

Comparação entre as técnicas de congelamento convencional lento e vitrificação cinética em espermatozoides de *Mazama rufa*

Comparison between conventional slow-freezing and kinetic vitrification in Mazama rufa spermatozoa

Thaylane Paula Financi^{1,2*}, Laís Jaqueline de Souza^{1,2}, Bianca Ferrari^{1,2}, Eluzai Dinai Pinto Sandoval², Luciana Diniz Rola², José Maurício Barbanti Duarte²

¹Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, 14884-900 Jaboticabal, São Paulo, Brasil.

²Núcleo de Pesquisa e Conservação de Cervídeos (NUPECCE), Departamento de Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, 14884-900, Jaboticabal, São Paulo, Brasil.

*E-mail: thaylane.financi@unesp.br

A criopreservação de sêmen é um método efetivo para o armazenamento a longo prazo do genoma paterno de animais selvagens, sendo uma ferramenta para a conservação de espécies ameaçadas. Em cervídeos neotropicais, a técnica mais aplicada de criopreservação de espermatozoides é o congelamento convencional lento (CCL). Entretanto, esta técnica ainda apresenta limitações, principalmente pela dificuldade de aplicação a campo. Com isso, a técnica de vitrificação cinética (VC) vem sendo explorada em ruminantes selvagens, por não necessitar de equipamentos especializados, uma vez que o sêmen diluído é diretamente imerso em nitrogênio líquido (NL₂). Este estudo teve como objetivo comparar as técnicas de congelamento convencional lento e vitrificação cinética em sêmen de *Mazama rufa*. Foi coletado o ejaculado de sete indivíduos de *M. rufa* por eletroejaculação e cada ejaculado foi dividido em três tratamentos utilizando o diluidor base TCGG (tris-374,77mM+ácido cítrico-135,33mM+glicose-37mM+10% gema de ovo), sendo estes: CCL (TCGG+6% glicerol); VC100 (TCGG+100mM de sacarose) e VC250 (TCGG+250mM de sacarose). As amostras do tratamento CCL foram envasadas e descongeladas convencionalmente, enquanto que para os tratamentos de VC, as amostras foram congeladas pelo método de esferas e o aquecimento foi realizado a 45°C. Análises cinéticas foram obtidas por sistema mCASA- ISperm® Cervine e análises de integridade de membrana (IM) e integridade acrossomal (IA) foram realizadas por meio de colorações como eosina-nigrosina e corante simples de acrossoma, respectivamente. As amostras foram avaliadas em triplicata e os dados foram submetidos a uma análise de multivariância MANOVA e posteriormente, teste de Tukey (p<0,05). Houve diferença significativa entre os tratamentos de CCL (MT de 42,29±9,84% e MP de 9,86±13,06%) e VC pré-congelamento (VC100 MT de 5,14 ± 2,79% e MP de 0,71±1,11%; VC250 MT de 5,14 ± 2,79% e MT de 0,71±1,11%). Não houve diferença estatística entre os tratamentos na pós-descongelamento (CCL MT de 2,35 ± 1,07% e MT de 0,12±0,21%; VC100 MT de 1,83 ± 1,26% e MP de 0,07±0,19%; VC250 MT de 1,33 ± 0,77% e MP de 0%). Foram também observadas diferenças significativas para a IM entre a pré-congelamento (CCL 81,07 ± 7,56%; VC100 83,79±5,20%; VC250 79,29±11,73%) e a pós-descongelamento (CCL 7,19±5,40%; VC100 1,36±0,59%; VC250 3,27±4,6%) em todos os tratamentos. Para a IA, não houve diferença estatística entre a pré-CCL (82,64±8,87%) e a pré-VC100 (76,50±8,34%). Já a pré-VC250 (65,43±16,97%) não diferiu estatisticamente de todos os tratamentos pós-descongelamento (CCL 43,21±16,49%; VC100 46,47±12,65%; VC250 40,64±24,85%). A drástica redução de MT e MP, principalmente na pré-VC, sugere que os espermatozoides são sensíveis às concentrações de sacarose testadas. Os danos causados às membranas plasmáticas e acrossomal pós-descongelamento juntamente com os dados cinéticos sugerem que os espermatozoides de *M. rufa* podem ter menor criotolerância em comparação com outras espécies de ruminantes selvagens e isso pode estar relacionado às características da composição do espermatozoide e da membrana plasmática que são diferentes entre as espécies.

Palavras-chave: Cervidae, criopreservação, sêmen, congelamento lento, vitrificação

Keywords: Cervidae, cryopreservation, semen, slow-freezing, vitrification

The transcriptomic and proteomic basis of the hypertrophy of the sexual segment of the kidney (SSK) in Squamata

A base transcriptômica e proteômica da hipertrofia do segmento sexual renal (SSR) em Squamata

Karina Maria Pereira Silva^{1*}, Luciana Aparecida Freitas-de-Sousa², Vinicius Carius de Souza¹, Alison Felipe Alencar Chaves¹, Solange Maria de Toledo Serrano¹, Kalena Barros Silva³, Selma Maria de Almeida-Santos⁴, Pamela Silva Santos³, Inácio Junqueira-de-Azevedo¹

¹Laboratório de Toxinologia Aplicada, Instituto Butantan, São Paulo, SP, Brasil; ²Laboratório de Imunopatologia, Instituto Butantan, São Paulo, SP, Brasil; ³Museu Biológico, Instituto Butantan, São Paulo, SP, Brasil; ⁴Laboratório de Ecologia e Evolução, Instituto Butantan, São Paulo, SP, Brasil

*E-mail: karinapitviper@gmail.com

Hypertrophy of the epithelial cells occurs in certain urinary tubules, particularly in the distal tubules, known as the sexual segment of the kidney (SSK). This phenomenon is commonly observed in adult male snakes and lizards. During peak plasma testosterone levels, SSK cells enlarge and produce secretory granules of protein origin. These granules, along with spermatozoa, are transferred to females during copulation. To characterize the role of these sexual granules in semen composition, as well as in the maintenance and survival of sperm within the female and male reproductive tract, this study aims to describe their molecular basis and evaluate the biochemical mechanisms involved in secretion production in the SSK. We collected the kidneys of *Bothrops jararaca*, including juvenile males ($n = 5$) up to 334 mm snout-vent length, adult males ($n = 5$), and adult females ($n = 5$). The kidneys were previously analyzed using histological techniques (routine histology/HE). Afterward, transcriptomic and proteomic techniques were performed on these kidneys. Furthermore, to reveal the specificity of SSK in the contribution of seminal fluid, samples of vas deferens ($n = 3$), semen ($n = 4$), and a copulatory plug were processed for proteomic analyses. Some proteins ($n = 602$) were detected only in adult males harboring SSK. The most expressed transcripts and proteins in SSK were identified as epididymal secretory proteins (ESPs), prostatic acid phosphatase (PAP), seminal vesicle secretory (SVS), vitelline membrane proteins (VMPs), and cystatin. The ESPs were highly expressed in SSK, and in lower amounts in other tissues. These proteins have been identified in the epididymis of lizards and mammals, where they play a role in sperm maturation. Additionally, the PAP has been identified in both SSK and semen. In mammals, PAP has been studied in prostate tissue and has been shown to stimulate sperm motility. SVS, VMPs and cystatin were primarily identified in the SSK, with smaller amounts in the semen of *B. jararaca*. Some forms of these proteins are also found in the reproductive tract of mammals. In conclusion, this study provides the first evidence that the SSK produces compounds similar to those found in sexual organs absent in reptiles, such as the prostate and seminal vesicle. This suggests that the SSK might play a role in the long-term storage of sperm in the vas deferens and oviduct of Squamata reptiles.

Keywords: *Bothrops jararaca*, semen, snakes, sperm storage.

Palavras-Chave: *Bothrops jararaca*, sêmen, serpentes, estocagem de espermatozoide.

FAPESP: (process number 2021/12716-7 and 2013/07467-1).

The impact of roscovitine exposure time on G₀/G₁ cell cycle arrest and apoptotic levels in fibroblasts of the northern tiger cat

O impacto do tempo de exposição a roscovitina na parada do ciclo celular G₀/G₁ e nos níveis apoptóticos em fibroblastos de gato-do-mato-pequeno

João Vitor da Silva Viana^{1*}, Luanna Lorena Vieira Rodrigues¹, Brenna de Sousa Barbosa¹, Patrícia Vasconcelos Alves², Herlon Victor Rodrigues Silva³, Sarah Sant'Anna Maranhão⁴, Claudia Pessoa⁴, Alessandra Fernandes Pereira¹

¹Laboratório de Biotecnologia Animal, Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró/RN, Brasil; ²Zoológico Municipal Sargento Prata, Fortaleza/CE, Brasil. ³Laboratório de Reprodução de Carnívoros, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza/CE, Brasil.; ⁴Laboratório de Oncologia Experimental, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza/CE, Brasil.

