a seis coletas de sêmen, a cada 48 horas, por vagina artificial. Posteriormente o ejaculado foi avaliado quanto as características físicas imediatas e avaliação morfológica pela técnica da *preparação úmida*. Dos ejaculados obtidos foi formado um *pool* em cada seção de coleta, que foi fracionado para diluição em meio Tris-Gema com diferentes concentrações de ácido linoleico conjugado (CLA): T1 (0µM de CLA); T2 (0,5 µM de CLA); T3 (5 µM de CLA); T4 (50 µM de CLA). Os tratamentos foram homogeneizados com o auxílio de um processador ultrassônico. O *pool* de sêmen diluído de cada tratamento foi novamente avaliado quanto às características físicas e, posteriormente. Envasado, em palhetas de 0,25mL, congelado em sistema automatizado em máquina de congelamento de sêmen TK-3000, na curva de congelamento rápida (-0,25° C/min., de 25° C a 5° C e -20° C/min., de 5° C a -120° C). Após 15 dias da congelamento, as amostras de sêmen foram descongeladas e submetidas a avaliação da *integridade da membrana plasmática*, utilizando o método de coloração dupla com diacetato de carboxifluoresceína (DCF) e iodeto de propídio (IP). Uma alíquota de 50µL de sêmen descongelado foi diluída em 150µL de Tris contendo 5µL de DCF e 20µL de IP e incubadas por 10 minutos a 37°C. Um total de 200 espermatozoides foram avaliados em cada amostra, sob microscopia de epifluorescência. Os espermatozoides foram classificados em *membrana intacta*, quando apresentarem corados em verde, e com *membrana danificada* quando corados em vermelho. Não houve diferença significativa entre os tratamentos (T1= 35,33; T2= 36,5; T3= 37,17 e T4= 37,75) pelo teste de Tuckey a 5%. Esses resultados foram diferentes de outros estudos onde afirmam que a suplementação de ácido linoleico conjugado ao diluidor melhora a integridade da membrana dos espermatozoides. Conclui-se, portanto, que suplementação de ácido linoleico conjugada ao Tris-Gema não melhorou a integridade da membrana de espermatozoide após o processo de congelamento, nas concentrações utilizadas.

**Palavras-chave:** espermatozoides, ROS, criopreservação.

**Keywords:** sperm, ROS, cryopreservation.



## Inquérito sorológico da infecção por *Chlamydophila abortus* em ovinos pertencentes à mesorregião dos Sertões Cearenses

*Serological survey of Chlamydophila abortus infection in sheep belonging to the Backlands of Ceara mesoregion*

**Ana Milena César Lima<sup>1,\*</sup>, Maria Dalila dos Santos<sup>2</sup>, Mariana Siqueira Damasceno<sup>2</sup>, Juscilândia Furtado Araújo<sup>3</sup>, Edgar Marques Damasceno<sup>4</sup>, Alice Andrioli<sup>5</sup>, Francisco Selmo Fernandes Alves<sup>5</sup>, Raymundo Rizado Pinheiro<sup>5</sup>, Janaina de Fátima Saraiva Cardoso<sup>6</sup>, Ney Rômulo de Oliveira Paula<sup>6</sup>**

<sup>1,6</sup>Universidade Federal do Piauí (UFPI), Teresina, PI; <sup>2</sup>Centro Universitário INTA (UNINTA), Sobral, CE;

<sup>3</sup>Universidade Estadual do Ceará (UECE), Fortaleza, CE; Universidade Estadual Vale do Acaraú (UVA), Sobral, CE; <sup>5</sup>EMBRAPA Caprinos e Ovinos (CNPACO), Sobral, CE.

\*E-mail: anamilenalima@yahoo.com.br

A Clamidiofilose é uma infecção bacteriana responsável por distúrbios reprodutivos em várias espécies, incluindo os ruminantes. Em ovinos, a infecção por *Chlamydophila abortus* é denominada como Aborto Enzoótico das Ovelhas e as consequências da infecção são infertilidade, abortos nas últimas semanas de gestação, ocorrência de natimortos e nascimento de cordeiros fracos. O agente pode ser transmitido de forma vertical ou horizontal e destaca-se pelo seu potencial zoonótico, envolvendo assim questões de saúde pública, além de ser uma importante causa de prejuízos econômicos. Desta forma, objetivou-se determinar a prevalência de ovinos soropositivos para *Chlamydophila abortus* através do teste de Elisa indireto em animais da mesorregião dos Sertões Cearenses. Amostras de sangue foram coletadas de 299 ovinos, sendo 157 matrizes, 31 reprodutores e 111 animais jovens (seis a doze meses de idade), pertencentes a 25 propriedades da mesorregião dos Sertões Cearenses. A análise estatística foi realizada pelo Software EpiInfo® versão 7.2.2.6, através do teste de qui-quadrado ( $\chi^2$ ) e utilizou-se o teste exato de Fisher em casos onde as condições do qui-quadrado não foram adequadas. Os resultados obtidos demonstraram que 19,7% (59/299) dos animais analisados apresentaram resultados positivos para a enfermidade, enquanto que 11,4% (34/299) dos ovinos foram suspeitos. As matrizes apresentaram uma prevalência de 24,2% (38/299), os reprodutores de 22,6% (7/299) e 12,6% (14/299) animais jovens. Ressalta-se que houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre as três categorias avaliadas. Contudo, ao avaliar a prevalência por sexo, não houve diferença significativa ( $p \geq 0,05$ ) entre os machos (20%) e fêmeas (19,7%). Destaca-se que 96% (24/25) das propriedades visitadas apresentaram pelo menos um animal positivo para a *Chlamydophila abortus*. Portanto, a maior prevalência das matrizes pode estar relacionada ao maior tempo de permanência no rebanho, ao agrupamento mais intensivo desta categoria, bem como a maior probabilidade de contato com secreções uterinas. O estudo evidencia sorologicamente, a ocorrência de anticorpos anti-*Chlamydophila abortus* em rebanhos ovinos da mesorregião dos Sertões Cearenses, no Estado do Ceará. Tornando-se importante a realização de maiores estudos a cerca da ocorrência da enfermidade, bem como otimizar a fiscalização por instituições oficiais.

