



## **Análise transplacentária da homeostase oxidativa materno-fetal em cadelas**

*Placental influence on maternal-fetal oxidative homeostasis in dogs*

**Marcella A. Cebim<sup>1</sup>, Camila Infantosi Vannucchi, Leticia L. Almeida, Roberto R. da Rosa Filho**

<sup>1</sup>Departamento de Reprodução Animal. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. São Paulo, SP, Brasil

\*E-mail: marcella\_cebim@usp.br

Para o feto, a placenta é o órgão responsável pela oxigenação e passagem de nutrientes, além do papel antioxidante, impedindo a passagem dos agentes pró-oxidativos para a circulação fetal. Entretanto, não é sabido a influência placentária diretamente nos sistemas de defesas antioxidantes contra o excesso de radicais livres. Em medicina, a suplementação materna perinatal com antioxidantes tem como objetivo melhorar a adaptação pulmonar durante a transição feto-neonatal e minimizar os danos causados pela oxigenioterapia. Portanto, o objetivo deste estudo é avaliar o conteúdo placentário, neonatal e materno de enzimas antioxidantes e estresse oxidativo na suplementação antenatal com diferentes doses de glutathione reduzida (GSH). Para tanto, 12 fêmeas gestantes foram submetidas à cesariana eletiva a termo e alocadas em 4 grupos experimentais conforme a concentração de GSH administrada no momento pré-cirúrgico: Grupo controle (fêmeas para as quais foi administrada solução placebo), Grupo 5 (fêmeas para as quais foi administrada 5 mg/kg de GSH), Grupo 10 (dose de 10 mg/kg) e Grupo 20 (20 mg/kg). Foram coletadas amostras de sangue das fêmeas (n=12) e dos neonatos (n=24) ao nascimento, além das respectivas placentas para determinação do perfil antioxidante e oxidativo. Para o perfil antioxidante, foi feita a dosagem das enzimas glutathione peroxidase (GPx) e superóxido dismutase (SOD), atividade da glutathione redutase (GSH) e capacidade antioxidante total (TAC), enquanto a avaliação do estresse oxidativo foi realizada por peroxidação lipídica e proteica. Os dados foram analisados pelo teste LSD e correlação de Spearman em  $P < 0.05$ . Para a avaliação materna, o grau de peroxidação lipídica foi superior no Grupo 20 em comparação aos demais grupos, indicando que diferentes doses de suplementação com GSH não reduzem o estresse oxidativo materno. Na placenta, o Grupo 10 apresentou menor atividade da enzima glutathione peroxidase (GPx) em comparação aos demais grupos. Ainda, no Grupo 5, foi observada correlação positiva entre o estresse oxidativo placentário e a atividade da SOD de origem neonatal, indicando permeabilidade do tecido placentário às substâncias pró-oxidativas. Os neonatos do Grupo 10 apresentaram maior TAC e a atividade da GSH foi superior ao Grupo 5, porém, sem diferença com os demais. Foi observada correlação negativa entre o estresse oxidativo neonatal e a atividade da SOD de origem materna. Ainda, a concentração neonatal de SOD correlacionou negativamente com o estresse oxidativo, sugerindo que o controle das reações oxidativas inicia-se pela concentração de SOD materna, reduzindo o estresse oxidativo nos neonatos. No Grupo 10, foi observada correlação positiva entre a atividade placentária da enzima SOD e a atividade neonatal da GPx. No Grupo 20, foi observada correlação positiva entre a oxidação proteica de origem placentária e a atividade materna da SOD e da GSH de origem neonatal. Ainda, houve correlação positiva entre a concentração placentária de GPx e a atividade neonatal da SOD. Em conclusão, a placenta canina exerce influência sobre o transporte materno-fetal e bio-transformação das enzimas antioxidantes e da glutathione de forma dose-dependente. Por outro lado, a passagem transplacentária de agentes oxidativos ocorre de maneira mais ativa e concentrações excessivas da suplementação materna de GSH apresentam atividade pró-oxidativa.

**Palavras-chave:** placenta, glutathione, estresse oxidativo, neonato.

**Keywords:** placenta, glutathione, oxidative stress, neonate.



## Evaluation of the serum starvation method on the cycle synchronization in $G_0/G_1$ phase of skin fibroblasts from six-banded armadillos

*Avaliação do método de privação de soro na sincronização do ciclo em  $G_0/G_1$  de fibroblastos oriundos da pele de tatus-pebas*

João Vitor da Silva Viana<sup>1\*</sup>, Denilsa Pires Fernandes<sup>1</sup>, Luanna Lorena Vieira Rodrigues<sup>1</sup>, Lhara Ricarliany Medeiros de Oliveira<sup>1</sup>, Carlos Iberê Alves Freitas<sup>2</sup>, Sarah Leyenne Alves Sales<sup>3</sup>, Claudia Pessoa<sup>3</sup>, Alessandra Fernandes Pereira<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Biotecnologia Animal, Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró/RN, Brasil;

<sup>2</sup>Laboratório de Estudos em Imunologia e Animais Silvestres, Universidade Federal Rural do Semi-Árido,

Mossoró/RN, Brasil; <sup>3</sup>Laboratório de Oncologia Experimental, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza/CE, Brasil

\*E-mail: joaovitorvianajr@gmail.com

Cloning by somatic cell nuclear transfer (SCNT) is an interesting and promising reproductive biotechnology for multiplication and conservation of wild species with great ecological and scientific value, such as six-banded armadillos. For the establishment of the technique, the somatic cells must be correctly synchronized in  $G_0/G_1$ . For this, the serum starvation had been highlighted due the efficiency; nevertheless, the results vary as does the treatment time and the impact on cell viability. Therefore, we aimed to evaluate the serum starvation method on cycle synchronization in  $G_0/G_1$  phase of skin fibroblasts from six-banded armadillos. Initially, skin biopsies on the ear region were performed on five six-banded armadillos and the samples were cultured on minimal essential medium modified by Dulbecco (DMEM) supplemented with 10% fetal bovine serum and 2% penicillin and streptomycin solution at 38.5 °C and 6.5% CO<sub>2</sub>. On fourth passage and after 60–70% confluence, the isolated fibroblasts were randomly divided into groups: (i) control group (non-synchronized cells), (ii) serum starvation (0.5%) for 24 h (SS24), and (iii) serum starvation (0.5%) for 72 h (SS72). Following, the cells were submitted to trypan blue viability assay and the phase cell cycle were determined by flow cytometry. For each sample, 15,000 events were recorded, and histograms generated to evaluate the percentage of cells in each phase of the cell cycle ( $G_0/G_1$ , S,  $G_2/M$ ) using MODFIT software version 5.0. Data were expressed as mean  $\pm$  standard error, analyzed by ANOVA followed by Tukey test ( $P < 0.05$ ). The results indicate that the cell viability did not differ among treatment by 24 h ( $91.2\% \pm 6.1$ ) and 72 h ( $72.2\% \pm 14.7$ ), when compared to control ( $96.3\% \pm 2.9$ ). Interestingly, we observed a great increase in synchronized cells in  $G_0/G_1$  after the treatment with SS, in which SS72 group showed the highest percentage of synchronized cells ( $90.5\% \pm 0.8$ ), the SS24 group showed  $86.1\% \pm 0.9$ , while the control group had  $69.7\% \pm 0.8$ . Moreover, SS24 and SS72 groups decreased the number of cells in S phase of  $9.5\% \pm 1.2$  and  $8.4\% \pm 0.7$ , respectively, in comparison with control ( $27.7\% \pm 0.8$ ). No alterations were observed in the percentage of  $G_2/M$  phase between treated and non-treated groups. In conclusion, the SS method was successful in the six-banded armadillos fibroblast synchronization, and the serum starvation for 72 h were more suitable due to the highest proportion of synchronized cells in  $G_0/G_1$  and no alterations in cell viability. These results can benefit in preparing donor karyoplasts for SCNT in this species.

**Palavras-chave:** *carioplastos; transferência nuclear de células somáticas; citometria de fluxo.*

**Keywords:** *karyoplasts; somatic cell nuclear transfer; flow cytometry.*



## Effects of human Chorionic Gonadotropin administered by intravaginal or intramuscular route on Day-7 estrous cycle on luteal dynamics and plasma progesterone concentration in dairy goats

*Efeito da Gonodotrofina Coriônica humana administrada por via intravaginal ou intramuscular no sétimo dia do ciclo estral sobre a dinâmica luteal e a concentração plasmática de progesterona em cabras leiteiras*

**Matheus Modesto do Amaral<sup>1</sup>, Juliana Nascimento Duarte Rodrigues<sup>2</sup>, Pollyanna Cordeiro Souto<sup>2</sup>, João Marcos do Couto Silva<sup>3</sup>, Weller Rodrigues da Cruz<sup>3</sup>, Felipe Zandonadi Brandão<sup>4</sup>, Maria Emilia Franco Oliveira<sup>4,5</sup>, Jeferson Ferreira da Fonseca<sup>6</sup>.**

<sup>1</sup>Graduando em Medicina Veterinária, Centro Universitário Presidente Antônio Carlos – UNIPAC, Juiz de Fora-MG, Brasil; <sup>2</sup>Doutora em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, Brasil; <sup>3</sup>Graduando em Medicina Veterinária, Universidade Salgado de Oliveira - UNIVERSO, Juiz de Fora-MG, Brasil; <sup>4</sup>Escola de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ, Brasil; <sup>5</sup>Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP, Brasil; <sup>6</sup>Pesquisador, Embrapa Caprinos e Ovinos, Coronel Pacheco-MG, Brasil