*E-mail: joaovitorvianajr@gmail.com

The northern tiger cat plays a fundamental role in maintaining ecosystem balance; however, it is vulnerable to extinction due to human interference. In this context, the development of reproductive biotechnologies, such as somatic cell nuclear transfer (SCNT), is crucial. To enhance SCNT efficiency, it is essential to establish G₀/G₁ cell cycle arrest. Among the available methods, roscovitine (RSV) is notable for its efficiency in inducing cell cycle arrest while minimizing viability loss and DNA fragmentation. However, the efficacy of RSV is influenced by exposure time, which varies depending on species-specific cellular characteristics. Thus, this study aimed to evaluate the impact of roscovitine exposure time on G₀/G₁ cell cycle arrest and apoptotic levels in fibroblasts of the northern tiger cat. Initially, skin biopsies were collected from the ear region of four northern tiger cats and cultured in Dulbecco's modified minimal essential medium (DMEM) supplemented with 10% fetal bovine serum and 2% penicillin-streptomycin solution at 38.5 °C and 6.5% CO₂. At the fourth passage, once fibroblasts reached 50–60% confluence, they were divided into a cycling control group and treatment groups exposed to 7.5 μM RSV for 24 or 48 hours. Apoptotic levels were assessed using acridine orange and ethidium bromide staining, while cell cycle phases were determined by flow cytometry. For each sample, 15,000 events were recorded, and histograms were generated to analyze the percentage of cells in each cell cycle phase (G₀/G₁, S, G₂/M) using MODFIT software (version 5.0). Data were expressed as mean ± standard error and analyzed using ANOVA followed by Tukey's test (P < 0.05). An increase in RSV exposure time from 24 h (94.3% ± 2.8) to 48 h (89.0% ± 3.7) resulted in a decrease in viable cells compared to cycling cells (99.8% ± 0.3). Both exposure times, 24 h (4.5% ± 2.1) and 48 h (4.5% ± 0.8), led to an increase in early apoptotic cells compared to cycling cells (0.3% ± 0.3). Moreover, 48 h of RSV treatment significantly increased the percentage of late apoptotic cells (3.5% ± 0.6) compared to 24 h (1.0% ± 0.5) and cycling cells (0.0% ± 0.0). Regarding cell cycle distribution, the increase in RSV exposure time from 24 h (83.6% ± 1.2) to 48 h (84.4% ± 1.7) did not significantly affect the G₀/G₁ cell population, which remained similar to that of cycling cells (86.0% ± 0.9). Interestingly, 48 h of RSV treatment increased the S-phase cell population from 6.3% ± 0.5 to 8.5% ± 0.7, whereas the 24 h treatment maintained it around 6%. The G₂/M population remained unchanged across all groups at approximately 7%. In conclusion, RSV exposure time influences apoptotic levels without significantly enhancing G₀/G₁ cell cycle arrest. These findings highlight the need to explore alternative approaches, such as different chemical agents or varying RSV concentrations, to improve G₀/G₁ arrest in northern tiger cat fibroblasts and optimize SCNT protocols.

Keywords: *wildlife conservation; chemical inhibition; cell cycle arrest.*

Palavras-chave: *conservação da vida selvagem; inibidor químico; parada do ciclo celular.*

Microbiota vaginal em vacas leiteiras: influência do ciclo estral e associação com a gestação

Vaginal microbiota in dairy cows: influence of the estrous cycle and its association with pregnancy

Anne Kemmer Souza^{1,2*}, Adèle Giroux³, Amanda Fonseca Zangirolamo^{1,2}, Ricardo Guella Droher², Francieli Gesleine Capote Bonato², Amauri A. Alfieri¹, Márcio Carvalho da Costa³, Marcelo Marcondes Seneda^{1,2}

¹ INCT-LEITE, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Paraná, Brazil

² REPROA, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Paraná, Brazil

³ Département de Biomédecine Vétérinaire, University of Montreal, Montreal, Canada.

*Email: aks.kemmer@gmail.com

A saúde da comunidade bacteriana vaginal associada a melhora do desempenho reprodutivo dependem, em grande parte, da estabilidade e resiliência do ecossistema. O objetivo deste estudo foi investigar variações nas populações de microbiota durante o ciclo estral e sua possível associação com taxas de prenhez usando sequenciamento de próxima geração da região hipervariável V4 do gene 16S rRNA. Vinte e uma vacas holandesas multíparas na mesma fazenda foram submetidas à inseminação artificial (IA) após a detecção do estro. Os esfregaços vaginais foram coletados quatro vezes, nos dias: D0 (antes da IA; estro), 03 (metaestro), 15 (diestro) e 19 (proestro). A ultrassonografia realizada no dia 31 confirmou que 10 vacas ficaram prenhes. Amostras coletadas no estro tiveram estatisticamente mais ASVs observados do que no diestro ($p=0,025$). Na avaliação da alfa diversidade, especificamente no índice de Simpson, foi observado que amostras coletadas no diestro tiveram diversidade estatisticamente menor do que aquelas coletadas no metaestro ($p=0,036$) e uma tendência em comparação ao estro ($p=0,051$). Não houve diferença na alfa diversidade de amostras coletadas no estro entre vacas prenhes e vazias ($p>0,050$). Na beta diversidade, os resultados mostraram que a fase do ciclo estral não influenciou a associação à comunidade (presença ou ausência de cada táxon) ($p=0,068$). No entanto, houve uma diferença estatística na estrutura da comunidade entre as bactérias em amostras coletadas nas fases de estro e diestro ($p=0,002$). Além disso, foi observada uma diferença entre o estro e o proestro ($p=0,012$). Duas vacas tinham estado de prenhez desconhecido. Dez vacas ficaram prenhes e nove não conseguiram conceber após a IA. No estro, treze ASVs foram estatisticamente diferentes entre vacas que ficaram prenhes ou não conseguiram conceber pela análise LEfSe, sendo elas: Eubacteriales não classificadas (3x), Mailhella, Lachnospiraceae não classificadas, Oscillospiraceae não classificadas (3x), Bacteria não classificadas, Rikenellaceae não classificadas, Phocaeicola (2x) e Sutterellaceae não classificadas. Por muitos anos os estudos sobre microbiota enfatizaram a patogenicidade das bactérias; no entanto, ao compreender a interação entre o animal e seus microrganismos em maior profundidade, é possível identificar marcadores biológicos que são benéficos ao hospedeiro se tornando uma chave para melhorar a trajetória de fertilidade das vacas de alta produção subferteis. Dessa forma, o presente estudo expande o conhecimento atual sobre a microbiota vaginal de bovinos.

Palavras-chaves: bovinos, estro, microorganismo, prenhes, 16S rRNA.

Keywords: cattle, estrus, microorganism, pregnancy, 16S rRNA.

Avaliação do corpo lúteo através da ultrassonografia em modo B e em modo Doppler em programa de Transferência de Embriões em Tempo Fixo.

Assessment of the corpus luteum using B-mode and Doppler ultrasound in a Fixed-Time Embryo Transfer program.

Milena Humenhuk Cebulski¹, Rodrigo Dorneles Tortorella²

¹*Graduação em Medicina Veterinária; ² Departamento de Medicina Veterinária, Centro Universitário Campo Real, Guarapuava, PR

*E-mail: vetmilena humenhuk@gmail.com

A avaliação do corpo lúteo (CL) se torna indispensável em um programa de transferência de embriões (TE). O CL é uma glândula transitória formada após a ovulação, é responsável pela produção de progesterona, hormônio essencial para o sucesso de uma concepção e manutenção da gestação. Objetivou-se avaliar receptoras de embrião baseado no acompanhamento ultrassonográfico em modo B convencional e em modo color-Doppler, comparando os resultados com a taxa de prenhez. Na ultrassonografia em modo B o CL foi classificado de acordo com seu tamanho e presença ou ausência de cavidade. Já na classificação através do modo color-Doppler, o CL foi classificado de acordo com a sua vascularização. Para os dois modos de avaliação foi realizado uma classificação de 1 a 4 para o CL, onde, “1” é um corpo lúteo excelente, “2” é um corpo lúteo muito bom, “3” é um corpo lúteo bom e “4” é um corpo lúteo regular. Foram avaliadas cinquenta e quatro (n=54) vacas holandesas receptoras, previamente sincronizadas, no dia da inovulação dos embriões. Os dados foram avaliados e comparados com a taxa de prenhez. Das 54 vacas avaliadas para a transferência de embriões em tempo fixo (TETF), obteve-se uma taxa de aproveitamento de 90,7% (49/54), das 5 vacas descartadas, 60% (3/5) tiveram como causa a ausência de CL e 40% (2/5) tiveram como causa a presença de cisto ovariano. A taxa de prenhez geral aos 30 dias foi de 24,5% (12/49). Dos 12 animais prenhes, 3 receberam classificação de excelente/muito bom em ambos os métodos de avaliação, 6 animais receberam classificação de excelente/muito bom no modo Doppler e bom/mediano no modo B, 1 animal recebeu classificação de bom/mediano no Doppler e excelente/muito bom no modo B, 2 animais receberam classificação de bom/mediano em ambos os modos ultrassonográficos. Quando se compara as taxas de prenhez em animais com CL classificados como excelente/muito bom no modo color-Doppler e em animais com CL classificados como excelente/muito bom no modo B convencional, observa-se um resultado de 25% (9/36) e 12% (4/34), respectivamente. Ao comparar as taxas de prenhez das avaliações realizadas com o modo color-Doppler, a diferença foi de 2%, com 25% (9/36) de prenhez para CL com muito alta ou alta vascularização e 23% (3/13) de prenhez para CL com média ou baixa vascularização. Já ao comparar as taxas de prenhez das avaliações realizadas no modo B em escala de cinza os resultados são contraditórios, onde obteve-se uma taxa de prenhez de 12% (4/34) para CL avaliados como excelente/muito bom, e 53% (8/15) para CL avaliados como bom/mediano. Conclui-se que houve uma variação na classificação do CL através do modo B e do modo Doppler. Em relação a taxa de prenhez, o modo color-Doppler se mostrou mais eficaz para determinar a funcionalidade do CL, pois apresentou maior taxa de prenhez.