**Palavras-chave:** clamidiose, ELISA, prevalência, ovinos.

**Keywords:** chlamydiosis, ELISA, prevalence, sheep.



## **Avaliação da relação entre valores médios obtidos método Famacha<sup>®</sup> e o ganho de peso de borregos, na microrregião do Vale do Sambito**

*Evaluation of the relation between average values obtained by the Famacha<sup>®</sup> method and the weight gain of lambs in the Sambito Valley microregion*

**Raissa Costa Amorim\***, Marlon Cardoso Viana, Misael das Virgens Santana, Tuanny Creusa Medeiros Damasceno, Ney Rômulo de Oliveira Paula, Janaína de Fátima Saraiva Cardoso, Ana Lys Bezerra Barradas Mineiro

Laboratório de Fisiopatologia da Reprodução Animal, Universidade Federal do Piauí, UFPI, Teresina, PI, Brasil.

\*E-mail: raissa.costa18@hotmail.com

A produção de ovinos tem se mostrado uma atividade vantajosa por diferentes fatores, dentre eles o baixo custo de manutenção do rebanho e fornecimento de produtos como carne, leite e lã. Porém, a infecção por parasitas gastrintestinais representa uma importante fonte de prejuízo para criadores de ovinos em várias regiões do mundo. Desde o nascimento até o desmame, o ganho de peso dos filhotes é fundamental para o ideal desenvolvimento de suas aptidões, no entanto, isso pode ser facilmente afetado devidos aos borregos compuserem a categoria animal mais sensível à verminose. Em geral, são acometidos por infecções mistas, causadas por helmintos hematófagos, que provocam anemia, facilmente detectada à campo pelo método Famacha<sup>®</sup>. Isso posto, foi realizado o estudo com propósito de analisar se há significância na relação da média de ganho de peso dos borregos, conforme aumente o grau Famacha<sup>®</sup> nos animais. Para isso, 43 cordeiros foram utilizados, sendo 29 machos e 14 fêmeas, mestiços de Santa Inês e Dorper e com idade média de 3 semanas. A pesquisa foi realizada no município de Elesbão Veloso, situado na microrregião do Vale do Sambito, no estado do Piauí, Brasil. Os animais foram acompanhados por um período de 3 meses, fazendo-se avaliação de peso e método Famacha<sup>®</sup> a cada três semanas. Os resultados obtidos foram analisados pelo teste T à 5% de significância, através de uma correlação linear de Pearson. Na primeira avaliação, a média de peso inicial dos animais foi de 9,93 kg, e todos apresentaram grau de Famacha<sup>®</sup> abaixo de 2; na avaliação seguinte, a média de peso dos borregos foi de 11,97 kg, e 20 deles apresentaram Famacha<sup>®</sup> acima de 2; na terceira avaliação, a média de peso foi de 14,06 kg e 20 borregos apresentaram Famacha<sup>®</sup> acima de 2; e na última avaliação, 38 animais apresentaram Famacha<sup>®</sup> acima de 2 e a média de peso foi de 13,65 kg. Logo, observou-se que há correlação forte e indireta entre as variantes estudadas ( $r = -0,845$ ). Assim sendo, concluiu-se que, até o período de desmame, conforme aumente o escore Famacha<sup>®</sup> dos borregos, o ganho de peso médio é afetado, podendo até ter um saldo negativo.

**Palavras-chave:** borregos, ganho de peso, Famacha<sup>®</sup>.

**Keywords:** sheep, weight gain, Famacha<sup>®</sup>.

## **Efeito do Flunixin Meglumine em um programa de múltipla ovulação e transferência embrionária em ovinos**

*Effect of Flunixin Meglumine on a multiple ovulation and embryo transfer program in sheep*

**Tácia Gomes Bergstein-Galan<sup>1\*</sup>, Caroline Tomasi Bortoleto<sup>2</sup>, Romildo Romualdo Weiss<sup>2</sup>,  
Luiz Ernandes Kozicki<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Universidade Positivo, Curitiba, PR, Brasil; <sup>2</sup>Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, Brasil; <sup>3</sup>Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, PR, Brasil.

\*E-mail: [tacia@alamos.com.br](mailto:tacia@alamos.com.br)

A regressão prematura dos corpos lúteos (RPCL) diminui a eficiência de programas de múltipla ovulação e transferência de embriões (MOTE) em pequenos ruminantes. A RPCL consiste na lise do corpo lúteo (CL) antes da luteólise fisiológica. As causas do RPCL não são totalmente compreendidas, mas sua ocorrência tem sido associada a altas concentrações de estrogênio na fase lútea inicial e a liberação precoce de prostaglandinas por folículos anovulatórios ou pelo útero. Flunixin Meglumine (FM) é um anti-inflamatório que inibe a ciclooxigenase, enzima responsável pela conversão do ácido araquidônico em prostaglandinas. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do FM na recuperação embrionária e na taxa de gestação após transferência dos embriões para receptoras. Trinta e quatro ovelhas, da raça dorper, foram divididas em dois grupos: controle e FM. As ovelhas do grupo controle foram submetidas ao seguinte protocolo: inserção de dispositivos intravaginais impregnados com 0,33g de progesterona (Eazi-Breed CIDR®, Zoetis, EUA) por 14 dias, a superovulação foi induzida pela administração de 240 mg de FSH-P1 NIH-FSH-S1 (Folltropin®, Telesta Therapeutics Inc., Canadá) divididos em oito aplicações de doses decrescentes a partir do décimo segundo dia de tratamento e no dia da última injeção de FSH, o dispositivo de progesterona foi retirado e 200 UI de eCG (Novormon®, Zoetis, Estados Unidos) foram administrados. As doadoras do grupo FM foram submetidas ao mesmo protocolo porém foram acrescentadas 5 doses de 1,1mg/kg-IM de FM (Banamine®, Schering-Plough, EUA) administradas em intervalos de 24 horas desde o dia da retirada do dispositivo até o dia da inseminação artificial (IA). Todas as doadoras foram submetidas à recuperação embrionária e transferência dos embriões 5 dias após a IA. No dia da recuperação embrionária a morfologia dos CLs das doadoras foram avaliados por laparoscopia. Os CLs foram morfológicamente classificados como normais (vermelho brilhante) ou regredidos (rosa claro ou branco). Cinquenta e quatro embriões de cada grupo foram implantados em receptoras previamente sincronizadas pelo método de semi-laparoscopia. A gestação das receptoras foi diagnosticada 60 dias após a transferência dos embriões, por ultrassonografia transabdominal. Não houve diferença ( $P > 0.05$ ) no número de embriões recuperados (média ± erro padrão: FM:  $8.88 \pm 1.84$ , Controle:  $7.70 \pm 0.95$ ). Uma doadora das 17 alocadas o grupo controle apresentou CLs classificados como regredidos. Nenhuma doadora do grupo controle apresentou CLs classificados como regredidos. A taxa de gestação também não diferiu entre o grupo controle ( $25.31 \pm 5.10\%$ ) e o grupo FM ( $25.56 \pm 8.73\%$ ). A ausência de significância do número de embriões recuperados e da taxa de gestação após transferência dos embriões pode ser consequência do baixo número de doadoras com sinais de RPCL no grupo controle. Em conclusão, a administração de FM não apresentou nenhum efeito na taxa de recuperação embrionária ou taxa de gestação em um programa de MOTE em ovinos.