\*Email: matheusmodesto.m@gmail.com

Inadequate levels of progesterone (P4) has been associated to 30-40% of embryonic deaths in goats and sheep, due this hormone to be essential for the pregnancy establishment in mammals. In this way, several strategies are studied to increase P4 and reduce embryonic losses in goats, including human chorionic gonadotropin (hCG) used at different times of the estrous cycle (Fonseca et al., Rev. Bras. Reprodução Anim., 45:309-317, 2021). The objective was to evaluate the effect of hCG administered by different routes (intramuscular or intravaginal) on the seventh day after the estrus on the original (oCL) and accessory corpora lutea (aCL) and the progesterone (P4) concentrations in dairy goats submitted to estrus induction by artificial light treatment plus hormonal protocol. Saanen goats (n = 26) were subjected to 16 h of light and 8 h of darkness for 60 days, beginning 10 days after the winter solstice. Seventy days after the end of artificial light treatment, all goats received two 120.5 µg cloprostenol doses (Estron®, Agener União, São Paulo, Brazil) 7.5 days apart. Seven days after estrus onset (D0) goats were randomly allocated to one of the three groups that received: Control (n=8): 0.3 mL of saline solution intravaginally; hCG<sub>i.m.</sub> (n=9): 300 IU of hCG (Vetecor®; Hertape-Calier, São Paulo, Brazil) i.m.; or hCG<sub>i.vag.</sub> (n=9): 300 IU of hCG deposited intravaginally. Transrectal ovarian ultrasonography and blood collection were done on Days 7 (D7), 10 (D10), 13 (D13), 17 (D17) and 21 (D21) of estrous cycle. Quantitative (mean±S.E.M.) and qualitative data were subjected to ANOVA (Tukey test) and Fisher Exact Test at 5% minimum significance. The percentual of aCL was superior (P<0.01) in hCG<sub>i.m.</sub> (88.9%) than in hCG<sub>i.vag.</sub> (11.1%) and Control (0.0%) animals. There was an increase (P<0.05) of oCL area in hCG<sub>i.m.</sub> on D13 in relation to hCG<sub>i.vag.</sub> and Control groups. From D7 to D8 (one day of treatment), there was no luteal growth in the control group, while there was a growth of 63.7 and 34.7% of luteal area in the hCG<sub>i.m.</sub> and hCG<sub>i.vag.</sub>, respectively (P<0.05). The P4 concentrations on D17 were greater (P<0.05) in the hCG<sub>i.m.</sub> (4.9±0.6 ng/mL) compared with hCG<sub>i.vag.</sub> (3.5±0.6 ng/mL) and Control (1.8±0.7ng/mL) animals. The hCG administered by i.m. route on seventh days of estrous cycle confirmed its potential luteotropic effects, while intravaginal route showed limited effects in dairy goats submitted to artificial light treatment followed by estrus synchronization protocol.

Financial support: CNPq (4039092021-0); FAPEMIG PPM-00201-17.

**Palavra-chave:** hCG; fotoperíodo artificial; sincronização do estro; dinâmica ovariana.

**Keywords:** hCG; artificial photoperiod; estrus synchrony; ovarian dynamics.



## A hemodinâmica e ecogenicidade testicular são alteradas pelo fotoperíodo em machos equinos?

*Are the testicular hemodynamics and echogenicity altered by photoperiod in male horses?*

**Luiza Vitarelli Kladt<sup>1\*</sup>, Cristian Silva Teixeira<sup>2</sup>, Marcela Souza e Freitas<sup>2</sup>, Matheus Vilela Albino<sup>2</sup>, Tiago Martins Tibúrcio<sup>3</sup>, Davi Nunes Leandro Silva<sup>□</sup>, Yamê Fabres Robaina Sancler-Silva<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, Brasil; <sup>2</sup>Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, Brasil; <sup>3</sup>Facisa/Univiçosa, Viçosa, MG, Brasil; <sup>□</sup>Departamento de Agronomia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

\*E-mail: luiza.kladt@ufv.br

O equino é considerado uma espécie estacional, assim, as mudanças de comprimento do dia ao longo do ano podem influenciar seu funcionamento gonadal. A ultrassonografia é uma ferramenta que permite um diagnóstico não invasivo e rápido, possibilitando estudos da anatomia, ecogenicidade e mensuração do volume testicular. Quando associada ao modo Doppler-espectral possibilita, ainda, a avaliação da perfusão sanguínea testicular, permitindo avaliar o bom funcionamento dos testículos e epidídimos. Objetivou-se nesse estudo avaliar o efeito da sazonalidade na ecogenicidade e na perfusão sanguínea testicular. Foram utilizados no total 7 equinos machos hípidos, com idade entre 4 e 18 anos, localizados na Unidade de Ensino, Pesquisa e Extensão em Equideocultura da Universidade Federal de Viçosa. As avaliações foram realizadas durante o inverno (em Agosto) e verão (em Janeiro). Para a avaliação da ecogenicidade testicular, foi utilizado ultrassom modo-B Z5Vet (Mindray<sup>®</sup>), com probe linear de 7,5 MHz e as imagens resultantes foram avaliadas via software ImageJ<sup>®</sup> em escala numérica de 255 mil tons de cinza. A perfusão testicular foi avaliada pelo modo Doppler-espectral do mesmo equipamento, mediante mensuração do índice de resistividade (RI), índice de pulsatilidade (PI), média da velocidade máxima (TAMAX) e média da velocidade média (TAMEAN) em dois diferentes pontos da artéria testicular, localizada na região do cordão espermático (ACE) e próxima ao polo caudal testicular (APC). Todas as comparações entre médias foram avaliadas pelo teste t do software GraphPad, sendo consideradas diferenças quando  $p < 0,05$ . O TAMAX ( $\mu\text{m/s}$ ) diferiu na região APC ( $p=0,0269$ ) entre as estações, sendo maior no inverno ( $8,273 \pm 0,4029$ ) em relação ao verão ( $7,169 \pm 0,2307$ ). Já o PI ( $p=0,0246$ ) foi menor no inverno ( $1,467 \pm 0,1354$ ) em relação ao verão ( $1,846 \pm 0,1346$ ), na região APC. As demais variáveis não apresentaram diferença entre as estações do ano. Estudos realizados no hemisfério norte mostraram que a perfusão sanguínea testicular diminui fora da estação reprodutiva. De forma oposta o presente estudo evidenciou um decréscimo do PI e o aumento da velocidade do fluxo sanguíneo durante o período de inverno. Esse resultado pode estar relacionado aos menores efeitos da sazonalidade no hemisfério sul e possivelmente a um mecanismo compensatório para manutenção da termorregulação testicular. Em conclusão, este estudo inicial indica que há variações hemodinâmicas testiculares em machos equinos durante as diferentes estações do ano no hemisfério sul, mas a ecogenicidade não é afetada pelo fotoperíodo.

**Palavras-chave:** sazonalidade, garanhão, ultrassonografia Doppler, testículo

**Keywords:** seasonality, stallion, Doppler ultrasonography, testicle



## Dinâmica da contaminação bacteriana no ejaculado suíno em centros de disseminação genética

*Dynamics of bacterial contamination in swine ejaculate in genetic dissemination centers*

Jean Carlo Volpato Faccin<sup>1\*</sup>, José Victor Cardoso Braga<sup>2</sup>, Ricardo Zanella<sup>3</sup>, Raquel Rebelatto<sup>4</sup>, Vitor Hugo Grings<sup>4</sup>; Jalusa Deon Kich<sup>1,4</sup>; Marques Groke Marques<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Produção e Sanidade Animal, Instituto Federal Catarinense; <sup>2</sup>Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade Federal de Pelotas; <sup>3</sup>Programa de Pós-Graduação em Bioexperimentação, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Passo Fundo; <sup>4</sup>Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC

\*E-mail: jcvfaccin@gmail.com

A inseminação artificial (IA) em suínos é utilizada no Brasil em mais de 90% das granjas devido as vantagens na rapidez da atualização genética e maior status sanitário em relação a monta natural. No entanto, a eficiência da IA como ferramenta de biossegurança depende da saúde dos reprodutores e da higiene no processo de coleta e processamento do sêmen. A contaminação bacteriana das doses inseminantes (DI), além do impacto negativo na fertilidade, pode causar a disseminação entre as centrais de coleta e granjas. Soma-se a isso, a possibilidade da presença de bactérias resistentes nos planteis. Estas albergam determinantes de resistência antimicrobiana, genes e plasmídeos, que também são disseminados pela DI. Neste contexto, o objetivo deste estudo foi quantificar e identificar as principais bactérias cultiváveis presentes nas DIs, desde sua produção (sêmen, água e diluidor) e após a produção em dois períodos de armazenamento sob refrigeração entre 15-18°C. Para isso, foram coletadas amostras de ejaculados de 5 cinco centrais, sendo 6 machos por central em 5 visitas com intervalos de um mês. As amostras foram coletadas de ejaculados aprovados pelo sistema de qualidade da central para produção de DIs, sendo coletadas amostras de: água (25), diluidor (25), sêmen puro (150), sêmen diluído (150), sêmen refrigerado por 24 horas (150) e 120 horas (150). As amostras foram semeadas em meio de cultura PCA e incubadas por 24 horas a 37°C para contagem das unidades formadoras de colônia (UFC) e nos meios de cultura Agar MacConkey e Agar Sangue por 48 horas a 37°C para o isolamento bacteriano. Os isolados foram submetidos a testes morfológicos e bioquímicos para caracterização. Das amostras de água, 44% apresentaram crescimento bacteriano com média de  $0,86 \pm 0,02$  log UFC/mL, tendo sido isolados Bastonetes G- em 66,67%, Cocobacilos G- e *Staphylococcus* spp. em 16,67% das colônias. Após a adição do diluente de sêmen, 19,04% apresentaram crescimento, com média de  $0,03 \pm 0,01$  log UFC/mL e foram isolados apenas Bastonetes G- e *Staphylococcus* spp. (50%). Houve crescimento bacteriano em 88,66% das amostras de sêmen puro; 21,3% das amostras de sêmen recém diluído, 10,66% das amostras após 24 horas e 20% das amostras após 120 horas. As médias de log UFC/ml para os pontos avaliados descritos acima foram:  $2,07 \pm 0,10$ ;  $0,16 \pm 0,05$ ;  $0,09 \pm 0,02$  e  $0,26 \pm 0,07$ , respectivamente, sendo a média do sêmen puro maior que os demais grupos ( $p < 0,05$ ) após o teste Anova para medidas repetidas. O grupo recém diluído e 120 horas não diferiram entre si, no entanto, o grupo 24 horas apresentou menores médias que o armazenado por 120 horas. Estes resultados demonstram que os antimicrobianos presentes no diluidor foram parcialmente capazes de eliminar as bactérias, porém as resistentes, após maior período de tempo, voltam a crescer em concentrações detectáveis pelo cultivo *in vitro*. Nas amostras de sêmen puro foram isolados com maior ocorrência Cocobacilos G- (18,89%); Bastonetes G- (18,33%) e *Staphylococcus* spp. (17,22%) e após a diluição do sêmen, Cocobacilos G- (42,31%); Bastonetes G+ (23,08%) e *Streptococcus* sp. (11,54%). Após 24 horas foram isolados Bastonetes G- (27,27%), *Staphylococcus epidermidis* e *Staphylococcus* spp. (18,18%); e após 120 horas Cocobacilos G- e Bastonetes G- (30,43%) e *Proteus mirabilis* e *Staphylococcus* spp. (13,14%). Assim, pode-se concluir que uma ampla variedade de isolados podem ser encontrados tanto no ejaculado quanto no sêmen já diluído e envasado, enfatizando a necessidade da higiene durante a coleta e processamento do sêmen. Observa-se também que, mesmo na presença de antimicrobianos presentes nos diluidores, há crescimento bacteriano em todos os pontos amostrados, indicando presença de bactérias resistentes.

**Palavras-chave:** inseminação, suinocultura, sêmen, microrganismos.

**Key-words:** insemination, pig farming, semen, microorganisms.



## **Uso da microscopia eletrônica de transmissão para avaliar a cromatina espermática bovina de amostras de sêmen infectadas por antígenos solúveis de *Toxoplasma gondii***

*Using transmission electron microscopy to assess bovine sperm chromatin of semen samples infected with soluble Toxoplasma gondii antigens*

**Marcela Montenegro de Medeiros Coelho<sup>1</sup>, Kelvin Orlando Espinoza Blandon<sup>2</sup>, Tiago Wilson Patriarca Mineo<sup>3</sup>, Marcelo Emílio Beletti<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Graduação em Medicina Veterinária; <sup>2</sup> Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas; <sup>3</sup> Instituto de Ciências Biomédicas – UFU, Uberlândia, MG, Brasil

\*E-mail: marcelammcoelho@gmail.com

A infecção por *Toxoplasma gondii* traz perdas econômicas na pecuária devido à sua associação com diversos distúrbios reprodutivos. A presença do antígeno de *T. gondii* no sêmen bovino tem sido relatada em estudos como uma possível causa de alteração da integridade da cromatina espermática, podendo inviabilizar o processo da união dos pró-núcleos masculinos e femininos, senão mais na frente, no desenvolvimento embrionário ou ainda levando à alterações genéticas variadas em neonatos. O ciclo de vida desse parasito intracelular obrigatório tem como hospedeiro definitivo, onde vive sua fase sexuada, as células do epitélio intestinal do gato e outros felinos, e como hospedeiro intermediário, onde vive sua fase assexuada, variados tecidos de aves e mamíferos, inclusive as células germinativas. Estão disponíveis diversos métodos para avaliar a compactação da cromatina, sendo bastante eficiente o de avaliação em microscopia eletrônica de transmissão (MET), por permitir uma avaliação menos subjetiva das alterações da cromatina. O objetivo deste trabalho foi identificar por meio de MET tais alterações da cromatina causadas por contaminação *in vitro* do sêmen bovino com antígenos solúveis de *T. gondii*. Nesse estudo as amostras de sêmen foram tratadas com antígenos solúveis de *T. gondii* por uma hora, a 37°C, 5% de CO<sub>2</sub>, em quatro concentrações em meio “sperm-talp”: sem antígeno (controle), baixa (2 µg/ml), média (4 µg/ml) e alta (8 µg/ml). Foram consideradas três classificações de cromatina: intacta, com alterações leves (descompactações pontuais) e alterações graves (descompactações extensas), e usado o teste exato de Fisher para comparação estatística entre os quatro tratamentos. As análises demonstraram que, quanto à classificação de cromatina intacta, somente a alta concentração de antígenos obteve diminuição dessa porcentagem de espermatozoides. Na classificação de alterações leves, a concentração baixa de antígenos mostrou menor porcentagem de alterações comparada aos outros tratamentos. Já na classificação de alterações graves, todas as concentrações de antígeno, baixa, média e alta, obtiveram aumento em relação ao controle. As alterações graves de cromatina muitas vezes levam às alterações morfológicas da cabeça do espermatozoide, comprometendo sua motilidade e capacidade fecundante, e as leves levam à fragmentação do DNA, podendo causar problemas desde à formação do zigoto até aborto tardio ou reabsorção fetal, ou até proles com problemas genéticos. Os resultados desse trabalho elucidam que touros infectados com *T. gondii* podem apresentar problemas nos espermatozoides, inclusive na cromatina espermática, comprometendo a fertilidade destes reprodutores e contribuindo com a incidência de perdas embrionárias no rebanho.

**Palavras-chave:** DNA, descompactação, bovinos, *Toxoplasma gondii*, espermatozoide

**Keywords:** DNA, decondensation, bovine, *Toxoplasma gondii*, sperm





## **Avaliação de parâmetros reprodutivos e caracterização morfológica da placenta de camundongos gestantes deficientes do ‘fator de troca de nucleotídeos guanina para a proteínas Ras’ RasGEF1b**

*Evaluation of reproductive parameters and morphological characterization of the placenta of female mice knockout for the gene RasGEF1b*

**Saffir Dominique Fernandes<sup>1</sup>, Sérgio Queiroz Lima<sup>1</sup>, Michaele da Silva Oliveira<sup>1</sup>, Aristóbolo Mendes Silva<sup>1</sup>, Fernanda Radicchi Campos Lobato de Almeida<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Instituto de Ciências Biológicas - Universidade Federal de Minas Gerais  
E-mail: safirdf@gmail.com

O *Rasgef1b* é um gene que codifica para um fator de troca de nucleotídeos guanina de GTPases do tipo Ras, proteínas que iniciam vias de sinalização importantes na regulação de diversos processos metabólicos, como proliferação e sobrevivência celular. A expressão de RasGEF1b ocorre predominantemente em macrófagos, mas outros tecidos, como a placenta, também o expressam. A placenta é um órgão crucial no desenvolvimento pré-natal de mamíferos, por ser responsável pela interface materno-fetal, região de troca de nutrientes e gases respiratórios. Animais nocaute para o *Rasgef1b* apresentam dificuldade de engravidar e ninhadas pequenas, o que nos levou a investigar seus parâmetros reprodutivos e a estrutura placentária, uma vez que, sendo a placenta tão importante para o desenvolvimento fetal, é sensível a distúrbios, e sua morfofuncionalidade pode ser afetada por diversos genes de maneira direta ou indireta. Logo, estudar a placenta e os parâmetros reprodutivos de fêmeas desprovidas do fator RasGEF1b é uma maneira promissora e inédita de investigar o papel desse gene sobre a capacidade reprodutiva. Portanto, o objetivo deste projeto foi investigar a fertilidade de fêmeas murinas RasGEF1b-cKO e caracterizar a placenta desses animais. Para isso, camundongos fêmeas dos tipos selvagem (WT) e nocaute (KO) (n=6/ grupo experimental) foram avaliadas quanto a parâmetros reprodutivos como ciclo estral e tentativas de acasalamento e, uma vez gestantes, suas placentas foram coletadas no dia gestacional (DG) 17.5 para análises histomorfométricas. Fêmeas KO apresentaram ciclos estrais inalterados e média de tentativas de acasalamento semelhantes a fêmeas WT ( $P>0,05$ ), o que não era esperado, visto que houve dificuldade para obter o n amostral no grupo KO. Fêmeas KO de fato apresentaram menor número de fetos e mumificações ( $P<0,05$ ). Os fetos provenientes das fêmeas KO apresentaram biometria semelhante a fetos WT, o que indica que mesmo não havendo competição seu crescimento ainda é baixo. Placentas KO apresentaram alterações biométricas e histológicas como maior peso, menor diâmetro e eficiência, além de maior proporção de vasos fetais no labirinto e de vasos maternos na zona juncional, e vasos fetais maiores, para compensar a membrana interheme mais espessa ( $P<0,05$ ), indicativa de imaturidade e responsável pela ineficiência. Nossos dados demonstram de maneira inédita as alterações reprodutivas e placentárias oriundas da deficiência do fator RasGEF1b em fêmeas murinas.