Palavras-chave: Bovinos. Doadora. Folículo. Receptora. Vascularização.

Keywords: Cattle. Donor. Follicle. Receiver. Vascularization.

O efeito da suplementação mineral injetável na taxa de prenhez à IATF de fêmeas bovinas de corte

Effect of injectable mineral supplementation on pregnancy rate in FTAI of beef cattle females

Maria Clara Garcia Chweszczuk¹, Iara Pierezan Brum¹, Guilherme Vendramin¹, Sarah Emanuele Hau¹, Emilio Moacyr Zanetti Junior², Janislene Mach Trentin¹, Nei Moreira³

¹Laboratório de Reprodução Animal, Universidade Federal do Paraná (UFPR), Setor Palotina, Palotina – PR, ²BIOVITA – Laboratório de Reprodução Bovina, Cascavel – PR, ³Laboratório de Fisiologia Animal, Universidade Federal do Paraná (UFPR), Setor Palotina, Palotina – PR
*E-mail: neimoreira@ufpr.br

No Brasil, mais da metade das pastagens encontra-se degradada, resultando na deficiência de minerais essenciais para os animais criados a pasto e, consequentemente, na necessidade de suplementação desses elementos. A escassez de minerais pode acarretar a diminuição da fertilidade, ciclos irregulares e até anestro. Além dos impactos reprodutivos, observam-se quedas na produção de carne e leite e atraso no crescimento animal, o que possui relação com o escore de condição corporal (ECC), o qual é uma medida visual que serve para monitorar o estado nutricional e pode ser associado à taxa de concepção das fêmeas. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de um suplemento mineral injetável (Fosfosal®, Virbac, Brasil) na taxa de prenhez de vacas após IATF em conjunto ao ECC. O suplemento é uma solução comercial multimineral composta por fósforo inorgânico, fósforo orgânico, selênio, potássio, magnésio e cobre. Para isso, vacas e novilhas da raça Nelore, criadas em sistema extensivo em uma fazenda no Paraná - BR, foram protocoladas para IATF e, durante o manejo no D0, receberam o suplemento mineral injetável (15 ml, via IM, n=135, grupo SUP) ou não (n=125, grupo CON). Os animais foram classificados por categoria (nulíparas n=108, primíparas n=42 e múltiparas n=110) e, dentro de cada categoria, foram aleatoriamente alocados nos grupos SUP e CON. O protocolo foi iniciado em dia aleatório do ciclo estral (D0), no qual as fêmeas receberam um dispositivo intravaginal de progesterona, benzoato de estradiol IM e suplemento mineral injetável (grupo SUP) ou não (grupo CON). Oito dias após (D8), o dispositivo foi removido e administrados cipionato de estradiol, cloprostenol sódico e gonadotrofina coriônica equina IM. A IATF foi realizada 48 horas após a remoção do dispositivo. O diagnóstico de gestação foi realizado com pelo menos 30 dias de gestação, por meio de ultrassonografia. Os dados foram tabulados, e a comparação das taxas de prenhez e ECC entre os grupos SUP e CON foram submetidos à análise estatística com um nível de significância de 5%. Não houve diferença, estatisticamente significativa ($P>0,05$), na taxa de prenhez entre os grupos SUP 52% (70/135) vs CON 54% (68/125), assim como no ECC (com média geral de 3,55; avaliado de 1 a 5). Ao avaliarmos por categoria, as médias de prenhez e ECC também foram semelhantes ($P>0,05$), conforme resultados a seguir: primíparas SUP 70% (16/23) vs CON 68% (13/19), múltiparas SUP 45% (24/53) vs CON 49% (28/57); e nulíparas SUP 51% (24/53) vs CON 53% (26/49). Concluímos que a suplementação mineral injetável utilizada no início do protocolo de IATF, nas condições deste experimento, não melhorou a taxa de prenhez das fêmeas bovinas no rebanho avaliado. Uma hipótese que pode ser levada em consideração foi a boa condição corporal e correta suplementação mineral das fêmeas, que podem explicar a ausência da resposta ao suplemento injetável. Sugerimos que a suplementação mineral injetável seja avaliada para cada propriedade, conforme condições observadas de nutrição, avaliando, entre outros fatores, ECC e qualidade/disponibilidade da suplementação mineral utilizada.

Palavras-chave: taxa de concepção, Nelore, eficiência reprodutiva, suplemento mineral injetável.

Keywords: conception rate, Nelore cattle, reproductive efficiency, injectable mineral supplement.

Taxa de prenhez de receptoras equinas acíclicas após inovulação de embriões vitrificados provenientes de ICSI

Pregnancy rate of acyclic recipient mares after inovulation of vitrified embryos from ICSI

Ana Paula Antunes¹; Gustavo Eduardo Zeni¹; Graziella Martins¹; Thaís Baggio¹; Laura Farinon Betzek¹; Carla Fredrichsen Moya¹

¹ Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Centro-Oeste – Unicentro, Guarapuava – PR, Brasil

A ICSI consiste na obtenção de oócitos por meio de aspiração folicular guiada por ultrassonografia, seguido da maturação oocitária *in vitro*, desnudação das células do *cumulus oophorus*, injeção intracitoplasmática de um único espermatozoide viável e por fim o cultivo *in vitro* até o estágio de blastocisto, para posterior inovulação na égua receptora sincronizada. A taxa de prenhez é influenciada por diversos fatores, dentre eles o número de dias após a ovulação da égua receptora no momento da inovulação do embrião. Em receptoras acíclicas utilizam-se protocolos com estradiol que simulam a condição hormonal do estro, seguido da administração de progesterona de longa duração. Diante do exposto, o presente trabalho teve por objetivo descrever a taxa de prenhez de receptoras equinas acíclicas sincronizadas que receberam embriões vitrificados-aquecidos provenientes de ICSI. Foram utilizadas 37 receptoras acíclicas que foram sincronizadas com aplicação de 2,5 mg de benzoato de estradiol (BE), por via intramuscular, em dose única seguida de avaliação do edema uterino, por meio de palpação transretal associada a ultrassonografia. Observou-se a presença do edema uterino grau 3 (0=sem edema e 3 = edema elevado) em 24 a 48 horas após a aplicação do estradiol. A dose de 1500 mg de progesterona LA foi administrada 48 horas após a do BE e reaplicada a cada sete dias, por via intramuscular. A inovulação dos embriões foi realizada entre D3 e D6, sendo D0 o dia da primeira aplicação de progesterona. Realizou-se o diagnóstico de prenhez 5 dias após a inovulação, por meio de palpação transretal com auxílio de ultrassonografia a partir da visualização da vesícula embrionária e do reflexo especular. A taxa de prenhez das receptoras foi de 45,94% (17/37), dentro da variação descrita na literatura que é de 37,50% a 67,30% para receptoras cíclicas que receberam embriões não vitrificados, entre D4 e D6, após a ovulação. Dessa forma, o emprego de receptoras acíclicas sincronizadas com benzoato de estradiol e progesterona de longa duração é uma opção, sendo uma estratégia vantajosa, uma vez que, possibilita a antecipação da estação de monta, permite a utilização dessas éguas o ano todo para inovulação de embriões vitrificados, além de diminuir o manejo dos animais.

Palavras-chave: Biotécnicas reprodutivas, taxa de prenhez, equino.

Keywords: Reproductive biotechniques, pregnancy rate, equine.

Agradecimentos: Fundação Araucária pelo apoio financeiro.