**Palavras-chave:** regressão prematura, corpo lúteo, embriões, ovelha.

**Keywords:** *premature regression, corpus luteum, embryos, ewe.*

## Hemodinâmica uterina durante a luteólise em ovelhas: Resultados preliminares

*Uterine hemodynamics during luteolysis in sheep: Preliminary results*

Maruza Ferigueti Erler<sup>1</sup>, Rabeche Schmith<sup>1</sup>, Izadora Zanetti Mônico<sup>1</sup>, Emílio Padovani Neto<sup>1</sup>, José Eduardo de Brito Souza<sup>1</sup>, Nayara Oliveira Perim<sup>1</sup>, Ana Clara Malegoni<sup>1</sup>, Nilson Nunes Morais Junior<sup>2</sup>, Ricardo Lopes Dias da Costa<sup>3</sup>, Renato Travassos Beltrame<sup>4,\*</sup>

<sup>1</sup>Graduandos do Curso de Medicina Veterinária, Centro Universitário do Espírito Santo - UNESC, Colatina, ES, Brasil; <sup>2</sup>Instituto Federal do Espírito Santo (IFES), Colatina, ES, Brasil; <sup>3</sup>Instituto de Zootecnia, Nova Odessa, São Paulo, Brasil; <sup>4</sup>Professor do Curso de Medicina Veterinária, Centro Universitário do Espírito Santo - UNESC, Colatina, ES, Brasil.

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

A ultrassonografia (US) com Doppler espectral é uma técnica de imagem diagnóstica que permite a obtenção de valores para diversas variáveis hemodinâmicas de vasos e tecidos no intuito de evidenciar alterações fisiológicas no perfil hemodinâmico. Nenhum estudo hemodinâmico, entretanto, foi realizado durante o período característico da luteólise, incluindo ovelhas vazias e gestantes. Este trabalho teve como foco analisar, pela primeira vez, parâmetros do fluxo sanguíneo da artéria uterina entre fêmeas gestantes e não gestantes por intermédio de ultrassonografia Doppler espectral e colorida por via transretal entre os dias 14 e 17 pós inseminação. Foram utilizadas 28 ovelhas não gestantes da raça Santa Inês, mantidas em pastagem de *Panicum maximum* cv. Aruana, e suplementadas com silagem e concentrado a base de milho. Água e sal mineralizado foram fornecidos *ad libitum*. As fêmeas foram sincronizadas mediante dispositivo intravaginal contendo 0.36 g de progesterona (Primer<sup>®</sup>; Agener União - Brasil), em um dia aleatório do ciclo estral, considerado como dia D(0). No dia D(6), pela manhã os dispositivos foram retirados, e administrado por via IM, 2.5 mg de dinoprost (0.5 ml Lutalyse<sup>®</sup>) e 333 UI de eCG (Novormon<sup>®</sup>). As ovelhas foram inseminadas por via laparoscópica com sêmen congelado no D8, (54-60hs após retirada do dispositivo). A hemodinâmica uterina foi avaliada por US *Doppler* colorida e espectral (Z6 Vet, Mindray<sup>®</sup>) entre os dias 14 e 17 após inseminação. No D21 foram definidas as ovelhas gestantes (5) e vazias (23), confirmando-se o diagnóstico aos 60 dias por US convencional. As configurações do *Doppler* padronizadas e utilizadas durante toda pesquisa foram frequência do transdutor de 7.5 MHz, frequência de repetição de pulso [PRF]: 1.0 KHz e filtro de parede [WF]: 171KHz, ângulo de insonação de 60° e gate de 1mm. As variáveis hemodinâmicas avaliadas foram a velocidade do pico da sístole (VPS) (cm/s), velocidade final da diástole (VFD) (cm/s), tempo médio da velocidade máxima e média (TAMAX, TAMEAN cm/s), o índice de pulsatilidade (IP) e o índice de resistência (IR). MIXED do SAS foi usado para avaliar os efeitos do dia, status fisiológico (prenha e vazia) e interações, que não foram significativas. Embora estrógeno e progesterona (P4) sejam esteroides responsáveis por vasodilatação uterina, as características hemodinâmicas permaneceram constantes ao longo do período analisado (VPS = 76.89±14.4 cm/s; VFD = 19.52±5.51 cm/s; TAMAX = 29.27±5.66; TAMEAN = 17.28±4.39; IP = 2.06±0.66; IR = 0.75±0.08 (p>0.05). Quando comparado o status fisiológico a VPS mostrou-se inferior nas fêmeas gestantes quando comparada as não gestantes (70.44±2.69 vs 78.45±1.34 cm/s; p<0.001), sugerindo que mecanismos de luteólise não estejam associados primariamente a mudança no diâmetro da artéria uterina e sim na mudança da velocidade do fluxo sanguíneo. Em função de resultados preliminares, ainda não se pode afirmar sobre volume do fluxo sanguíneo e influência da P4 aos achados. Independente, uma abordagem mais precisa e cuidadosa em estudos posteriores deve ser realizada com um número maior de animais e com base no perfil destes hormônios na tentativa de definir valores de referência e elucidar padrões hemodinâmicos durante a luteólise.