**keywords:** *Knockout mice, RasGEF1b, fertility, placenta, morphological characterization.*



## Corpus luteum presence alters extracellular vesicles miRNA contents in follicular fluid: Impacts on the endocytosis pathway

Paola Maria da Silva Rosa, Giuliana de Ávila Ferronato, Alessandra Bridi, Gislaine dos Santos, Mariani Farias Fiorenza, Cibele Prado Zinni, Juliano Rodrigues Sangalli, Felipe Perecin, Flávio Viera Meirelles, Juliano Coelho da Silveira

FZEA USP Department of Veterinary Medicine, College of Animal Science and Food Engineering, University of São Paulo, Pirassununga, SP, Brazil.  
E-mail: paolarosa@usp.br

Follicular development is driven by hormonal fluctuations such as intrafollicular progesterone (P4) concentration during the estrous cycle stages. In part, this hormonal variation occurs by corpus luteum (CL) presence and can impact the microRNA (miRNA) contents of small extracellular vesicles (EVs) in the follicular fluid (FF). EVs are nanoparticles able to regulate biological processes in target cells. To induce effects, EVs must be internalized by target cells, as through the endocytosis pathway. Thus, our hypothesis is that follicular fluid (FF) EVs from ovarian follicles with absence or presence of corpus luteum and different P4 concentrations, have different miRNA contents that can possibly regulate the endocytosis pathway of target cells. For that, slaughterhouse ovaries were collected in pairs (ipsilateral and contralateral to the CL) and classified according to the estrous cycles stage (late diestrus- 11 to 17 days of estrous cycle), according to CL morphology (Ireland et al. J Dairy Sci. 63:155–160, 1980). The 3-6mm follicles (n~10) were aspirated from three ovaries per group and separated into ipsilateral (iFF) and contralateral (cFF) groups. The FF (n= six replicates) was used to measure P4 concentration, characterizing the groups (iFF- high P4; cFF- low P4) (Rosa et al. Anim Reprod. e22109, 2022). To isolate the EVs, the FF was centrifuged at 300 x g for 10 min, at 2000 x g 10 min, at 165000 x g for 30 min, filtered (0.20µm), and ultracentrifuged twice at 119700xg for 70 minutes at 4°C. Total RNA extraction of FF EVs was performed using TRIzol® (Invitrogen) reagent. The RNA was treated with DNaseI (Invitrogen, Carlsbad, CA). cDNA synthesis was performed using MystiCq® MicroRNA® Quantitation System (Sigma) and specific forward primers. The levels of 383 miRNAs were evaluated for the six biological replicates per group. MiRNAs were considered exclusive when present in four biological samples of one group and one sample of another group or in three biological samples of one group and none sample of another group. All procedures were performed according to the manufacturer's instructions. RT-PCR amplifications were normalized using the geometric mean Ct of three endogenous miRNAs (miR-99b, RNU43 snoRNA, and Hm/Ms/Rt U1 snRNA). The relative expression values were calculated using the Ct method. MiRNA functional enrichment analyses were performed using Mirwalk software version 3.0. Predicted miRNA targets and their functional enrichment analyses were identified using DAVID Bioinformatics Resources 6.8. The data were tested for outliers' presence, normality, and were compared using the Student t-test using JMP 14 (SAS Institute Inc.) software (p< 0.05). Three hundred and three miRNAs were detected in both groups. MiRNAs in iFF were detected being two (miR-26c and miR-34c) exclusive and three upregulated (miR-17-5p, miR-34b, and miR-374a). MiRNAs in cFF were two (bta-miR-628, and bta-miR-369-5p) exclusive and seven upregulated (miR-197, miR-205, miR-3064, miR-330, miR-544b, miR-409b, and miR-1296). The miRNAs of iFF and cFF groups were used for functional enrichment analysis. The endocytosis pathway was predicted to be regulated by both groups (Benjamini < 0.01). Therefore, we evaluate the effects of ovarian CL presence and intrafollicular P4 concentrations on the endocytosis pathway. To do that, endocytosis related-genes exclusively targeted by iFF and cFF miRNAs were used for functional enrichment analysis. We identified in the endocytosis pathway-related genes (total of 250), a total of 28% of the genes were exclusively targets of iFF miRNAs and 10.8% of the genes were targets of cFF miRNAs. Cellular components regulated by iFF miRNAs targeted genes were (Benjamini < 0.01) endosome, endocytic vesicle, recycling endosome membrane, phagocytic vesicle membrane, and cytosol. In contrast, Cellular components regulated by cFF miRNAs targeted genes (Benjamini < 0.01) were endosome, Arp2/3 protein complex, early endosome, cytosol, retromer complex, site of the double-strand break, cytoplasm and endosome membrane. In summary, EVs miRNAs from iFF regulate the recycling of endocytosed particles, while EVs miRNAs from cFF regulate endosome maturation and actin cytoskeleton through Arp2/3 proteins. In conclusion, FF EVs miRNAs exposed to different P4 concentrations environments differently regulate the endocytosis pathway, modulating the recycling of internalized particles and possibly cell's communication through the actin cytoskeleton during oocyte maturation. Funding: FAPESP 2021/06645-0, and CAPES finance code 001.

**Keywords:** Actin cytoskeleton, Cellular components, Endosome.





## **Uterine Spectral-Doppler Indices of pregnancy abnormalities in Mares** *Índices de Doppler-espectrais uterinos observados em anormalidades gestacionais em éguas*

**Ana Clara Bueno Gomes<sup>\*1</sup>, Victoria Kanadani Campos Poltronieri, Júlia Parisi Marliere<sup>1</sup>, Luísa Maria de Souza Menezes<sup>1</sup>, Stefany Silva Guimaraes<sup>1</sup>, Bruna Waddington de Freitas<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Departamento de Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG

\*E-mail: anaclarabuenogomes@hotmail.com

Doppler ultrasound in pregnancy is an essential exam of human obstetrics, especially important for diagnosis of high-risk pregnancies. In veterinary medicine, Doppler has been widely used in diagnosis of early pregnancy in bovine and canine females, and for monitoring the maternal, fetal and placental hemodynamics in small animals. In equine reproduction, this approach has been used in the investigation of the reproductive hemodynamics in pregnant mares. However, few studies reporting Doppler indices in abnormal pregnancies are available. Therefore, we compare Doppler indices from uterine arteries in mares with health pregnancy and normal delivery vs. those who developed some disorder in pregnancy or parturition disturbance. For this purpose, nine pregnant Brazilian Sport Horse mares were accompanied and submitted for transrectal Doppler ultrasound exam every 48 hours from 320 days of gestation until delivery. After localization of the uterine artery ipsilateral to the foetus, the Doppler indices pulsatility index (PI) and resistance index (RI) were obtained. Two of the 9 mares monitored developed placentitis and the gestation period of these mares was 339 and 357 days; one presented dystocia at the parturition moment, with gestation period of 334 days; and another presented placentitis and dystocia at the parturition moment, with 322 days of gestation. The data of these animals were included in abnormal pregnancy group ( $n=4$ ). Mares who presented normal gestational parameters and no problems at labor were allocated in healthy pregnancy group ( $n=5$ ). These mares had a gestation period ranging of 334 to 348 days. Distribution of the data was tested and the parameters analyzed by Mann-Whitney test. Differences were considered significant when  $P<0.05$ . Mares from abnormal pregnancy group presented lower values ( $P<0.01$ ) of RI index ( $0,44\pm 0,06$ ) 48 hours before delivery when compared to the healthy group ( $0,59\pm 0,05$ ). Despite the low case numbers, the changes observed in the doppler indices can be indicative of a new tool for pregnancy evaluation of mares, facilitating the early detection of an impaired labor or some concurred abnormality, such as placentitis. Therefore, more studies involving a large number of mares should be conducted.

**Keywords:** *Equine; Parity; Placentitis; Resistance index.*



## **Impacto do uso de Altrenogest durante a lactação sobre a leitegada subsequente de porcas primíparas**

*Impact of Altrenogest use during lactation on subsequent litter of primiparous sows*

**Dayanne Kelly Oliveira Pires\*<sup>1</sup>, Gabrielle da Silva Rossato<sup>1</sup>, Hemille Antunes Ferreira Miranda<sup>1</sup>, Júlia Cerqueira Madureira<sup>1</sup>, Naiara Cristina dos Santos Silveira<sup>1</sup>, Soraia Viana Ferreira<sup>2</sup>, Fernanda Radicchi Campos Lobato de Almeida<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Departamento de Morfologia, Instituto de Ciências Biológicas/ Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil; <sup>2</sup>DanBred, Patos de Minas, MG, Brasil