Diálise com membrana alternativa para extrair LDL e seu efeito em diferentes concentrações no meio BWW para refrigerar sêmen equino

Alternative membrane dialysis to extract LDL and its effect on different concentrations in BWW medium for cooling equine semen

William Morais Machado¹, Larissa Rodrigues Santana², Maíra Guimarães Kersul², Rodrigo Freitas Bittencourt³, Larissa Pires Barbosa⁴, José Augusto Gomes Azevêdo², Carlos Priminho Pirovani², Paola Pereira das Neves Snoeck^{2*}

¹Faculdade de Irecê, Bahia, Brasil; ²Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), Ilhéus, Bahia, Brasil; ³Universidade Federal da Bahia (UFBA), Salvador, Bahia; ⁴Universidade Federal do Recôncavo Baiano (UFRB), Cruz das Almas, Bahia, Brasil

*Email: paolasnoeck@uesc.br

A gema de ovo, o leite e seus subprodutos são usados como estabilizadores em diluidores de sêmen, por causa da capacidade de minimizar o efluxo de colesterol e fosfolípidios da membrana plasmática dos espermatozoides, tendo em vista o potencial de fazer ligação com proteínas BSPs. No entanto, o uso de produtos de origem animal em diluidores seminais é um risco sanitário, o que estimula o desenvolvimento de meios quimicamente definidos para conservação dos espermatozoides. Nesse contexto, o uso das lipoproteínas de baixa densidade (LDLs), extraídas da gema de ovo, é uma alternativa interessante, já que é conhecida a sua capacidade de proteger os espermatozoides durante a criopreservação. Objetivou-se avaliar se o uso de uma membrana alternativa (MA) de diálise pode ser utilizada em substituição a membrana convencional (MC) para extrair LDL e, qual o seu efeito em diferentes concentrações, depois de adicionada ao meio BWW, nos parâmetros de movimento espermático equino, após 24 horas de refrigeração a 15 °C. A extração de LDL foi realizada por ultracentrifugações, seguida de adição de sulfato de amônio para garantir 40% de concentração final, seguida de diálise em membrana de celofane (MA; 20 mm) usada para embutidos cárneos e em membrana convencional (MC; Spectra MNCO; 29 mm) descrita nos protocolos de extração. O teste t foi utilizado para comparar o rendimento da extração depois da diálise, enquanto a análise proteica de natureza qualitativa por SDS-PAGE. A LDL foi adicionada imediatamente depois da extração ao meio BWW nas concentrações de 5, 10 e 15%. Dez ejaculados de diferentes garanhões foram coletados, avaliados, diluídos e rediluídos nos diferentes grupos experimentais: D1) BWW, D2) BWW + 5% LDL - MA, D3) BWW + 5% LDL - MC, D4) BWW + 10% LDL - MA, D5) BWW + 10% LDL - MC, D6) BWW + 15% LDL - MA, D7) BWW + 15% LDL - MC. O sêmen diluído foi refrigerado e armazenado a 15 °C por 24 horas, quando ocorreu análise dos parâmetros de movimento espermático pelo Sperm Class Analyser®. As diferenças entre os diluidores foram analisadas por meio de um desenho fatorial 2×3, sendo o teste de Dunnett empregado para comparar as concentrações de LDL. A MA se comportou semelhante a MC com relação ao rendimento de LDL extraída (MA: 40,48 ± 2,02 g e MC: 42,12 ± 2,26 g), com perfil eletroforético muito similar (22, 38, 43, 58, 61, 64, 72 e 99 kDa). Os parâmetros de movimento espermático não foram influenciados pelo tipo de membrana para diálise e nem pela concentração de LDL. Embora, seja importante ressaltar que o meio BWW, sem LDL, acarretou em redução significativa de todos os parâmetros de movimento: motilidade, velocidade, retilinearidade, linearidade, amplitude do deslocamento lateral da cabeça e batimento flagelar cruzado. Conclui-se que a membrana alternativa, usada para produtos cárneos, é eficaz na extração de LDL, acarretando em redução do custo final do diluidor. Além disso, a adição de LDL ao diluidor BWW teve efeito positivo, permitindo a refrigeração a 15 °C dos espermatozoides sem comprometer seus parâmetros de movimento.

Palavras-chave: Diluidor. Gema de ovo. Sêmen. Garanhão.

Keywords: Extender. Egg-yolk. Semen. LDL. Stallion.

Effect of antifreeze protein type I (AFP I) on equine semen cryopreservation

Efeito da proteína anticongelante tipo I (AFP I) na criopreservação de sêmen equino

Lorena Azevedo Silos¹, Aline Matos Arrais¹, Nathália Dutra Knust¹, Rodrigo Alves dos Santos Mendonça²,
Joanna Maria Gonçalves Souza-Fabjan¹, Felipe Zandonadi Brandão^{1*}.

¹Universidade Federal Fluminense, Niterói-RJ, Brasil. ²Universidade Federal Fluminense, Niterói-RJ, Brasil. ⁴Médico- Veterinário Autônomo, Niterói- RJ, Brasil
*fzbrandao@id.uff.br

Artificial insemination (AI) is frequently used in horse breeding. However, most AIs are carried out with cooled semen rather than frozen semen because of the difficulties in identifying a protocol that is suitable for freezing most ejaculates. Antifreeze proteins (AFP) play an important role in cellular survival at sub-zero temperatures and in different species improved semen quality after thawing. Therefore, this study assessed the effect of AFP type I (AFP I) in semen extender for equine sperm cryopreservation. For this study, 10 Mangalarga Marchador stallions, with a mean age of 9.9 ± 5.5 years (ranging from 4 to 18 years), were collected four times at minimum 2-day intervals with the aid of an artificial vagina, totaling 40 semen samples. Fresh semen samples were examined subjectively, and only ejaculates with motility $\geq 60\%$ and a total viable sperm concentration $\geq 1.8 \times 10^9$ were used. Semen samples were diluted to a concentration of 200×10^6 spermatozoa/mL in a commercial extender (INRA Freeze, IMV Technologies, L'Aigle, France), containing 0 (control), 0.1, or 0.5 $\mu\text{g/mL}$ of AFP Type I (A/F Protein Inc., Waltham, MA, USA), and then cryopreserved using an automated system. The sperm kinetics of the thawed samples were evaluated Computer-Assisted Semen Analysis (CASA) using SCA system (Sperm Class Analyzer Microptic, Nikon Eclipse Ci – Tokyo, Japan). The integrity of the plasma membrane was evaluated using the fluorescent probes acridine orange and propidium iodide, the mitochondrial membrane with MitoTracker Green, and sperm capacitation and the acrosome reaction were analyzed using the chlortetracycline. Additionally, the thawed samples were evaluated for sperm pathology, egg perivitelline membrane binding test, and hypoosmotic test. For all data, treatments were analyzed using a mixed model, including treatment as the main factor (AFP Type I concentrations) and repetition, animal and ejaculate as random factors. The addition of concentrations of 0.1 or 0.5 $\mu\text{g/mL}$ of AFP I protein in the cryopreservation extender did not determine any improvement ($P > 0.05$) on kinetic parameters, plasma and mitochondrial membranes integrity, capacitation status and acrosome reaction or sperm pathology. However, the addition of 0.5 $\mu\text{g/mL}$ of AFP I increased the number of sperm responsive to the hypoosmotic test ($P = 0.0016$) and the addition of a concentration of 0.1 $\mu\text{g/mL}$ tended ($P = 0.0832$) to increase in the number of spermatozoa bound to the membrane. In conclusion, the addition of 0.5 $\mu\text{g/mL}$ AFP I to the extender promoted benefits in the functionality of the plasma membrane of cryopreserved equine semen. Financial support: Faperj and CNPq

Keywords: diluent, freezing, membranes, spermatozoa, stallion.

Palavras-chaves: diluente, congelamento, membranas, espermatozoides, garanhão.