**Palavras-chave:** fluxo sanguíneo luteal, prostaglandina, ressincronização.

**Keywords:** luteal blood flow, prostaglandin, resynchronization.



## **Nonsurgical embryo recovery in Lacaune ewes superovulated with different doses of FSH** *Coleta transcervical de embriões em ovelhas da raça Lacaune superovuladas com diferentes doses de FSH*

**Ana Lucia Rosa e Silva Maia<sup>1,\*</sup>, Lucas Machado Figueira<sup>2</sup>, Nadja Gomes Alves<sup>3</sup>, Ribrio Ivan Tavares Pereira Batista<sup>4</sup>, Aline Mattos Arrais<sup>5</sup>, Gabriel Brun Vergani<sup>6</sup>, Jader Forquim Prates<sup>7</sup>, Jeferson Ferreira da Fonseca<sup>8</sup>, Joanna Maria Gonçalves Souza-Fabjan<sup>9</sup>**

<sup>1</sup>Pós-doutoranda, FAPERJ/UFRJ, Niterói-RJ, Brasil; <sup>2</sup>Doutorando do PPGZ/UFLA, Lavras-MG, Brasil; <sup>3</sup>Professora do Departamento de Zootecnia/UFLA, Lavras-MG, Brasil; <sup>4</sup> Professor da UFVJM, Diamantina-MG, Brasil; <sup>5</sup>Doutoranda do Departamento de Reprodução e Avaliação Animal/UFRJ, Seropédica-RJ, Brasil; <sup>6</sup>Mestrando em Medicina Veterinária, UNESP, Jaboticabal-SP, Brasil; <sup>7</sup>Graduando em Zootecnia, IF Sudeste/MG, Rio Pomba-MG, Brasil; <sup>8</sup>Pesquisador da Embrapa Caprinos e Ovinos, Coronel Pacheco-MG, Brasil; <sup>9</sup>Professora da Faculdade de Veterinária, UFF, Niterói-RJ, Brasil.

\*E-mail: maia.analucia@gmail.com

Multiple ovulation and embryo transfer (MOET) is a reproductive biotechnology that allows accelerated genetic improvement of the species. In ruminants, the variability of the superovulatory response is a limiting factor for MOET programs. In addition, specifically in sheep, it is difficult to conduct embryo recovery by transcervical via, due to the anatomy of the cervical canal. Appropriate superovulation protocols that achieve satisfactory performance (ovulation rate, viable embryo production and recovery) reducing FSH doses have been recently tested (Rodriguez et al. 2018. *Reprod Dom Anim*, 1-8, in press). The aim of this study was to evaluate the effect of two doses of FSH on superovulatory response in Lacaune sheep. Ewes (n=25) received intravaginal devices containing 0,36 g progesterone (Primer PR<sup>®</sup>, Tecnopec, São Paulo, Brazil) for nine days plus 37.5 µg d-cloprostenol (Prolise<sup>®</sup>, Tecnopec, São Paulo, Brazil) i.m. 24 h before and 50 µg of GnRH (Gestran<sup>®</sup>, Tecnopec, São Paulo, Brazil) 24 h after device removal. Superovulation was performed with either 100 mg (G100) or 200 mg (G200) of pFSH (Folltropin-V<sup>®</sup>, Bioniche Animal Health, Belleville, Canada) in six decreasing doses (25, 25, 15, 15, 10 and 10%), every 12 h, starting 60 h prior to device removal. A cross-over design was applied, totaling 25 experimental units in each treatment. Estrus was monitored twice a day and ewes were mated with fertile rams (ratio=4:1). Five days after estrus onset, the number of corpora lutea (CL) was counted by transrectal ultrasonography in Doppler mode (Mindray M5VET<sup>®</sup>, Shenzhen, China - 8.0 MHz). Ewes with CL count >2 received 37.5 µg of d-cloprostenol and 1 mg of estradiol benzoate (Sincrodiol<sup>®</sup>, OuroFino, Cravinhos, Brazil) i.m. 16 h and 50 IU oxytocin (Ocitocina Forte<sup>®</sup>, UBCVet, São Paulo, Brazil) i.v. 20 min prior to nonsurgical embryo recovery (NSER). Six to seven days after estrus onset, NSER attempt was done (Fonseca et al. 2019. *Reprod Fertil Dev*, 31:17-26). Qualitative data were analyzed by exact Fisher test and the quantitative data by generalized linear models using the SAS software (v 9.3, SAS Institute, Cary, USA). The percentage of ewes in estrus and responsive donors (≥3 CL) differed (P>0.01) between groups: 68% (17/25) and 44% (11/25) in G100 and 100% (24/24) and 91.7% (22/24) in G200, respectively. CL count was higher (P<0.05) in G200 (12.0 ± 0.1) compared to G100 (4.8 ± 0.8). Cervical transposition and uterine flushing were performed in a total of 82% (32/39) of the ewes and differed between the groups (P<0.05), being 64.7% (11/17) in G100 and 95.5% (21/22) in G200. The number of retrieved structures and viable embryos per ewe collected were higher (P<0.05) in G200 (7.1 ± 1.1 and 5.4 ± 1.1) than in G100 (0.9 ± 0.3 and 0.8 ± 0.3), respectively. The recovery rate of structures (total structures/CL count x 100) was 62% in G200 and 22% G100. The dose of 100 mg pFSH appeared to be not sufficient to reach a high superovulation response while 200 mg resulted in good superovulatory response.

Financial support: Embrapa (02.13.06.026.00.04), Fapemig (CVZ-PPM 00201-17). ALRSM is supported by Faperj (E-26/202.268/2018) and LMF by Capes.

**Keywords:** Reproductive biotechnology, gonadotropin, sheep.

**Palavras-chave:** *Biologia da reprodução, gonadotrofina, ovinos.*

## Efeito da suplementação do ácido linoleico ao diluidor Tris-Gema sobre a integridade acrossomal em sêmen congelado de ovino

*Effect of the addition of linoleic acid to the Tris-Gema diluent on acrosomal integrity in frozen semen of sheep*

**Isôlda Márcia Rocha do Nascimento<sup>1,\*</sup>, Jefferson Hallisson Lustosa da Silva<sup>2</sup>,  
Felipe Pereira da Silva Barçante<sup>3</sup>, Yndyra Nayan Teixeira Carvalho Castelo Branco<sup>4</sup>,  
Marlon de Araújo Castelo Branco<sup>5</sup>, Antonio de Sousa Júnior<sup>1</sup>, José Dantas e Silva Neto<sup>6</sup>,  
Marana Poncion Portela Guimarães<sup>6</sup>, José Adalmir Torres de Souza<sup>7</sup>**

<sup>1</sup>Professores de Agropecuária, Universidade Federal do Piauí, PI, Brasil; <sup>2</sup>Pós-Graduando em Ciência Animal, Universidade Federal do Piauí, PI, Brasil; <sup>3</sup>Professor de Zootecnia, Instituto de Ensino Superior Múltiplo, MA, Brasil; <sup>4</sup>Professora de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Piauí, SE, Brasil; <sup>5</sup>Professor de Enfermagem, Faculdade Maurício de Nassau, PI, Brasil; <sup>6</sup>Graduandos de Zootecnia, Instituto de Ensino Superior Múltiplo, MA, Brasil; <sup>7</sup>Professor de Medicina Veterinária, Laboratório de Biotecnologia da Reprodução Animal, Universidade Federal do Piauí, Teresina, PI, Brasil.