E-mail: dayannekpires@vetufmg.edu.br

O altrenogest é um progestágeno amplamente utilizado para sincronizar o ciclo estral em marrãs, parto e lidar com o intervalo desmame-estro. Há evidências de que a suplementação oral de progestágeno ativo melhora o desempenho reprodutivo pós-desmame, por meio de uma maior taxa de ovulação, melhor sobrevivência embrionária e tamanho de ninhada em fêmeas suínas. Tais efeitos positivos podem estar relacionados a uma melhora no desenvolvimento e qualidade folicular. Em suínos, a principal causa do baixo peso é a restrição intrauterina de crescimento (RIUC), condição em que o feto não atinge o potencial de crescimento e é evidente a assimetria dos órgãos, efeito “brain sparing”, caracterizado pelo redirecionamento do fluxo sanguíneo para o cérebro, a fim de preservar suas funções vitais. No entanto, alguns órgãos podem não se desenvolver como o esperado, uma vez que a vascularização dos mesmos é comprometida, sendo um problema clínico grave, associado ao aumento da morbidade e mortalidade perinatal. A relação entre o peso do cérebro e o peso do fígado maior que 1 confirma a ocorrência desta condição. O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da suplementação de altrenogest no final da lactação em porcas primíparas sobre o desenvolvimento reprodutivo subsequente e características da ninhada. Noventa e duas fêmeas híbridas primíparas (DB30, DanBred) foram distribuídas, em delineamento inteiramente casualizado, em dois tratamentos: porcas suplementadas com 20 mg de altrenogest, via oral uma vez ao dia, durante os últimos 6 dias de lactação, terminando um dia antes do desmame (ALT; n = 46) e porcas não suplementadas (com; n = 46). As porcas foram pesadas e a sua condição corporal avaliada por meio de Caliper aos 110 dias de gestação, na véspera do início do tratamento e ao desmame. Amostras de sangue foram coletadas nos dias -1 e 3 do tratamento, no desmame e 48, 72 e 96h após o estro subsequente. Os partos foram monitorados e os leitões pesados, registrando-se o número total de leitões nascidos, nascidos vivos, natimortos e mumificados. Os leitões natimortos (n= 93) foram necropsiados para avaliação da relação entre o peso dos órgãos. Os resultados foram considerados significativos em  $P \leq 0.05$ . Todos os leitões necropsiados entre 600 e 800g tiveram coeficiente de correlação cérebro:fígado superior a 1, demonstrando que foram acometidos por restrição intrauterina de crescimento. O tratamento—com altrenogest apresentou efeito positivo sobre o peso dos leitões entre 600 e 800g ( $P= 0.05$ ), reduzindo o número de leitões nascidos nesta faixa em comparação com o grupo controle, sendo este efeito mais evidente nos leitões do sexo masculino ( $P= 0.02$ ). Assim sendo, o uso de altrenogest por 6 dias durante a última semana de lactação mostrou-se vantajoso na redução do número de leitões abaixo de 800g, faixa de peso crítica para a sobrevivência dos leitões, e conseqüentemente, reduzindo a incidência de leitões acometidos pela RIUC.

**Palavras chave:** progestágeno, reprodução, desempenho reprodutivo, peso ao nascer do leitão.

**Keywords:** *progestagen, reproduction, reproductive performance, piglet birth weight.*



## Fatores associados à frequência de partos gemelares em fêmeas Nelore (*Bos indicus*) submetidas à IATF

*Factors that interfere in the frequency of twin births in Nelore females (Bos indicus) submitted to the FTAI*

A.R. Felisbino Neto<sup>1,\*</sup>; D.F.C. Souza<sup>2</sup>; B.G. Freitas<sup>3</sup>; R.F.G. Peres<sup>4</sup>; J.N. Sales<sup>5</sup>; P.S. Baruselli<sup>1</sup>

<sup>1</sup>VRA-FMVZ, USP, São Paulo, SP; <sup>2</sup>Ferty+ Reprodução Animal, Nova Xavantina, MT; <sup>3</sup>Ourofino Saúde Animal, Cravinhos, SP; <sup>4</sup>Nelore Paranã, Iaciara, GO; <sup>5</sup>Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG

\*E-mail:augusto.felisbino@usp.br

Os partos gemelares são indesejáveis por estarem associados à perdas gestacionais, distocias e a mortalidade das vacas e dos bezerros no momento do parto. O objetivo desse estudo foi identificar a frequência de partos gemelares em fêmeas *Bos indicus* gestantes por IATF ou por monta natural (expostas a touros pós IATF) em duas fazendas comerciais. Foram analisadas 7.862 gestações de fêmeas da raça Nelore (*Bos indicus*), sendo 750 Novilhas de 14 meses com ECC 4,0±0,0, 1.292 Novilhas de 24 meses com ECC 3,2±0,4, 488 Primíparas de 24 meses com ECC 2,8±0,1, 1.059 Primíparas de 36 meses com ECC 2,9±0,2 e 4.273 Multíparas (>36meses) com ECC de 2,8±0,3. Somente as fêmeas que estavam gestantes ao final da EM foram avaliadas. Para realização da IATF, as fêmeas receberam 2mg IM de BE (Sincrodiol®, Ourofino, SP), 0,53mg IM de cloprostenol sódico (somente nas Novilhas; PGF2 $\alpha$ ; Sincrocio®, Ourofino, SP) e foi inserindo um dispositivo intravaginal de P4 (Sincrogest®, Ourofino, SP). Após oito dias, removeu-se o dispositivo de P4 e administrou-se, pela via IM, 1,0mg nas Primíparas e Multíparas ou 0,5 mg nas Novilhas de CE (SincroCP®, Ourofino, SP) e 0,53mg IM de PGF2 $\alpha$  (Sincrocio®, Ourofino, SP). Nesse mesmo momento, administrou-se nas Novilhas 200UI e nas Primíparas e Multíparas 300UI de eCG (Sincro ecg®, Ourofino, SP). A IATF foi realizada 48h após remoção do dispositivo. As matrizes receberam 2 IATFs com intervalo de 40 dias, seguido de exposição aos touros. Avaliações ultrassonográficas foram realizadas 30 e 180 dias após a IATF. Análises estatísticas foram realizadas pelo procedimento GLIMMIX do SAS®. A porcentagem de partos gemelares foi de 1,29% (102/7862). Não houve efeito de interação entre as variáveis estudadas ( $P > 0,20$ ) e de ECC ( $P = 0,53$ ) na taxa de partos gemelares. No entanto, verificou-se que fêmeas gestantes por IATF tiveram maior incidência de partos gemelares que as fêmeas gestantes por monta natural [(MN, 0,39% (6/1550) vs IATF 1,52%, (96/6312),  $P = 0,0001$ ]. Além disso, verificou-se diferença na taxa de partos gemelares entre as categorias das matrizes [0,53%<sup>b</sup> (4/750) para novilhas de 14 meses, 1,08%<sup>ab</sup> (14/1292) para novilhas de 24 meses, 1,79%<sup>a</sup> (19/1059) para primíparas (convencionais), 2,46%<sup>a</sup> (12/488) para primíparas (precoces) e 1,24%<sup>ab</sup> (53/4273) para Multíparas, ( $P = 0,05$ )]. Ainda, verificou-se diferença na quantidade de partos gemelares entre as fazendas [FAZ-1, 1,47% (70/4758) vs FAZ-2, 1,03% (32/3104);  $P < 0,05$ ]. Conclui-se que o número de partos gemelares é influenciado pelo manejo reprodutivo (maior na IATF que monta natural), categoria animal (maior em novilhas de 24 que em novilhas de 14 meses) e fazenda (maior na Faz 1 que na Faz 2).

Agradecimentos: Ourofino Saúde Animal.

**Palavras-chave:** taxa de nascimento de gêmeos, bovinos.

**Keywords:** twin births rate, bovine.



## **Influência do tipo de parto sobre a qualidade colostrar e transferência de imunidade passiva em cães**

*Influence of birth mode of parturition on colostrum quality and transfer of passive immunity in dogs*

**Beatriz M. Justo<sup>1</sup>; Nathália G. Sallum<sup>1</sup>; Leticia Lima de Almeida<sup>1</sup>; Patrícia Monteiro Marchetti<sup>1</sup>; Juliana Valéria Serra Oliveira<sup>1</sup>; Aline Detlinger<sup>1</sup>; Camila Infantsi Vannucchi<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Departamento de Reprodução Animal. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. São Paulo, SP, Brasil