**Administração de HCG em cães com diagnóstico de subfertilidade de verão no Uruguai:
Relato de Caso***Administration of HCG in dogs diagnosed with summer subfertility in Uruguay: Case Report***Fila Danilo^{1,*}, Aragunde Rafael¹, Berglavaz María Alejandra², and Lacuesta Lorena³**¹UA de Reproducción Animal, ² Ejercicio Liberal, Agroveterinaria Don Quijote, Ejido 1450, ³UA de Fisiología, Facultad de Veterinaria, UR, Ruta 8 Km 18., Montevideo, Uruguay

*E-mail: danilofila@gmail.com

A administração de hCG geraria aumento da testosterona, afetando a funcionalidade testicular, gerando melhora na qualidade do sêmen. Há pouca informação sobre terapia hormonal que reverta a subfertilidade e poucas publicações sobre o uso de hCG. O objetivo foi determinar se a administração de hCG melhorou a qualidade do sêmen em cães adultos com subfertilidade de verão. Foram utilizados 11 cães machos de quatro raças diferentes com diagnóstico de subfertilidade de verão feito no outono após sua chegada ao Uruguai vindos do sul da Argentina. Dos 11 cães eram 6 Pastores Alemães (32,6 +/- 1,45Kg), 3 Buldogues Franceses (12,1 +/- 2,32Kg) e 2 Buldogues Ingleses (28,4 +/- 2,05Kg). Todos os cães estavam com plano de saúde completo, alimentados com ração balanceada super premium e água ad libitum. O diagnóstico de subfertilidade de verão foi feito através de exame andrológico completo e espermiograma onde foram determinados o volume seminal, a concentração espermática, a motilidade espermática individual e a porcentagem de espermatozoides anormais. Após o espermiograma, foram realizadas ultrassonografias de próstata e testículos em aparelho de ultrassom (Esaote MylabOne, Itália) com sonda setorial de 10 MHz. As imagens obtidas foram avaliadas com o software Imagen J, EUA, que define a intensidade de pixels de cada imagem, numa escala de 1 a 256, onde 1 é preto e 256 é branco. Uma semana após o diagnóstico, todos os cães receberam 500 UI de hCG (Chorulon, Sinervia, Uruguai) i/m a cada 15 dias durante 6 meses. Os espermiogramas foram realizados bimestralmente, sendo o primeiro dois meses após o início do tratamento, totalizando seis coletas. Para cada cão, foram determinadas médias e intensidade de pixel para cada testículo e a média de ambos os testículos foi utilizada para análise estatística. O volume seminal, a concentração espermática, a motilidade espermática individual, a porcentagem de espermatozoides anormais e a intensidade dos pixels foram analisados por ANOVA com o procedimento GLM (General Linear Models, SAS) para medidas repetidas em cada cão. O volume seminal não apresentou diferenças ao longo de toda a amostragem, com valores iniciais de 3,5 +/- 0,2ml e valores finais de 3,9 +/- 0,2ml. A concentração espermática aumentou de 450,5 ± 57 mil/ml dois meses após o início do tratamento para 795,8 ± 123 mil/ml, e depois não apresentou diferenças até o final da amostragem (P<0,01). A motilidade espermática individual aumentou dois meses após o tratamento de um valor inicial de 38,5 ± 3,4% para um valor de 78,6 ± 4,6% e depois não apresentou diferenças até o final da amostragem (P<0,01). A porcentagem de espermatozoides anormais diminuiu de um valor inicial de 42,5 +/- 3,9% para um valor de 12 +/- 0,9% três meses após o tratamento e não apresentou diferenças significativas até o final da amostragem (P<0,01). A intensidade dos pixels dos testículos diminuiu de um valor inicial de 156,8 +/- 12,3 para um valor de 111,5 +/- 10,2 dois meses após o tratamento (P<0,01) e depois não apresentou diferenças significativas até o final da amostragem. A administração de hCG em cães gerou uma melhora na funcionalidade testicular, evidenciada pela melhora na qualidade seminal e pela diminuição dos pixels, iniciando três meses após o início do tratamento, permanecendo assim até o final do tratamento. O tratamento realizado no presente trabalho envolveu a administração de 12 doses de hCG, e não foram observados efeitos negativos com a administração de múltiplas doses. Concluiu-se que a administração de hCG melhorou a qualidade do sêmen até seis meses após sua administração em cães com subfertilidade de verão.

Palavras chave: *Qualidade seminal, Andrologia, Intensidade de pixels.***Keywords:** *Seminal quality, Andrology, Pixel intensity.*

Anticoncepción em perros: Evaluación de la eficacia de una vacuna anti-GNRH

Contraception in dogs: Evaluating the efficacy of an anti-GNRH vaccine

García María Florencia^{1,2}, Nuñez Favre Romina^{1,2}, Stornelli María Cecilia¹, Pintos María Eugenia¹, García Mitacek María Carla^{1,2}, García Agustina¹, Lezama Caraballo Eukarys¹, Stornelli María Alejandra¹

¹ Instituto de Investigaciones en Reproducción, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP. ² CONICET.

E-mail: fgarcia@fcv.unlp.edu.ar

Desde hace varias décadas se han realizado estudios sobre métodos alternativos a la esterilización quirúrgica, y se ha demostrado que la contracepción no quirúrgica puede acompañar a los programas de castración quirúrgica en el control reproductivo de animales en situación de calle.

Las vacunas anti-GnRH han sido foco de estudio para el control de la reproducción en animales de producción, sin embargo, han sido poco estudiadas en caninos. El objetivo fue estudiar el efecto de la aplicación de dos dosis de la vacuna Improvac® sobre el volumen testicular, la producción espermática y la determinación de testosterona sérica en caninos adultos. Veinte machos clínicamente sanos y sexualmente maduros, entre 2 y 8 años y entre 10 y 40 kg fueron incluidos en el estudio. A cada perro, se le realizó un examen clínico, se obtuvo una muestra para determinar concentraciones séricas de testosterona, y se registró el volumen testicular y la producción espermática el día del ingreso al estudio (D0) y luego cada 4 semanas hasta el final del estudio (semana 40). A cada animal se le administraron dos dosis de 1 ML de vacuna Improvac® (Zoetis, Bélgica), en la parrilla costal izquierda, por vía subcutánea (sc). La primera dosis se administró el día cero y la segunda el día 28. Las muestras de semen fueron recolectadas utilizando el método manual sin vagina artificial y sometidas a las siguientes pruebas de contrastación seminal: motilidad (MOT, %), vigor (VI), volumen (VOL, ml) concentración espermática (CON, $\times 10^6/\text{ml}$), número total de espermatozoides (ET, $\times 10^6$), porcentaje de vivos (VIVOS, %), y morfología espermática (ME, % normal). Después de cada recolección de semen, se calculó el volumen testicular utilizando la fórmula de la esfera elongada y se extrajo sangre para la determinación de testosterona sérica mediante quimioluminiscencia. Los datos fueron analizados mediante ANOVA utilizando GLIMMIX de SAS®. En todos los animales pudieron obtenerse eyaculados completos en muestreos consecutivos no observando diferencias significativas en los parámetros seminales, entre los días 0 y 28 (MOT: $90,63 \pm 3,16$ vs $90,71 \pm 2,02$; VI: $4,38 \pm 0,26$ vs $4,5 \pm 0,29$; VOL: $3,01 \pm 0,67$ vs $2,60 \pm 0,70$; CON: $307,5 \pm 73,94$ vs $305,71 \pm 115,78$; ET: $760,12 \pm 162,77$ vs $679 \pm 197,12$; VIVOS: $90,38 \pm 2,94$ vs $83,78 \pm 2,91$; ME: $88,21 \pm 1,62$ vs $85,23 \pm 2,39$). A partir de la semana 8 se observó azoospermia, la cual se mantuvo hasta la semana 36 momento en el que se registró nuevamente espermatozoides en el eyaculado. En la semana 40 al comparar los parámetros seminales con los de los días 0 y 28 no se observaron diferencias significativas (MOT: $85 \pm 7,64$; VI: $4,33 \pm 0,33$; VOL: $2,16 \pm 0,73$; CON: $336,66 \pm 78,81$; ET: $828,33 \pm 382,76$; VIVOS: $86,33 \pm 4,18$; ME: $72,5 \pm 2,04$). El volumen testicular registrado a lo largo del estudio mostró una disminución de un 30,83% en la semana 4, 57,47% en la semana 8, hasta llegar a un 13,12% en la semana 40 respecto del valor inicial. Además, se observó una reducción progresiva en la concentración de testosterona sérica desde el día 0, semana 4, y semana 20 cuando se alcanzaron los valores más bajos ($6,11 \pm 0,92$ ng/mL; $4,4 \pm 0,69$ ng/mL; $0,68 \pm 0,29$ ng/mL respectivamente). La testosterona sérica aumentó después de la semana 20, alcanzando en la semana 40 una concentración similar a la de la semana 4 ($5,66 \pm 1,08$ ng/mL). Nuestros resultados concuerdan con trabajos publicados por algunos autores (Ajadi y Gazal., 2016, Nigerian journal of physiological sciences, 31 (1): 37–42; Elisane et al., 2017, Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, 22, p. 561). La administración de dos dosis de la vacuna anti-GnRH permitió suprimir la espermatogénesis y podría ser utilizada para el control reproductivo en caninos.

Palabras claves: anticoncepción, volumen testicular, hormonas, canino.

Keywords: Contraception, Testicular volumen, hormones, canine.