\*E-mail: isoldamarcia@ufpi.edu.br

A criopreservação espermática provoca a degradação oxidativa dos ácidos graxos insaturados, provocando desestabilização das membranas espermáticas. Estudos recentes indicam que a utilização de ácidos graxos associados aos diluidores promove maior estabilidade das membranas. Assim, objetivou-se avaliar o efeito da suplementação de diferentes concentrações de ácido linoleico conjugado (CLA) ao diluidor Tris-Gema, sobre a atividade acrossomal em sêmen congelado de ovino. Para tanto, foram utilizados 36 ejaculados de sêmen de seis reprodutores ovinos da raça Dorper. Os animais foram submetidos a seis coletas de sêmen, duas vezes por semana, a cada 48 horas, por vagina artificial. Posteriormente o ejaculado foi avaliado quanto as características físicas imediatas e avaliação morfológica pela técnica da *preparação úmida*. Dos ejaculados obtidos foi formado um pool de cada seção de coleta, que foi fracionado para diluição em meio Tris-Gema com diferentes concentrações de ácido linoleico conjugado (CLA): T1 (0µM de CLA); T2 (0,5 µM de CLA); T3 (5 µM de CLA); T4 (50 µM de CLA). Os tratamentos foram homogeneizados com o auxílio de um processador ultrassônico. O pool de sêmen diluído de cada tratamento foi novamente avaliado quanto às características físicas e, posteriormente, congelado em sistema automatizado em máquina de congelação de sêmen TK-3000. Após 15 dias da congelação, as amostras foram descongeladas e submetidas a avaliação da *atividade acrossomal*, utilizando o corante isotiocianato de fluoresceína conjugado a *Peanut agglutinin* (FITC-PNA). Uma alíquota de 20 µL da solução estoque de FITC-PNA (1mg/mL) foi descongelada e adicionada a 480 µL de PBS para obter a concentração final de 100µg/mL. Alíquotas de 20µL da solução foram colocadas sobre esfregaços das amostras de sêmen, incubadas por 20 minutos em câmara úmida, na ausência de luz. Foram avaliados 200 espermatozoides por lâmina sob óleo de imersão, em microscópio de epifluorescência com aumento de 1000x, usando filtro de emissão LP 515 nm e BP 450-490 nm para excitação. Foram classificados em acrossomas intactos (fluorescência verde intensa) e acrossoma reagido (verde sem fluorescência). Não houve diferença entre os tratamentos (T1= 75,66; T2= 76,17; T3= 74,33 e T4= 79,17). Resultados diferentes de outros estudos que afirmam que a suplementação de ácido linoleico conjugado ao diluidor melhora a atividade acrossomal de espermatozoides. Conclui-se que suplementação de ácido linoleico conjugada ao Tris-Gema, nas concentrações utilizadas, não melhorou a atividade acrossomal de espermatozoides criopreservados.

**Palavras-chave:** espermatozóides, integridade acrossomal, criopreservação, sêmen, ovino.

**Keywords:** spermatozoids, acrosomal integrity, cryopreservation, semen, sheep.



## **Influência dos fatores ambientais estacionais sobre os parâmetros macroscópicos do sêmen de ovinos da raça Morada Nova, no município de Mogeiro (PB)**

*Influence of seasonal environmental factors on the macroscopic parameters of Morada Nova sheep semen, at the Mogeiro (PB) municipality*

**Aline Helena Albuquerque da Silva\*, Kamila Giffoni Sales Michiles, Atzel Acosta Abad, Ellen Cordeiro Bento da Silva**

Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE, Brasil.

\*E-mail: linealbuquerque.1@hotmail.com

O sêmen é constituído por uma fração líquida, o plasma seminal, e uma fração celular, representado pelos espermatozoides, que corresponde a 30% do volume do ejaculado ovino. A qualidade do sêmen de carneiro pode ser influenciada por diversos fatores, como raça, variabilidade individual, temperatura, fotoperíodo e estado nutricional do animal. Regiões tropicais sofre com reduzidas variações do fotoperíodo, nos diferentes períodos do ano, o que resulta em pequeno impacto na espermatogênese. Contudo, a temperatura, que é mais elevada nas localidades de baixa latitude, pode interferir negativamente sobre os parâmetros seminais. Na Região Nordeste, o clima semiárido, presente na maior parte do território, apresenta altas temperaturas e baixa taxa pluviométrica, que influenciam a produtividade espermática durante a fase reprodutiva dos ovinos. Assim, objetivou-se avaliar a interferência das alterações ambientais sobre os parâmetros seminais macroscópicos de reprodutores ovinos da raça Morada Nova, criados no município de Mogeiro (PB), ao longo de um ano. O experimento foi realizado em propriedade rural, no município de Mogeiro (-7°17'58"S e -35°28'46W.Gr), semiárido paraibano. Foram utilizados quatro reprodutores ovinos férteis, da raça Morada Nova, dos quais foram colhidos, através de vagina artificial, 12 ejaculados individuais, tendo sido quatro no mês de março (T01), quatro em julho (T02) e quatro em novembro (T03) do ano de 2008. Após a colheita, o sêmen foi avaliado visualmente quanto ao volume, aspecto e cor. Os resultados obtidos de volume foram submetidos à análise estatística pelos testes ANOVA de fatorial duplo, enquanto que o aspecto e a cor por comparação de proporções, para verificar possíveis diferenças entre os meses estudados para cada parâmetro. Não foram observadas diferenças estatísticas ( $P>0,05$ ) para o volume ejaculado em mL (março:  $0,69 \pm 0,26$ ; julho:  $0,73 \pm 0,26$ ; novembro:  $0,60 \pm 0,17$ ) nem para o aspecto e a cor, embora no mês de novembro (aspecto: 100% cremoso; cor: 100% marfim) e julho (aspecto: 83,30% cremoso; cor: 91,67% marfim) tenham se mostrado qualitativamente melhores do que o de março (aspecto: 75,00% cremoso; cor: 83,30% marfim). É válido ressaltar que não foi verificada diferença estatística ( $P>0,05$ ) entre os animais para cada momento estudado, permitindo agrupá-los para compor o fator mês. É descrito na literatura que em período de seca há a redução do volume seminal e elevação da concentração espermática do ejaculado, o que decorre da reduzida produção de plasma seminal pelas glândulas sexuais acessórias. Isto foi confirmado no presente estudo, visto que no mês de novembro, quando foi registrado pelo Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), apenas três dias de precipitação e temperatura média mensal de 30,8°C no município de Mogeiro, o sêmen coletado de todos os reprodutores ovinos manifestaram redução do volume, embora sem diferença estatística, bem como predominante coloração marfim e aspecto cremoso, indicativos da maior concentração espermática. Por meio dos relatos é possível concluir que os parâmetros seminais macroscópicos são susceptíveis às variações ambientais sofridas.