\*E-mail: nathalia.sallum@gmail.com

A transferência de imunidade passiva (TIP) transplacentária na espécie canina é dificultada pela barreira endoteliochorial, impedindo a passagem satisfatória de macromoléculas da mãe para os fetos. Deste modo, os filhotes são hipogamaglobulinêmicos ao nascimento, necessitando ingerir o colostro para adequada TIP. Contudo, a qualidade do colostro, assim como a capacidade absorptiva dos neonatos, pode ser impactada por distintas concentrações de cortisol e catecolaminas, as quais diferem conforme o tipo de parto. Assim, o objetivo deste estudo foi comparar o perfil proteico do colostro e analisar quantitativamente a TIP em filhotes nascidos por parto eutócico vaginal ou cesariana na espécie canina. Para tanto, 17 cadelas e 34 neonatos foram classificados em dois grupos experimentais, conforme a condição obstétrica ao nascimento: Grupo Parto Vaginal (n=7 e n=14, respectivamente) e Grupo Cesariana Eletiva a termo (n=10 e n=20, respectivamente). Imediatamente após o parto e às 6h, 12h, 24h e 48h pós-parto, amostras de colostro e sangue dos neonatos foram obtidas e processadas por eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) para determinação das concentrações de proteína total, albumina, imunoglobulinas G de cadeia pesada (Ig GP) e leve (Ig GL), além da  $\beta$ -lactoglobulina ( $\beta$ -lac) e  $\alpha$ -lactoalbumina ( $\alpha$ -lac) especificamente no colostro e determinação da atividade da fosfatase alcalina (FA) e gama glutamil transferase (GGT) especificamente no sangue dos filhotes por analisador bioquímico automático. Os resultados foram analisados utilizando-se o teste t de Student para comparação entre grupos, e o teste LSD para as análises temporais, considerando  $p < 0,05$ . Em relação ao colostro, a concentração de proteína total foi superior nas fêmeas submetidas à cesariana, independente do momento amostral, além de maior concentração de albumina às 6h e 12h pós-parto, em comparação ao Grupo Parto Vaginal. Ao longo do período experimental, houve redução na concentração colostrar de proteína total e Ig GP, com diminuição expressiva às 12h e 24h pós-parto em ambos os grupos. Para as demais variáveis do colostro, não houve diferenças entre os grupos experimentais. Os filhotes nascidos por cesariana eletiva apresentaram maior concentração sérica de proteína total e maior atividade da FA ao nascimento, 6h e 12h de vida em relação aos nascidos por parto vaginal. Já nas primeiras horas de vida, os neonatos apresentaram aumento na concentração sérica de proteína total e atividade de GGT, independente do grupo experimental. Os neonatos nascidos por parto vaginal apresentaram maior concentração de Ig GP logo após o nascimento, quando comparados ao Grupo Cesariana. Ao longo do período amostral, houve aumento progressivo do perfil proteico no soro sanguíneo dos filhotes, independente do grupo experimental, principalmente às 12h e 24h de vida. Porém, a janela de permeabilidade intestinal à IgG dos neonatos nascidos via cesariana foi mais extensa (até às 24h de vida), em comparação àqueles nascidos por parto vaginal (até 12h). Observou-se efeito inversamente proporcional entre o perfil proteico do colostro e do soro sanguíneo dos neonatos, evidenciando adequada absorção intestinal dos componentes do colostro, por aumento da concentração de proteínas sanguíneas simultaneamente à diminuição da concentração proteica do colostro. Como conclusão, a operação cesariana determina perfil proteico colostrar diferenciado por maior concentração proteica. Da mesma forma, os filhotes nascidos por cesariana apresentam melhor capacidade absorptiva das proteínas colostrais, embora a transferência de imunidade passiva tenha sido satisfatória para todos os neonatos ao final do processo de colostragem.

**Palavras-chave:** Cães. Neonatologia. Colostro. Imunidade.

**Keywords:** Dogs. Neonatology. Colostrum. Immunity.



## Qual o papel do ácido fosfórico na fertilidade do Garanhão?

*What is the role of phosphoric acid in stallion fertility?*

Sandra Fiala Rechsteiner<sup>1,2\*</sup>, Verônica La Cruz Bueno<sup>1,2</sup>, Henrique Boll de Araujo Bastos<sup>2</sup>, Rodrigo Costa Mattos<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>HISTOREP - Universidade Federal de Pelotas, UFPEL, Pelotas-RS, Brasil; <sup>2</sup>REPROLAB - Faculdade de Veterinária, UFRGS, Porto Alegre-RS, Brasil.

\*Email: sandrafiala@yahoo.com.br

O ácido fosfórico (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) é um metabólito que tem várias funções em sistemas biológicos, incluindo efeitos potenciais na fertilidade masculina os quais são complexos e pesquisas nessa área são limitadas. O objetivo deste estudo foi investigar o papel do metabólito H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> no plasma seminal (PS) de garanhões e sua relação com a fertilidade. Vinte e quatro garanhões da raça Crioula com idade entre 7 e 28 anos, histórico reprodutivo conhecido, com no mínimo 30 éguas inseminadas foram coletados durante a estação reprodutiva. As taxas de prenhez foram avaliadas por ultrassonografia no 16º dia após a IA com resultados entre 20,2% e 95,6%. A análise microscópica da cinética espermática foi realizada com sistema de análise computadorizada (CASA). A integridade física e funcional da membrana plasmática do espermatozoide foram avaliadas por sondas fluorescentes e teste hiposmótico, respectivamente. Após estas análises foi realizada a primeira centrifugação para separação do PS de cada amostra dos garanhões. Após a centrifugação a 400xg por 10min, o PS foi transferido para um tubo de microcentrifuga de 2mL e centrifugado novamente (10.000xg, 60min, 4°C). O sobrenadante foi misturado 1:1 com água deionizada após filtragem com filtros de 0,45µm para remover o sedimento celular. Cada amostra foi novamente filtrada através de um filtro de seringa de 0,22µm antes da aquisição do perfil. O perfil metabólico foi adquirido por meio de cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas por tempo de voo. A correlação de Pearson foi realizada com nível de significância de P<0,05. O H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> apresentou coeficiente de correlação negativo relevante com espermatozoides imóveis (r = -0,7206) e correlação positiva com integridade funcional (r = 0,6162), integridade física (r = 0,6306), fertilidade (r = 0,6471), motilidade progressiva (r = 0,5145), motilidade total (r = 0,7157), VCL (r = 0,6034), VSL (r = 0,5491), VAP (r = 0,5629), BCF (r = 0,7055), ALH (r = 0,5945), volume total de ejaculado (r = 0,5941) e proteína total/ejaculado (r = 0,5182). Níveis adequados de H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> são necessários para a produção de espermatozoides. O H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> desempenha um importante papel na motilidade espermática, pois está envolvido na produção de ATP (adenosina trifosfato) que é uma molécula fundamental para armazenar e transportar energia nas células dos seres vivos, e a principal fonte de energia para a motilidade espermática, crucial para o espermatozoide alcançar e fertilizar o oócito. O ATP é formado a partir da reação entre o ácido fosfórico e outras moléculas precursoras, como o ADP (adenosina difosfato), por meio de processos bioquímicos nas células. Quando o ATP é quebrado em ADP e fosfato inorgânico (Pi), ocorre a liberação de energia que é usada pelas células para realizar atividades biológicas essenciais para transporte de íons e síntese de moléculas. Também possui propriedades antioxidantes, o que significa que pode ajudar a neutralizar os radicais livres nocivos, os quais podem causar danos às células, incluindo os espermatozoides, contribuindo para a infertilidade masculina. O fósforo é um mineral essencial para o funcionamento adequado do organismo, incluindo a reprodução. Ele está envolvido em processos metabólicos e é um componente chave do DNA, RNA e ATP, que são moléculas fundamentais para a síntese de proteínas e produção de energia. Concluímos que o H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, além de participar de inúmeras rotas metabólicas importantes para o metabolismo do espermatozoide, pode ser considerado um biomarcador de qualidade seminal e fertilidade no garanhão.

**Palavras chaves:** biomarcador, espermatozoide, equino.

**Keywords:** biomarker, spermatozoa, equine.



## **Avaliação da involução uterina e retorno da ciclicidade estral em ovelhas Santa Inês**

*Uterine involution and return of oestrus cyclicity in Santa Inês sheep*

**Jéssica Drechmer<sup>1\*</sup>, Lucas Basílio Macêdo Santos<sup>1</sup>, Alexandre Floriani Ramos<sup>2</sup>, Bianca Damiani Marques Silva<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Universidade de Brasília

<sup>2</sup>Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

\*E-mail: jessica.drechmer@yahoo.com.br

O puerpério é um processo complexo que ocorre após o parto, envolvendo a involução uterina e o retorno a ciclicidade estral. Tem duração variável entre raças, idade e características individuais como por exemplo, fêmeas em que ocorreram distocia e cesárea aumentam-se as chances de apresentarem problemas como retenção de placenta e infecções, que podem acarretar no aumento do tempo da involução uterina, consequentemente afetando seu retorno a reprodução e prolongando seu período vazio no rebanho. Porém existem poucos estudos avaliando a influência do tipo de parto e a amamentação no retorno ao estro dos ovinos. Desta forma o estudo objetivou avaliar a involução uterina e o retorno a ciclicidade de ovelhas Santa Inês no pós-parto. Foram avaliadas 41 ovelhas distribuídas conforme a prenhez e o parto: ovelhas prenhez de inseminação artificial por laparoscopia (IAL) ou monta natural; tipo de parto (simples, duplo e triplo) e ovelhas com borrego ao pé ou solteiras. As avaliações ocorreram a cada 7 dias logo após o parto com auxílio de ultrassonografia transretal modo-B (DP-10 Power, Mindray), eram mensurados três pontos diferentes do útero e os ovários. As avaliações ocorriam até a confirmação do CL (corpo lúteo) no ovário caracterizando o retorno a ciclicidade. Os dados foram analisados estatisticamente pelo teste de Mann-Whitney e Friedman's test. O retorno da ciclicidade em todas as ovelhas analisadas ocorreu em média 36,6±9,8 dias pós parto. Comparando monta natural (n=27) 38,5±9,9 com IAL (n=14) 33,0±8,8 (P>0,05), parto simples (n=29) 36,8±9,8 com parto duplo ou triplo (n=12) 36,2±10 (P>0,05) e borrego ao pé (n=27) 36,2±10,9 com solteira (n=14) 37,5±7,4 (P>0,05) não houve diferença estatística quanto aos dias de retorno a ciclicidade. Como não houve diferença entre os grupos os dados foram analisados fazendo a média de todos os animais. As avaliações da média do diâmetro uterino variaram conforme o decorrer dos dias, no qual o primeiro dia de avaliação, a média do diâmetro do útero foi maior que o restante dos dias (D7: 1,16±0,28). Houve diferença também entre os dias 14, 21 28, 49 e 56 (D14: 0,82±0,13; D21: 0,77±0,12; D28: 0,69±0,13; D35: 0,62±0,12; D42: 0,63±0,11; D49: 0,57±0,06; D56: 0,58±0,04 cm), podendo-se observar a diminuição progressiva ao longo dos dias, sendo o esperado na involução uterina durante o puerpério. Embora na gestação gemelar haja uma maior distensão do útero e na Inseminação Artificial por Laparoscopia haja manipulação uterina além do uso do laparoscópico esses parâmetros não interferiram no período de puerpério das ovelhas; independente de como ocorreu a gestação, se simples ou gemelar não houve prejuízos a fêmea de forma que atrasasse o retorno a atividade estral pós parto. Da mesma forma ocorreu nas ovelhas que estavam amamentando, durante a amamentação a sucção do cordeiro desencadeia a liberação da ocitocina nos alvéolos mamários para liberação do leite, esse estímulo ajuda na contração do útero. Já nas ovelhas que perdem o cordeiro não há influência da amamentação no puerpério, no presente trabalho foi possível observar que não houve interferência na duração da regressão uterina e do retorno da ciclicidade nesses grupos. Podemos concluir que o retorno a ciclicidade estral não diferiu entre as categorias avaliadas com média de 36,6±9,8 dias pós-parto, e foi possível observar a diminuição progressiva da mensuração média uterina no decorrer dos dias.