The effect of forskolin during IVM on gene expression of feline oocytes

Thais Gomes de Oliveira¹, Gabriela Ramos Leal¹, Erlândia Márcia Vasconcelos¹, Ana Lucia Rosa e Silva Maia¹, Joanna Maria Gonçalves Souza-Fabjan¹

¹Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense,
Av. Vital Brazil Filho, 64, 24230-340, Niterói, RJ, Brazil

The domestic cat is an important research model for reproductive biotechnologies focused on conserving endangered felines. The cat oocyte present a greater lipid content than other domestic animals, and the lipid accumulation during IVM can be harmful to cryopreservation techniques. Therefore, lipid modulators are being used to mitigate these impacts. Forskolin can potentially reduce intracellular lipid content by increasing lipolytic activity through cAMP and inducing the activation of intracellular lipases. Based on that, this study aimed to observe the effects of forskolin during IVM on gene expression in cat oocytes. For that, COCs were recovered from cat ovaries obtained from elective surgeries and selected based on the homogeneity of the cytoplasm and cumulus cell layers. Three replicates of IVM (TCM 199 supplemented with 0.02 IU/mL FSH/LH, 100 μ M cysteamine, 2.2 g/L sodium bicarbonate, 3 mg/mL BSA, 0.25 mg/mL sodium pyruvate, 0.15 mg/mL L-glutamine, 0.6 mg/mL sodium lactate, and 0.055 mg/mL gentamicin) were performed for each group according to the IVM treatment: Control (0 mM forskolin) and FK (100 mM forskolin added to the IVM medium). The IVM lasted 24 h, at 38.5 °C, in maximum humidity. After IVM, the COCs were stored at -196° for gene expression. Through qPCR, the expression of genes related to lipid metabolism (*PLIN 2* and *FABP3*) and oocyte developmental competence (*GD9F*, *BMP15*) was evaluated and normalized by *ACTB* and *YWHAZ* genes. Total RNA was extracted from three pools of 10 oocytes per treatment (Control and FK) obtained in three replicates. There was no difference ($P>0.05$) regarding the expression of *GDF9*, *BPM15*, and *FABP3* genes, suggesting that forskolin did not affect oocyte developmental competence. However, besides *FABP3* expression being similar between groups, *PLIN2* was upregulated ($P<0.05$) in the FK group when compared to Control. *PLIN2* plays an important role in lipophagy and the formation and stability of lipid droplets, protecting them against lipolysis. Considering that, our results demonstrated that the forskolin supplementation during IVM affects the lipid metabolism of cat oocytes and its impact needs to be better understood to make its use a strategy to reduce oocyte lipid content.

Acknowledgments: Capes (001), FAPERJ, CNPq.

Keywords: cAMP modulator, domestic Cat, Lipid metabolism.

Glutamato como modulador da expressão de genes de resposta inflamatória no testículo de cordeiros*Glutamate modulator of the expression of inflammatory response genes in the testis of lambs***Fernando Felipe da Silva Pereira^{1*}, Juliana Paula Martins Alves¹, Yohana Huicho Miguel¹, Ana Flávia Bezerra da Silva¹, Cícera Bezerra¹, Camila Muniz Cavalcanti¹, César Carneiro Linhares Fernandes², Davide Rondina¹.**¹Faculdade de Veterinária, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza-CE, Brasil, ²Centro de Ciências da Saúde, Universidade de Fortaleza, Fortaleza-CE, Brasil

*E-mail:ffpereirasilva2@gmail.com

O glutamato é um aminoácido essencial com função excitatória no sistema nervoso central, atuando como neurotransmissor e modulando a liberação hormonal. No entanto, o glutamato monossódico (GMS) pode comprometer a função reprodutiva masculina, induzindo danos oxidativos e inflamação, que leva à redução da qualidade espermática e infertilidade. O aumento das espécies reativas de oxigênio (ERO) e a elevação da expressão de interleucinas pró-inflamatórias, como IL-6 e IL-1 β , são mecanismos chave nesse processo, acarretando na morte celular. Portanto, o objetivo do estudo foi investigar a influência do GMS sobre a expressão de interleucinas pró-inflamatórias nos testículos de cordeiros pré-púberes. O experimento foi realizado nas instalações do laboratório de nutrição e produção de ruminantes - UECE. Foram utilizados 14 cordeiros da raça Santa Inês. Os animais foram divididos em dois grupos, e alimentados com feno de tifton e concentrado para atender a demanda nutricional de crescimento (NRC, 2007). O controle (GC; n=7), recebeu dieta padrão e o grupo GMS (GGMS; n=7), suplementado com (1g/kg PV) de GMS, adicionado a ração concentrada. Aos 200 dias de idade após 110 dias de ensaio, foi realizada a coleta do tecido testicular após o sacrifício, que foi lavado em PBS e armazenado imediatamente no N₂ líquido até a análise. O RNA total foi isolado usando o Trizol de acordo com as recomendações do fabricante. Para a síntese de cDNA, foi utilizado o sistema Superscript III RT-PCR e random primers. Os primers usados para amplificar foram: IL1- β e IL6. O gene RPS18 foi usado como controle endógeno. As reações foram realizadas utilizando um sistema de detecção de PCR em tempo real. Os produtos de PCR foram detectados monitorando o aumento da fluorescência emitida pelo Power SYBR® Green PCR Master Mix. O valor final da quantificação relativa foi dado por 2^{- $\Delta\Delta C_q$} . Os dados obtidos transformados em log10 e analisados estatisticamente pelo software – R Core Team, seguido pelo teste *t-Student* a 5% de significância. A análise da expressão gênica revelou que a suplementação com GMS não afetou a expressão do gene IL6. Os GC e GGMS apresentaram níveis semelhantes de expressão de IL6, com médias de (0,01 $\pm$ 0,007 e 0,12 $\pm$ 0,004), respectivamente (p=0,8553). Em contraste, a expressão do gene IL-1 β foi significativamente maior no GGMS (0,342 $\pm$ 0,12) em comparação ao grupo GC (0,097 $\pm$ 0,05) (p=0,01725), indicando que o GMS induziu uma resposta inflamatória nos testículos, evidenciada pelo aumento da expressão dessa citocina pró-inflamatória. Portanto, a suplementação com GMS induziu um processo inflamatório nos testículos, evidenciado pelo aumento da expressão do gene IL-1 β . Essa observação corrobora achados prévios em javalis, onde a suplementação com GMS (2%) resultou em elevação dos níveis de interleucina no epidídimo e testículos. O efeito pró-inflamatório do GMS é possivelmente mediado pelo estresse oxidativo. O GMS é conhecido por induzir a produção de radicais livres. De fato, estudos com ratos, demonstraram que diferentes doses de GMS (0,8 a 3 g/kg de peso corporal) elevaram os níveis de malondialdeído e óxido nítrico, além de reduzir a atividade de enzimas antioxidantes como a superóxido dismutase, glutathione redutase e catalase nos testículos. Além disso, há interação entre EROs e as citocinas pró-inflamatórias como a IL-1 β na amplificação da resposta inflamatória, comprometendo a integridade celular e culminando em danos testiculares e infertilidade. No contexto da produção animal, essa situação pode resultar em perdas econômicas. Entretanto, vale ressaltar que, apesar das evidências apresentadas, mais estudos são necessários para elucidar os mecanismos pelos quais o GMS induz o estresse oxidativo e a inflamação nos testículos, bem como as consequências dessas alterações para a fertilidade masculina na espécie ovina.

Palavras-chaves: Glutamato, ovinos, testículos, citocinas, inflamação.**Keywords:** Glutamate, sheep, testes, cytokines, inflammation.

Comparing two superovulation protocols in ewes: FSH and rbFSH- reCG
Comparação de dois protocolos de superovulação em ovelhas: FSH e rbFSH-reCG

Pedro Henrique Nicolau Pinto¹, Aline Matos Arrais¹, Mirella Batista de Oliveira Contente Garcia¹, Isabella Ramos Peixoto¹, Mariana Garcia Kako Rodriguez², Mario Felipe Alvarez Balaro¹, Jeferson Ferreira da Fonseca², Felipe Zandonadi Brandão^{1*}.

¹Universidade Federal Fluminense, Niterói-RJ, Brasil. ²Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Sobral-CE, Brasil

*Faculdade de veterinária, Universidade Federal Fluminense, Rua Vital Brazil Filho, 64, Niterói, Rio de Janeiro, 24230-340, Brazil