**Palavras-chave:** ambiente, carneiro, fertilidade, sêmen.

**Keywords:** *environment, sheep, fertility, semen.*

**Maturação *in vitro* de oócitos ovinos submetidos à criopreservação lenta**  
*In vitro maturation of cryopreserved ovine oocytes subjected to slow cryopreservation*

**Ney Rômulo de Oliveira Paula<sup>1</sup>, Leticia Soares de Araújo Teixeira<sup>2</sup>, Ana Lys Bezerra Barradas Mineiro<sup>1</sup>, Marlene Sipaúba de Oliveira<sup>2</sup>, Kenney de Paiva Porfirio<sup>2</sup>, Pedro Henrique Fonseca da Silva<sup>2</sup>, Francisco Felipe Ferreira Soares<sup>3</sup>, Misael das Virgens Santana<sup>3</sup>, Tuanny Creusa Medeiros Damasceno<sup>3</sup>, Clarissa de Castro e Braga<sup>4</sup>, Leonardo Lopes Furtado<sup>4</sup>, Janaína de Fátima Saraiva Cardoso<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Professores do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Piauí; <sup>2</sup>Pós-graduandos do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, Universidade Federal do Piauí; <sup>3</sup>Residentes do Programa de Residência Multiprofissional na Área de Reprodução Animal, Universidade Federal do Piauí; <sup>4</sup>Graduandos de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Piauí.

\*E-mail: neyromulo@ufpi.edu.br

A maturação *in vitro* de oócitos, consiste no desafio de desenvolver *in vitro* condições similares às encontradas no interior do ovário, possibilitando o desencadeamento da maturação nuclear e citoplasmática, tornando o oócito apto a ser fecundado. Além disso, nas biotecnologias de reprodução assistida, a criopreservação, tornou-se parte integrante, uma vez que favorece a preservação de material genético de animais superiores, favorecendo o melhoramento genético, assim como é uma importante alternativa na preservação do DNA de animais com risco de extinção. Nesse sentido, objetivou-se a avaliação da maturação *in vitro* de oócitos ovinos imaturos após criopreservação pelo método de congelamento lento. Para tanto, foram colhidos 160 ovários oriundos de 80 ovelhas púberes (SPRD) pertencentes a abatedouros localizados no município de Teresina, Piauí. Os ovários foram transportados para o laboratório em garrafa térmica, contendo solução salina fisiológica a 37 °C acrescida de 40mg/mL de sulfato de gentamicina. Posteriormente, foram aspirados por meio de um aspirador cirúrgico adaptado, contendo na extremidade de aspiração uma agulha 21G. Foram recuperados 180 CCO's, obtendo-se uma taxa de recuperação de 2,25 CCO's por par de ovários. Após seleção e classificação, os CCO's foram desnudados e, então, submetidos à congelamento lento em sistema automatizado (TK 3000<sup>®</sup>). Após o período mínimo de 30 dias, os oócitos foram descongelados. Ulteriormente, foram submetidos à maturação *in vitro* (MIV). Ao término de 24 horas da maturação *in vitro*, procedeu-se a avaliação da maturação nuclear em estereomicroscópio (4.5X). Os resultados foram avaliados através do teste Qui-quadrado de Pearson. Neste foi considerada diferença significativa quando  $P \leq 0,05$ . Por ocasião do processo de criopreservação, houve uma taxa de perda de 22,7% dos oócitos após descongelamento, devido principalmente a lesões de zona pelúcida e de oolema. Dessa forma, dentre os 139 oócitos submetidos a MIV, oito maturaram, obtendo-se uma taxa de maturação de 5,75% de oócitos com extrusão do primeiro corpúsculo polar. Estes resultados corroboram com outros estudos, nos quais foi evidenciado taxa inferior de oócitos maturados submetidos anteriormente a criopreservação quando comparado aos oócitos não criopreservados. Assim, conclui-se que a criopreservação lenta de oócitos ovinos imaturos apresenta influencia desfavorável na competência meiótica e conseqüentemente na maturação *in vitro*. Sendo relevante a realização de mais pesquisas relativas à técnica de congelamento lento para oócitos ovinos.

**Palavras-chave:** criopreservação, maturação *in vitro*, ovelha.

**Keywords:** cryopreservation, *in vitro* maturation, ovine.

## **Follicular population at the beginning of pFSH treatment in Morada Nova ewes submitted to estrous synchronization protocols by short- (6 days), medium- (9 days) or long-term (12 days)**

*População folicular no início do tratamento com pFSH em ovelhas Morada Nova submetidas a protocolos de sincronização de estro de curta (6 dias), média (9 dias) ou longa duração (12 dias)*

**Gabriel Brun Vergani<sup>1</sup>, Aline Matos Arrais<sup>2</sup>, Marco Roberto Bourg de Mello<sup>3</sup>, Jenniffer Hauschildt Dias<sup>4</sup>, Marco Antonio Paula de Sousa<sup>5</sup>, Maria Clara da Cruz Morais<sup>6,\*</sup>, Heloisa Coelho Ferreira<sup>7</sup>, Júlia Ribeiro Bevilacqua<sup>8</sup>, Maria Emilia Franco Oliveira<sup>9</sup>, Joanna Maria Gonçalves Souza-Fabjan<sup>10</sup>, Jeferson Ferreira da Fonseca<sup>11</sup>**

<sup>1</sup>Mestrando Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP, Brasil; <sup>2</sup>Doutoranda, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica - RJ, Brasil; <sup>3</sup>Professor associado, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, Brasil; <sup>4</sup>Doutoranda, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, Brasil; <sup>5</sup>Doutorando, Universidade Federal do Pará, Castanhal, PA, Brasil; <sup>6</sup>Graduanda, Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ, Brasil; <sup>7,8</sup>Graduanda, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP, Brasil; <sup>9</sup>Professora substituta, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP, Brasil; <sup>10</sup>Professora adjunta, Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ, Brasil; <sup>11</sup>Pesquisador, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Coronel Pacheco, MG, Brasil.