**Palavras-chaves:** puerpério, pós parto, reprodução, ultrassonografia.

**Keywords:** *puerperium, postpartum, reproduction, ultrasound.*





## **Influência da raça na eficiência da inseminação artificial intravaginal a fresco em cães – estudo retrospectivo em 18 raças**

*Influence of breed on fresh intravaginal artificial insemination efficiency in dogs – retrospective study in 18 breeds*

**Herlon Victor Rodrigues Silva<sup>1\*</sup>, Alexandre Rodrigues Silva<sup>2</sup>, Daniel Couto Uchoa<sup>3</sup>, Thales Pinheiro Cavalcanti Bezerra<sup>4</sup>, Bruna Farias Brito<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>REPROCENTER, Fortaleza, CE, Brasil; <sup>2</sup>Laboratório de Conservação de Germoplasma Animal, UFERSA, Mossoró, RN, Brasil; <sup>3</sup>UNIFAMETRO, Fortaleza, CE, Brasil; <sup>4</sup>UNIFOR, Fortaleza, CE, Brasil.

\*E-mail: herlonvrs@hotmail.com

Ao longo do processo de domesticação, o homem tem conduzido um processo marcante de seleção artificial, escolhendo aqueles cães com as características físicas, comportamentais e de aptidões mais desejadas. Esse processo tem resultado na formação de mais de 400 diferentes raças caninas, as quais contêm diferentes *pools* genéticos, que lhes conferem diferentes fenótipos, mas também diferentes aspectos relativos à predisposição de doenças ou a particularidades fisiológicas, inclusive reprodutivas. Neste sentido, o objetivo do presente estudo foi investigar o efeito da raça canina na eficiência do procedimento de inseminação artificial intravaginal com sêmen fresco em cães de diferentes raças. Foram realizadas inseminações artificiais, utilizando-se casais de cães de 18 diferentes raças, com idades variando entre 12 meses e 6 anos, pertencentes a canis particulares, situados nas cidades de Fortaleza, CE e Mossoró, RN. Os machos foram selecionados por exame andrológico, sendo utilizados apenas aqueles que apresentavam excelente qualidade espermática em termos de concentração, motilidade e vigor. Quando necessário, o sêmen foi diluído no seu próprio líquido prostático, ou com diluentes comerciais, até atingir um volume médio de 2,0 a 10 mL, a depender do porte racial. O período fértil das fêmeas foi monitorado por citologia vaginal, mas quando possível e necessário, procedia-se a mensuração da progesterona sérica. As cadelas foram inseminadas por via intravaginal utilizando-se a sonda de Osiris® (IMV – França), realizando-se a elevação dos membros posteriores da fêmea por dez minutos durante a IAIV. O procedimento foi repetido após 48 horas, totalizando duas inseminações por cadela. Eventualmente, uma terceira inseminação era realizada, quando do prolongamento do estro. O diagnóstico de gestação foi realizado por ultrassonografia ou palpação abdominal aos 30 dias após a última IAIV, e confirmado ao parto. Neste trabalho, apenas aquelas raças com número representativo mínimo de cinco casos foram selecionadas para fins de comparação quanto a eficiência da inseminação artificial, utilizando-se o teste de Qui-Quadrado, a 5% de significância, segundo o pacote da Social Science Statistics, 2023. Ao todo, foram contabilizados 254 casos em que a IAIV foi implementada, dos quais 174 resultaram em gestações positivas, correspondendo a uma eficiência total de 69,3%. A influência da raça canina sobre a eficiência da IAIV foi significativa ( $P \leq 0,05$ ), tendo sido obtidos os seguintes resultados demonstrados por raça (número de gestações positivas/número total de IAIV realizadas na raça) – eficiência, apresentados em ordem decrescente: Shih-Tzu (13/14) – 92,9%; Australian Shepherd (7/8) – 87,5%; American Pit Bull Terrier (10/12) – 83,4%; Boxer (13/16) – 81,3%; Buldogue Inglês (13/16) – 81,3%; Mastiff Inglês (4/5) – 80%; Golden Retriever (7/9) – 77,8%; Retriever do Labrador (5/7) – 71,4%; Rottweiler (49/67) – 71,3%; Bassethound (20/29) – 69%; Pastor Alemão (11/16) – 68,8%; Chow Chow (3/5) – 60%; Old English Sheepdog (3/5) – 60%; Yorkshire Terrier (3/6) – 50%; Mastim Napolitano (4/7) – 57,1%; Cocker Spaniel Inglês (6/14) – 42,9%; American Staffordshire Terrier (4/11) – 36,4%; Fila Brasileiro (1/6) – 16,7%. Especula-se que estes resultados seja também dependentes de interações com outros fatores como a qualidade do sêmen, a acurácia dos métodos de monitoramento do ciclo estral, o genótipo do conjunto de animais que habitam aquela região, o número de casos por raça, dentre outros. No entanto, é possível sugerir que a raça seja um fator determinante a influenciar a eficiência da IAIV com sêmen fresco na espécie canina.

**Palavras-chave:** Cinofilia, Reprodução Assistida, Sêmen.

**Keywords:** Dog Breeding, Assisted Reproduction, Semen.



## **Avaliação do fluxo sanguíneo da artéria testicular e das características espermáticas após realização de biópsias testiculares em ovinos utilizando agulha TRU-CUT**

*Evaluation of blood flow in the testicular artery and sperm characteristics after performing testicular biopsies in sheep using a TRU-CUT needle*

**Raíssa da Silva Scardovelli\*, Luiz Gustavo Ferreira de Lima\*, Paula Zanin Rattes\*, Luan Sitó da Silva\*, Jéssica Modesto\*, Francielle de Oliveira Campos\*, Matheus Diogo Oliveira Cunha\*, Giovanna Fernandes da Costa\*, Renan Denadai\*, João Carlos Pinheiro Ferreira\***

\*Departamento de Cirurgia Veterinária e Reprodução Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, SP, Brasil

As biópsias testiculares, técnica complementar ao exame andrológico, fornecem amostras para avaliações histopatológicas, imuno-histoquímicas, moleculares e microbiológicas. Contudo, para o seu emprego rotineiro, é fundamental entender quais suas consequências às funções testiculares. Nosso objetivo foi avaliar o fluxo sanguíneo testicular e características espermáticas de ovinos até 50 dias após a realização de biópsias testiculares realizadas com agulha TRU-CUT. Sete carneiros, com idade aproximada de 18 meses e peso médio de  $48,9 \pm 1,25$  kg, foram submetidos a 4 biópsias testiculares simultâneas (2 em cada testículo) empregando-se agulhas TRU-CUT, sendo este momento considerado o dia 0 (D0). Imediatamente antes do procedimento foi realizada anestesia dissociativa pela associação de xilazina (0,1 mg/kg) e quetamina (2,5 mg/kg), e anestesia local cutânea (1 mL de lidocaína 2%) nos locais de introdução das agulhas. Neste momento, foram também administrados penicilina benzatina (30.000 UI/kg, dose única) e flunixin meglumine (2,2 mg/kg) sendo este último, repetido no D1. No dia anterior as biópsias (D-1), foi realizado o triplex doppler das artérias testiculares esquerda e direita, para determinação dos índices de resistividade (IR) e de pulsatilidade (IP). Estas avaliações foram repetidas nos D1, D2, D4, D6, D8, D10, D18, D25 e D50. Adicionalmente, nos D-1, D25 e D50, foram realizadas colheitas seminais por vagina artificial e avaliada a motilidade espermática total (MT), progressiva (MP), e número de espermatozoides rápidos (RAP) por análise computadorizada e a concentração espermáticas. As variáveis foram avaliadas quanto à normalidade pelo teste Shapiro-Wilk. Como as variáveis IR e IP não apresentaram distribuição normal, elas foram avaliadas pelo teste de Friedman e post-hoc de Dunn's e os resultados representados pela mediana. As variáveis da cinética e concentração espermáticas, que apresentaram distribuição normal e foram avaliadas por análise de variância de uma via para medidas repetidas e teste post-hoc Holm-Sidak, foram representadas pela média e erro padrão. O. Os valores de IR e IP variaram ao longo do tempo ( $p < 0,0001$ ), se elevando, em relação ao D-1 (respectivamente, 0,48 e 0,65), entre D4 (0,62 e 1,01) e D18 (0,62 e 1,45), atingindo seus maiores valores no D24 (0,64 e 1,54) dia, e retornando a valores semelhantes ao D-1 no D50 (0,59 e 1,19). A MT ( $91,7 \pm 1,0\%$ ,  $p=0,68$ ), MP ( $53,7 \pm 1,4\%$ ,  $p=0,61$ ), RAP ( $77,9 \pm 1,4\%$ ,  $p=0,31$ ) e concentração ( $2,42 \pm 0,1 \times 10^9$  espermatozoides /mL,  $p=0,16$ ) espermáticas não variaram no período experimental. A partir dos resultados deste estudo, concluímos que biópsias testiculares não promovem alterações no fluxo sanguíneo testicular compatíveis com inflamação ou promovem decréscimo da motilidade e concentração espermática.