E-mail: fzbrandao@id.uff.br

Gonadotropins used in animal reproduction are extracted from pituitary glands collected at slaughterhouses. In sheep, traditional FSH-based superovulation is labor-intensive and yields variable results. Although recombinant gonadotropins have advanced reproductive therapies in other species, their use in ovine embryo production remains limited. The aim of this study was to compare two superovulation protocols: a traditional, using porcine pituitary gonadotropin extract (pFSH) and another using recombinant bovine FSH (rbFSH) in association with a recombinant eCG (r-eCG), in ewes subjected to non-surgical embryo recovery (NSER). A total of 40 Santa Inês ewes received during 9 days devices containing progesterone (P4; 0.36 g; Primer PR - Agener União, São Paulo, Brazil). Devices were inserted and removed at 7:00 a.m. Sixty hours before device removal, a group ewes (GpFSH, n=19, mean weight = 51.2 ± 1.8 kg and mean body condition score = 2.8 ± 0.04) started to receive six decreasing doses (25-25-15-15-10-10%), at intervals of 12 h of pFSH (333 UI i.m.; Pluset - Biogénese Bagó, Curitiba, Brazil). Another group of ewes (GrbFSH+r-eCG, n = 21, mean weight = 51.5 ± 1.7 kg, and mean body condition score = 2.8 ± 0.03) received a single dose of recombinant bovine ripafollitropin alfa (100 µg i.m.; Zimbria- Ceva, São Paulo, Brazil) at a time equivalent to the first dose of the GpFSH protocol. Additionally, a single dose of r-eCG (70 IU i.m.; FOLI-REC - Ceva, São Paulo, Brazil) was administered at a time equivalent to the fourth dose of the GpFSH protocol. All ewes received sodium cloprostenol (0.24 mg i.m.; Estron - Agner União Saúde Animal, São Paulo, Brazil) together with 5th and 6th FSH dose, or time equivalent. Estrus was checked twice a day (every 12 hours), and females were single-mated with eight rams of proven fertility. Corpora lutea were counted using transrectal ultrasonography in B-mode and Doppler one day before NSER. Ewes received a cervical dilation protocol (Dias et al., *Reprod Domest Anim*, 55:844-850, 2020) and NSER was performed six days after estrus onset. Data were expressed as mean ± SEM and compared between groups using Fisher's exact test, t-test, or Mann-Whitney test at 5% significance. There were no significant differences between the GpFSH and GrbFSH + r-eCG groups in the proportion of ewes that came into estrus (100% vs. 95%), the number of corpora lutea (7.5 ± 1.2 vs. 6.2 ± 0.9), the number of anovulatory follicles (0.78 ± 0.4 vs. 0.23 ± 0.1), the number of recovered structures (3.9 ± 1.3 vs. 3.0 ± 1.3). Successful NSER was achieved in 66% of ewes in both groups, and overall, 60.6% (54/89) of the recovered embryos were viable. No differences were observed between the use of pFSH and rbFSH with r-eCG. Further studies on superovulation in sheep are needed to improve embryo yield.

Keywords: *embryo production, progesterone, small ruminants.*

Palavras-chave: *produção de embriões, progesterona, pequenos ruminantes.*

Financial support: Fapemig (APQ 448-24), Faperj, and CNPq.

Avaliação do uso de anestésico local na região da cérvix quanto aos parâmetros de bem-estar animal na coleta de embriões não cirúrgica em ovelhas

Evaluation of the use of local anesthetic in the cervix region regarding animal welfare parameters in non-surgical embryo collection in sheep

Brenda Barbosa Martins¹, Juliana Dantas Rodrigues Santos¹, Maria Paula da Costa Plaza¹, Pedro Henrique de Mello Cotta Maia¹, Sandra Ribeiro da Silva¹, Rodolfo Ungerfeld², Felipe Zandonadi Brandão¹, Jeferson Ferreira da Fonseca³

¹Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ, Brasil. medvet.brendamartins@gmail.com

²Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay –³Embrapa Caprinos e Ovinos, Coronel Pacheco, MG, Brasil

E-mail: jeferson.fonseca@embrapa.br

A coleta de embriões não cirúrgica em ovelhas tem obtido resultados promissores. Embora seja menos invasivo e oneroso, este método ainda pode afetar o bem-estar animal devido a manipulação cervical para a realização do procedimento. O uso de anestésico local na abertura do canal da cérvix poderia contribuir positivamente sobre os níveis de estresse e dor devido à manipulação, tornando a coleta transcervical mais confortável e indolor, já que terminações nervosas foram identificadas nessa região (Costa et al., 2020). Nessa perspectiva, o objetivo desse estudo foi avaliar o efeito do uso de um anestésico local peri-cervical sobre os níveis de estresse e dor após a coleta. Ovelhas Santa Inês (n = 40, peso médio 52,0 ± 12,0 kgs; escore de peso corporal 2,8 ± 0,2) tiveram o estro sincronizado e foram submetidas a superovulação (Ribeiro et al., 2023). Um protocolo hormonal para dilatação da cérvix e anestesia epidural foi realizado para viabilizar a coleta de embriões (Leite et al., 2018), realizada por via transcervical com um circuito fechado adaptado para pequenos ruminantes (Fonseca et al., 2013). Após inserção do espéculo e visualização do óstio cervical, os animais foram distribuídos aleatoriamente em: grupo tratado (GT, n = 20) 5 mL de anestésico local (cloridrato de lidocaína a 2%, Lidovet, Bravet, Rio de Janeiro) embebido em algodão colocado latero-lateral ao óstio cervical com compressão de 30 s cada lado e manutenção sob o óstio cervical durante a coleta e grupo controle (GC, n = 20) sem tratamento. Todos os animais receberam um protocolo analgésico (Solução de dipirona sódica e N-butilbrometo de hioscina - Buscofin, Agener União; 5 mL i.v. + 5 mL i.m.). Amostras de sangue foram coletadas antes (AS) e durante a sedação (DS), antes da transposição cervical (ATC), imediatamente após a coleta (IAC), 30 min (0,5hAC), 1,5h (1,5hAC), 3h (3hAC), 6h (6hAC), 12h (12hAC), 24h (24hAC) e 48h (48hAC) após a coleta de embriões para posterior análise das concentrações séricas de albumina, proteínas totais, glicose, globulina e cortisol. Os dados foram analisados com modelo misto incluindo tratamento, momento de avaliação e suas interações como efeitos principais e as repetições foram incluídas como fator aleatório, para todos os testes foi considerado significativo $P < 0.05$. Animais tratados apresentaram maiores concentrações de albumina (GT: 2,81 ± 0,06 vs. GC: 2,67 ± 0,06 g/dL, $P = 0,0054$), proteínas totais (GT: 7,77 ± 0,14 vs. GC: 7,43 ± 0,14 g/dL, $P < 0.0001$), glicose (GT: 82,34 ± 1,84 vs. GC: 77,94 ± 1,83 mg/dL, $P = 0,0209$) e globulina (GT: 4,95 ± 0,13 vs. GC: 4,74 ± 0,13 g/dL, $P = 0,0147$) quando comparados a animais controles. As concentrações de proteínas totais e glicose variaram ($P < 0.0001$ e $P < 0.0001$) com os maiores valores agrupados em AS, DS, ATC, 1,5hAC, 3hAC e 6hAC. Não houve diferença entre os grupos em relação as concentrações circulantes de cortisol (GT: 39,26 ± 4,36 vs. GC: 39,22 ± 4,35 ng/mL), apenas oscilações nos momentos avaliados ($P < 0.0001$). Em conclusão, o uso de anestésico local necessita de melhor caracterização para sua recomendação na coleta não cirúrgica de embriões em ovelhas.

Palavras-chave: estresse, dor, recuperação embrionária, ovinos.

Impactos do peso ao nascer sobre parâmetros testiculares, morfologia e quantificação de gonócitos em leitões neonatos

Impacts of birth weight on testicular parameters, morphology, and gonocyte quantification in neonatal piglets

Fernanda Radicchi Campos Lobato de Almeida¹, Luisa Ladeia Ledo¹, Tulio Cezar Caiafa de Alkmim¹

¹Laboratório de Biologia Estrutural e Reprodução, Departamento de Morfologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais
E-mail: luisa_ladeia@hotmail.com

O peso ao nascer (PN) tem sido estudado como um fator preditivo de performance reprodutiva, com evidências de que leitões machos com maior PN apresentam aspectos morfofuncionais testiculares mais desejáveis, promovendo melhor eficiência espermatogênica. Desta forma, PN e o peso ao desmame se apresentam como critérios extremamente relevantes na seleção de reprodutores. Os gonócitos, originados das células germinativas primordiais fetais, são essenciais para a espermatogênese, pois possuem capacidade de autorrenovação e diferenciação e darão origem às espermatogônias-tronco. Este estudo é o primeiro a realizar uma análise detalhada das características morfológicas dos gonócitos em leitões de 8 dias de idade, comparando animais de alto e baixo peso, visando estabelecer um padrão de referência para estudos futuros. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFMG (CETEA), protocolo nº 65/2011. Foram selecionados 48 leitões machos (Landrace X Large White X Duroc), provenientes de 24 leitegadas, distribuídos em dois grupos experimentais de acordo com o peso ao nascimento: alto peso (1,800-2,150 kg) e baixo peso (0,750-1,100 kg). Aos 8 dias de idade, todos foram castrados e os testículos coletados para análises histomorfométricas. Os testículos foram medidos e pesados, sendo o volume testicular calculado. Para as análises histológicas, foram selecionados sete animais de cada grupo e realizada a caracterização morfológica dos gonócitos com base nas características da cromatina, do nucleoplasma e da localização nos cordões seminíferos. O número absoluto de gonócitos por testículo foi determinado por meio de cálculos morfométricos, incluindo volume do parênquima testicular, proporção volumétrica de gonócitos, volume nuclear médio e cálculo final do número total dessas células. As análises estatísticas foram realizadas para comparar os grupos experimentais, verificando normalidade e homogeneidade de variância. Testes paramétricos (ANOVA, teste de Fisher) e não paramétricos (Mann-Whitney) foram aplicados conforme necessário, com nível de significância de $P < 0,05$. Os gonócitos dos leitões de 8 dias apresentaram heterogeneidade em suas características morfológicas, sendo classificados conforme a localização nos cordões seminíferos e aspectos nucleares em tipos I, II, III e IV. Os gonócitos dos tipos I, II e III apresentaram núcleo volumoso e arredondado, com diâmetro médio entre 9,3 e 9,9 μm . Os tipos I e II apresentaram eucromatina predominante e nucléolos visíveis, enquanto o tipo III revelou mais heterocromatina e nucléolos pouco perceptíveis. Todos estavam situados no centro dos cordões seminíferos, mas o tipo III também pôde ser localizado próximo à membrana basal. Já os gonócitos tipo IV apresentaram núcleo menor (8,1 μm em média), cromatina condensada, estando geralmente em contato com a membrana basal dos cordões seminíferos. A distribuição dos quatro tipos de gonócitos não foi afetada pelo peso ao nascimento. Esses achados sugerem uma relação proporcional entre o número de gonócitos e o tamanho testicular, independentemente do peso ao nascer. Este estudo contribui para a compreensão do desenvolvimento gonadal em suínos e pode servir de base para futuras pesquisas sobre a influência do peso ao nascer sobre a espermatogênese e a fertilidade de machos reprodutores.