\*E-mail: mariaclaramorais@id.uff.br

The variability of superovulatory responses is still a limiting factor for the consolidation of commercial embryo transfer programs in small ruminants (Bartlewski et al. 2016. *Theriogenology*, 86: 130-143). Superovulation protocols are traditionally performed with prior use of progesterone devices for short- or long-term duration (Oliveira et al. 2014. *Anim Reprod Sci*, 144: 30-37) associated exogenous FSH administration. The presence of dominant follicles in the ovary at the beginning of FSH treatment is detrimental to the growth of the other follicles, in addition, a greater number of antral follicles is required to have a bigger superovulatory response (Fonseca et al., 2010 *Acta Sci Vet*, 38: 337-369). In this context, the objective of this study was to evaluate the follicular population at the beginning of pFSH treatment in Morada Nova sheep submitted to different estrous synchronization protocols (short- 6 days, medium- 9 days or long-term -12 days duration). Thirty-six Morada Nova ewes received intravaginal acetate medroxyprogesterone sponge (60 mg of MAP, Progespon<sup>®</sup>, Zoetis, Campinas, São Paulo, Brazil), which remained for six, nine or 12 days according the three groups (G6, G9 and G12, n = 12/each group). At the time of the first pFSH injection (60 h before the MAP sponge removal), the follicular populations were assessment by B-mode transrectal ultrasonography (7.5 MHz linear transducer; M5 Vet®, Mindray, Shenzhen, China). Data were compared by the Kruskal-Wallis test, when the normality of data was not observed. For the dichotomous variable was used Fisher's exact test. All results were expressed as mean  $\pm$  standard error. The P value  $<0.05$  was considered statistically significant. The presence of dominant follicles ( $\geq 5$  mm) was observed in 41% (5/12), 58% (7/12) and 25% (3/12) of G6, G9 and G12 females, respectively ( $P>0.05$ ). The number of dominant follicles ( $\geq 5$  mm) was higher ( $P=0.009$ ) for G6 ( $1.8 \pm 0.12$ ) when compared to G9 ( $1.0 \pm 0.0$ ) and G12 ( $1.0 \pm 0.0$ ). However, the number of small/medium follicles (2 - 4.9 mm) ( $3.5 \pm 0.31$ ,  $2.83 \pm 0.36$  and  $4.36 \pm 0.6$ ) and the total number of follicles ( $6.9 \pm 0.9$ ,  $6.1 \pm 0.66$  and  $5.5 \pm 0.60$ ) did not differ between G6, G9 and G12, respectively. It is concluded that the ovarian follicular population observed at the beginning of pFSH treatment is more satisfactory (i.e high number of small follicles and reduced or absent dominant follicles) in estrous synchronization protocols with progestogen by medium- (9 days) and long-term (12 days). It is expected that these protocols will be associated with better superovulatory responses and embryo production of Morada Nova sheep. Financial support: Embrapa (02.13.06.026.00.04) and Fapemig (CVZ-PPM 00201-17)

**Keywords:** progesterone, superovulation, ovarian population, ovine.

**Palavras-chave:** progesterona, superovulação, população ovariana, ovinos.



## **Effect of luteal blood flow and number of corpora lutea on the pregnancy rate after fixed-time embryo transfer of cryopreserved embryos in Lacaune recipients evaluated by Color Doppler ultrasonography**

*Efeito do fluxo sanguíneo luteal e número de corpos lúteos na taxa de gestação após transferência em tempo fixo de embriões criopreservados em receptoras Lacaune avaliadas por ultrassonografia com Doppler Colorido*

**Lucas Machado Figueira<sup>1,\*</sup>, Nadja Gomes Alves<sup>2</sup>, Fernanda Alves Lucas<sup>3</sup>, Joanna Maria Gonçalves Souza-Fabjan<sup>4</sup>, Ribrio Ivan Tavares Pereira Batista<sup>5</sup>, Aline Mattos Arrais<sup>6</sup>, Gabriel Brun Vergani<sup>7</sup>, Jader Forquim Prates<sup>8</sup>, Jeferson Ferreira da Fonseca<sup>9</sup>**

<sup>1</sup>Doutorando do PPGZ/UFLA, Lavras, MG; <sup>2</sup>Professora do DZO/UFLA, Lavras-MG; <sup>3</sup>Graduanda em Medicina Veterinária/UFLA, Lavras-MG; <sup>4</sup>Professora adjunta MCV/UFF, Niterói-RJ; <sup>5</sup>Professor da UFVJM, Diamantina-MG; <sup>6</sup>Doutoranda UFRRJ, Seropédica-RJ; <sup>7</sup>Mestrando UNESP, Jaboticabal-SP; <sup>8</sup>Graduando em Zootecnia, IFSUDESTEMG, Rio Pomba-MG; <sup>9</sup>Pesquisador da Embrapa Caprinos e Ovinos, Coronel Pacheco-MG.

\*E-mail: lucasmachadofigueira@hotmail.com

The Doppler ultrasonography allows the characterization of blood flow and estimation of the functionality of reproductive organs. Therefore, it shows a great potential for use in multiple ovulation and embryo transfer (MOET) programs in ruminants. This study aimed to assess the effect of luteal blood flow and number of corpora lutea (CL) at the moment of embryo transfer to recipient on the establishment of pregnancy in sheep. Sixty-three nulliparous (body weight of  $46.7 \pm 8.3$  kg) received intravaginal sponges (60 mg MAP, Progespon<sup>®</sup>, Syntex, Buenos Aires, Argentina) for six days, i.m. injections of 37.5 µg d-clospirostenol (Prolise<sup>®</sup>, Tecnopec, São Paulo, Brazil) and 200 IU eCG (Folligon 5000IU<sup>®</sup>, Intervet, São Paulo, Brazil) 24 h before sponge withdrawal (Day 0). Ovarian ultrasonography (Mindray M5VET<sup>®</sup>, Shenzhen, China – 8.0 MHz) was performed on day 7 to check the number and position of CL, and the qualitative (subjective) evaluation of luteal blood flow (LBF) in scores 1 to 4 (quartiles: 0-25%, >25-50%, >50-75%, >75-100%, respectively). The recipients that presented CL (92%; 58/63) were subjected to embryo transfer by the semi-laparoscopic technique on day 8.5, with the embryo deposition on the *ipsilateral* uterine horn to CL (Fonseca et al., 2018. Arq Bras. Med Vet Zootec, 70:1489-1496). Each recipient received randomly one or two cryopreserved embryos (grade I and/or grade II). The pregnancy diagnosis was performed on day 31. In data analysis, number of CL and LBF were binarized in <2 or ≥2. Data were analyzed by generalized linear models (GLM), using PROC GLIMMIX, with binomial distribution and logit link function by the software SAS<sup>®</sup> (SAS Inst., Cary, NC, USA). Overall, the CL count was  $1.3 \pm 0.6$  and the pregnancy rate did not differ ( $P > 0.05$ ) regarding to the number of CL (26%, 24% and 37% for 1, 2 or 3 CL, respectively). The percentage of CL with LBF score 1, 2 and 3 was 67%, 31% and 2%, respectively. Pregnancy rate did not differ ( $P > 0.05$ ) between LBF 1 (30%) compared to the scores >2 (2 and 3: 19%). Pregnancy rate in recipients that presented ≥2 CL and/or LBF ≥2 (which would suggest higher plasma progesterone concentrations) did not differ ( $P > 0.05$ ) to those that had just one CL and LBF 1 (30% vs 21%, respectively). The future use of Doppler US to sheep recipient selection in MOET programs will depend of quantitative evaluation and definition of LBF classes that better represent the greater possibility of pregnancy establishment. In conclusion, both the subjective luteal blood flow and the number of CL did not influence the pregnancy rate in recipients of the Lacaune breed. Financial support: Embrapa (02.13.06.026.00.05) and Fapemig (CVZ-PPM 00201-17), CAPES.