### Agradecimentos:

À toda equipe de trabalho e colaboradores e às agências de fomento, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, fomento nº 001), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP, processo nº 2021/11898-4) e à Pró-Reitoria de Pesquisa (PROPE, Edital 13/2022)

**Palavras-chave:** Espermato gênese, sêmen, TRU-CUT



## **Etossulfato de fenazina reduz o estresse oxidativo sem causar benefícios no desenvolvimento embrionário *in vitro***

*Phenazine ethosulfate reduces reactive oxygen species without enhancing embryo development in vitro*

**José Victor Braga<sup>1</sup>, Jean Carlo Faccin<sup>2</sup>, Gabriel da Silva Zani<sup>3</sup>, Rafael Gianella Mondadori<sup>4</sup>, Thomaz Lucia Jr<sup>1,3</sup>, Mariana Groke Marques<sup>2,5</sup>**

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, <sup>2</sup>Programa de Pós-Graduação em Produção e Sanidade Animal, Instituto Federal Catarinense, Concórdia, SC, <sup>3</sup>Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, <sup>4</sup>Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, <sup>5</sup>Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC

O etossulfato de fenazina (PES) é um receptor de elétrons capaz de diminuir a síntese de ácidos graxos e de atuar na via de pentose fosfato (PPP) através da conversão de NADP/NADPH, também participando do ciclo de redução da glutatona, um dos principais antioxidantes celulares. Uma vez que o embrião suíno produzido *in vitro* é metabolicamente distinto ao *in vivo* quanto as vias de glicólise e PPP, ao acúmulo de gotículas lipídicas (GL) e aos níveis de espécies reativas de oxigênio (EROS), o objetivo deste estudo foi a utilização de PES durante o cultivo *in vitro* inicial visando modular as respostas lipídicas e as oxidativas. Ovários foram coletados em abatedouro e transportados e lavados em solução salina 0,9% aquecida (32°C a 35°C), tendo seus folículos entre 3mm e 6mm aspirados. Os oócitos foram lavados e selecionados em TCM-Hepes contendo 10% de soro fetal, 3mg/mL de BSA e 50 IU/mL de gentamicina. Após, oócitos foram maturados por 44h em TCM199 com 3,05mM de D-glicose, 0,57mM de cisteína, 0,91 mM de C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>NaO<sub>3</sub>, 50 IU/mL de EGF e gentamicina, além de 10% de fluido folicular sob óleo mineral, com 10 IU/mL de eCG e hCG durante as primeiras 22h. Ao final da maturação, os oócitos foram desnudados e ativados com 15 µM de ionomicina por 5 min, 200µM de TPEN por 15 min, e 7.5 µg/mL de citocalasina B por 4 horas, sendo então transferidos para gotas de PZM5 com adição de 0.05µM de PES em períodos distintos do cultivo *in vitro* inicial (0-24h; 0-48h e 24-48h). Após os respectivos tratamentos, os embriões foram cultivados em PZM5 suplementado com 3mg/mL de BSA até o sétimo dia, com acréscimo de 10% de SFB ao quinto dia. Não houveram diferenças quanto as clivagens as 24 e 48h, e aos blastocistos ao final do cultivo (Controle 61,0%, 73,1% e 58,0%; PES (0-24 h) 61,0%, 73,0% e 53,3%; PES (0-48 h) 54,5%, 70,0% e 43,6%; e PES (24-48 h) 53,1%, 70,4% e 39,8%) ( $p > 0.05$ ). Para avaliação do conteúdo lipídico e EROS, os embriões no D7 de cada tratamento foram marcados, separadamente, com 1µg/mL de Nile Red por 30 min e 10µM de DCF por 10 min, tendo suas imagens captadas com microscopia de fluorescência. Com o auxílio do software ImageJ®, a fluorescência foi mensurada e calculada através da seguinte fórmula: área do embrião – média dos *backgrounds* x intensidade da fluorescência. Após normalização logarítmica e teste de ANOVA, as médias foram comparadas através de Tukey. Notou-se diferenças na quantidade lipídica (Controle  $5,24 \pm 0,06$ ; PES 0-24h  $5,73 \pm 0,07$ ; 0-48h  $5,74 \pm 0,08$ ; e 24-48h  $5,63 \pm 0,07$ ) ( $p < 0.05$ ) e nos níveis de EROS (Controle  $5,57 \pm 0,12$ ; PES 0-24h  $4,80 \pm 0,10$ ; 0-48h  $5,11 \pm 0,12$ ; e 24-48h  $5,43 \pm 0,10$ ) ( $p < 0.05$ ). Até o determinado momento, trabalhamos com a hipótese de que o maior consumo lipídico apresentado pelo Controle foi responsável por maior geração de EROS, sugerindo maior atividade metabólica neste grupo. Todavia, a exposição ao PES pode ter favorecido o ciclo da glutatona, reduzindo os níveis de EROS através da glutatona reduzida, porém prejudicando o metabolismo lipídico.

**Palavras-chave:** metabolismo, embrião, lipídeos, estresse oxidativo.



## Rastreabilidade de PGCs em caraciformes utilizando mRNA artificial obtido a partir de sequências de siluriformes

*PGC traceability in characin using artificial mRNA obtained from siluriform sequences*

Jenyffer Mairely Rosero<sup>1,2</sup>, Paulo Sergio Monzani<sup>2</sup>, Giselle Pessoa<sup>2</sup>, Gabriella Braga Carvalho<sup>1,2</sup>,  
Lucia Suárez López<sup>1,2</sup>, José Augusto Senhorini<sup>2</sup>, Silvio C. A. Santos<sup>3</sup>, George Shigeki Yasui<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Reprodução Animal FMVZ/USP, <sup>2</sup>CEPTA/ICMBio, <sup>3</sup>AES Brasil  
E-mail: yasui@usp.br

Espécies de peixes ameaçadas de extinção exigem ações prioritárias no tocante à reprodução e constituição de bancos genéticos. Uma das principais formas de bancos genéticos é através de quimeras germinativas, que possibilita que um peixe produza gametas de outro peixe, transplantando-se células germinativas primordiais (PGCs) do embrião de um peixe para outro. Primeiramente, é necessário a identificação *in vivo* de PGCs utilizando-se mRNA artificial, que é o objetivo do presente trabalho. RNAs de um siluriforme, *Pseudopimelodus mangurus* foram usados como molde para obter um mRNA sintético (*gfp-Pm-ddx4* 3'UTR) que foram microinjetados em ovos recém fecundados e sem córion de *Astyanax altiparanae* e *Prochilodus lineatus*. Em embriões de *A. altiparanae* a visualização das PGCs foi inicialmente observada durante a fase de gástrula com 70% de epibolia, ao passo que em *P. lineatus* foram observadas PGCs no estágio de segmentação com 6 somitos. Em *A. altiparanae* foram microinjetados 512 zigotos obtendo-se  $29 \pm 0,03\%$  de marcação até a eclosão e partir das larvas vivas após a eclosão ( $n=260$ )  $59 \pm 0,14\%$  das larvas apresentaram PGCs-GFP positivas. Em *P. lineatus* foram micronjetados 253 zigotos, obtendo  $16\% \pm 0,00$  de marcação até a eclosão e nas larvas após a eclosão ( $n = 66$ ),  $72\% \pm 0,16$  apresentaram PGCs GFP-positivas. Em *A. altiparanae* a visualização de PGCs foi possível até o 9 dia após a eclosão, e em *P. lineatus* 5 dias após a eclosão. A sobrevivência na eclosão foi de  $52,0 \pm 5,7\%$  em *A. altiparanae*, valor próximo ao controle sem córion ( $64,9 \pm 5,3\%$ ) e com corion ( $71,7 \pm 4,371\%$ ) enquanto que em *P. lineatus*  $26,3 \pm 6,5\%$  sobreviveram até a eclosão, sendo semelhante ao controle sem córion ( $31,1 \pm 1,9\%$ ) e com corion ( $64,2 \pm 10,5\%$ ). Portanto, para ambas espécies não foi verificada diferença significativa entre os tratamentos microinjetados e os grupo controle. O percentual de larvas normais e anormais não foi influenciada pela remoção do córion e ou com microinjeção, mantendo-se nos mesmos valores para todos os grupos, em ambas as espécies. Os dados acima demonstram que mRNA obtidos a partir de grupos filogeneticamente distantes podem ser empregados para visualizar PGCs *in vivo*, o que facilita a aplicação para a identificação, transplante, e constituição de bancos genéticos em peixes. Esses dados são inéditos e potencialmente aplicáveis nas ciências básicas e aplicadas.

Apoio financeiro: AES Brasil / P&D ANEEL (PD-0064-1062/2020)

**Palavras-chave:** células germinativas, ontogenia, peixe, propagação, quimera germinativa,  
**Keywords:** *germ cell, ontogeny, fish, propagation, germline chimera*