**Keywords:** biotechnology of reproduction, MOET, ruminants.

**Palavras-chave:** biotecnologia da reprodução, MOTE, ruminantes.



## **Associação do GnRH, ocitocina e a prostaglandina não determina diminuição no estímulo durante o processo de eletroejaculação em carneiros**

*Association of GnRH, oxytocin and prostaglandin does not decrease the stimulus during the electroejaculation process in sheep*

**Daniel Andrews de Moura Fernandes<sup>1\*</sup>, Marta Maria Campos Pereira da Costa<sup>1</sup>, Clara Vieira de Souza<sup>1</sup>, Caroline Gomes do Espírito Santo<sup>1</sup>, Juliana Dantas Rodrigues Santos<sup>1</sup>, Augusto Taira Ryonosuke<sup>1</sup>, Vanessa Moreira Barbosa dos Santos<sup>1</sup>, André Luis Rios Rodrigues<sup>2</sup>, Rodolfo Ungerfeld<sup>3</sup>, Felipe Zandonadi Brandão<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ, Brasil; <sup>2</sup>Professor da Faculdade de Veterinária da Universidade de la Republica, Uruguay.

\*E-mail - daniel\_andrews\_2@yahoo.com.br

A eletroejaculação (EE) é uma técnica comumente utilizada para a coleta de sêmen na espécie ovina, no entanto, esta gera estresse e dor durante o procedimento. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da associação do GnRH (4,2µg/animal), da prostaglandina (250µg/animal-d-cloprostenol) e da ocitocina (10UI/animal) com o intuito de diminuir a quantidade de estímulos elétricos por meio da EE sem alterar a qualidade do sêmen. Para tal, foram avaliados quatro grupos experimentais:  $G_{\text{controle}}$  = salina;  $G_{\text{OX+PGF}_{2\alpha}}$  =  $\text{PGF}_{2\alpha}$  + Ocitocina;  $G_{\text{GnRH}}$  = GnRH;  $G_{\text{OX+PGF}_{2\alpha}+\text{GnRH}}$  = GnRH +  $\text{PGF}_{2\alpha}$  + Ocitocina. Foram utilizados 15 carneiros púberes da raça Santa Inês. Para coleta do sêmen foram determinados quatro ciclos de estímulos, cada um, com dez pulsos, e aumento de 1 volt a cada ciclo. Os estímulos foram iniciados com 2 volts e chegando no máximo à 5 volts. Uma vez que o animal terminava a ejaculação o procedimento era finalizado. Foram avaliadas as seguintes respostas: quantidade de pulso administrado, tempo de EE, número de vocalizações e avaliação espermática (volume ejaculado, turbilhonamento, total de espermatozoide no ejaculado, motilidade espermática total e progressiva). Não houve efeito do tratamento nas respostas avaliadas ( $P>0,05$ ), sendo: total de pulsos administrados ( $2,87 \pm 1,90$  vs  $5,56 \pm 1,90$  vs  $4,74 \pm 1,90$  vs  $2,10 \pm 1,90$ ), tempo de EE (segundos) ( $94,67 \pm 16,43$  vs  $125,40 \pm 16,43$  vs  $125,40 \pm 16,43$  vs  $127,53 \pm 16,43$ ) e número de vocalizações ( $13,07 \pm 1,92$  vs  $15,80 \pm 1,92$  vs  $15,20 \pm 1,92$  vs  $16,40 \pm 1,92$ ), respectivamente para  $G_{\text{controle}}$ ,  $G_{\text{OX+PGF}_{2\alpha}}$ ,  $G_{\text{GnRH}}$  e  $G_{\text{OX+PGF}_{2\alpha}+\text{GnRH}}$ . Quanto a avaliação espermática, também não foram observados efeitos para os seguintes parâmetros: volume ejaculado (mL) ( $1,97 \pm 0,26$  vs  $1,57 \pm 0,26$  vs  $2,08 \pm 0,27$  vs  $2,02 \pm 0,27$ ), turbilhonamento (0-5) ( $3,67 \pm 0,28$  vs  $2,93 \pm 0,28$  vs  $3,36 \pm 0,29$  vs  $3,21 \pm 0,29$ ), total de espermatozóide no ejaculado ( $\times 10^6$ ) ( $5517,21 \pm 1765,58$  vs  $4022,13 \pm 1765,62$  vs  $7113,80 \pm 1818,20$  vs  $6824,98 \pm 1814,38$ ), motilidade total (%) ( $96,47 \pm 3,85$  vs  $91,25 \pm 3,85$  vs  $1,37 \pm 3,99$  vs  $96,31 \pm 3,99$ ), motilidade progressiva (%) ( $34,93 \pm 2,47$  vs  $32,69 \pm 2,47$  vs  $31,11 \pm 2,55$  vs  $30,48 \pm 2,55$ ), na mesma ordem anterior. Conclui-se que o uso do GnRH associado a prostaglandina e ocitocina não determinou na diminuição da quantidade de pulsos elétricos administrados nos carneiros.

Palavras-chave: ovinos, reprodução, biotecnologias, bem estar animal.

*Keywords: sheep, reproduction, biotechnology, animal welfare.*