Palavras-chave: suínos, espermatogênese, histomorfometria, fertilidade.

Keywords: swine, spermatogenesis, histomorphometry, fertility.

Presence of antimicrobials in semen extender and their effect on swine *in vivo* embryo development

Presença de antimicrobiano em diluente seminal e seu efeito no desenvolvimento embrionário in vivo em suínos

Janine de Camargo^{1*}, José Victor Braga², Fernanda L Facioli³, Claudia Almeida Scariot¹, Pedro Nacib Jorge-Neto⁴, José Rodrigo Pandolfi⁵, Mariana Groke Marques⁵, Ricardo Zanella^{1*}

¹ESAN- Curso de Medicina Veterinária, Programa de Pós Graduação em Bioexperimentação Universidade de Passo Fundo, RS, Brasil. ²Centro de Desenvolvimento Tecnológico, PPG Biotecnologia, UFPel, Pelotas, RS, Brasil. ³PPG Ciência Animal, McGill University, Canadá. ⁴FMVZ/USP, São Paulo, SP, Brasil. ⁵Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC, Brasil

*E-mail: janinedecamargo@gmail.com

Artificial insemination (AI) is a widely adopted practice in Brazilian swine production, accounting for over 90% of pregnancies. Reproductive efficiency is a crucial economic factor in swine farming, determined by the number of piglets weaned per sow annually. Reproductive success is directly linked to semen quality, with bacterial contamination potentially compromising pregnancy rates. To mitigate contamination effects, the inclusion of antimicrobials (ATB) in semen extenders is common practice. However, indiscriminate use of these compounds has led to bacterial resistance, becoming a global concern and prompting the search for alternatives to antimicrobial use in swine semen extenders. This study aimed to evaluate swine *in vivo* embryo production without the use of antimicrobials in semen extenders. Semen doses were prepared with (ATB group: gentamicin at 0.25 g/L in conventional blisters) and without antimicrobials (NO ATB group: blisters containing bacteriostatic particles in the plastic), stored at 16–18 °C for 72 hours, and subsequently used to inseminate gilts (ATB n = 8; NO ATB n = 7). All females were in their third estrous cycle without hormonal synchronization. Gilts were cervically inseminated with three semen doses from the same boar, each containing 2.5×10^9 spermatozoa. Five days after the last AI, the females were slaughtered, and the complete reproductive tract was collected and transported in saline solution (0.9%) at 37 °C to the laboratory. The total number of corpora lutea per gilt was assessed, and embryos were recovered by flushing the oviduct and uterine horns with warmed PBS. Embryos were then classified according to their developmental stage. The embryo recovery rate (Grade I) was 65% (70/107) for the NO ATB group and 54% (70/128) for the ATB group. Embryo development kinetics differed between treatments ($p < 0.05$). Additionally, when evaluating the embryo recovery at the expected developmental stage for the collection time (five days post-AI), slower embryo development was observed in the ATB group (NO ATB group: 57%, 62/107; ATB group: 31%, 40/128). In the ATB group, 30 structures were recovered at stages earlier than morula (2/4 cells, 8/16 cells, 16/32 cells), whereas only eight were recovered in the NO ATB group. At the morula stage, 16 structures were recovered in the ATB group, compared to 36 in the NO ATB group. The ATB group had 16 embryos at the blastocyst stage and eight at the expanded blastocyst stage, while the NO ATB group had 12 blastocysts, five expanded blastocysts, and nine hatched blastocysts. This study associates the use of antimicrobials in semen extenders with alterations in the production and developmental kinetics of pig embryos.

Palavras-chave: suíno, sêmen, antimicrobianos, embriões.

Keywords: boar, semen, antimicrobials, embryos.

Efeitos da suplementação de fibra dietética durante o período pré-cobertura sobre a morfologia uteroplacentária em marrãs aos 45 dias de gestação e sua relação com o peso fetal
Effects of dietary fiber supplementation during the pre-mating period on uteroplacental morphology in gilts at 45 days of gestation and its relationship with fetal weight

Luisa Ladeia Ledo¹, José Andrés Nivia Riveros¹, Bruno Bracco Donatelli Muro², Cesar Augusto Pospissil Garbossa², Fernanda Radicchi Campos Lobato de Almeida¹

¹Laboratório de Biologia Estrutural e Reprodução, Departamento de Morfologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais

²Departamento de Nutrição e Produção Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo (USP), Pirassununga, São Paulo, Brasil
E-mail: luisa_ladeia@hotmail.com

Sabe-se que a suplementação com fibras dietéticas pode melhorar a capacidade reprodutiva da fêmea suínas, favorecendo o desenvolvimento embrionário/fetal e placentário. Entretanto, há lacunas sobre os mecanismos envolvidos. O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da suplementação de fibra dietética no período pré-cobertura sobre a morfofuncionalidade uteroplacentária, associando-a ao peso fetal. O protocolo do estudo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da FMVZ-USP, sob número de protocolo 2937101122. Foram selecionadas 16 marrãs comerciais híbridas (Yorkshire x Landrace) com $175 \pm 0,1$ dias de idade foram divididas em dois grupos experimentais: controle (CON; n = 8) e tratado (FIB; n = 8). As marrãs do grupo FIB receberam 3 kg de dieta basal acrescida de 400 g de suplemento fibroso ao longo de todo o ciclo estral (20 dias), enquanto o grupo CON recebeu 3 kg de dieta basal com 85 g de óleo de soja, garantindo o mesmo requerimento de energia metabolizável. O suplemento fibroso foi composto por 40% de farelo de trigo, 25% de polpa cítrica, 25% de lignocelulose e 10% de goma guar. As dietas foram administradas duas vezes ao dia. A detecção do estro foi realizada duas vezes ao dia (8h e 16h), sendo as marrãs inseminadas com sêmen fresco a cada 24h enquanto em estro. No 45º dia após a primeira inseminação, foram eutanasiadas por eletronarcose e exsanguinação. O trato reprodutivo foi removido e os cornos uterinos dissecados para coleta de fragmentos das unidades uteroplacentárias. As amostras de fetos viáveis foram coletadas considerando peso, sexo e posição uterina. Após a remoção da placenta correspondente, foram pesados e medidos do comprimento cabeça-cauda. O líquido corioalantóico foi mensurado utilizando um cilindro graduado. Posteriormente, foram categorizados em leves (L) ou pesados (P), baseado no peso médio da leitegada, sendo o sexo fetal determinado morfológicamente e os grupos experimentais foram estabelecidos. As amostras uteroplacentárias foram processadas para obtenção de lâminas histológicas, sendo realizadas análises da proporção volumétrica dos componentes endometriais (tecido conjuntivo, epitélio glandular, lúmen glandular e vasos sanguíneos), área e densidade das glândulas endometriais, assim como o comprimento da interface uteroplacentária. Os dados foram analisados por meio da análise de variância (ANOVA), e as médias comparadas pelo teste de Tukey, considerando significância de $P < 0,05$. Os resultados aqui apresentados são preliminares compostos por machos leves (ML; n = 3) e pesados (MP; n = 3), para ambos os grupos experimentais. A suplementação com fibra dietética influenciou a proporção volumétrica dos componentes endometriais, com menor porcentagem de tecido conjuntivo ($P = 0,0177$), e maior porcentagem de epitélio glandular ($P = 0,0347$). Por outro lado, a suplementação de fibras não alterou a porcentagem dos demais componentes endometriais, área e a densidade das glândulas endometriais, tampouco o comprimento da interface uteroplacentária. Assim como, o volume do líquido corioalantóico foi maior nas porcas FIB em relação às CON. Esses resultados sugerem que a suplementação de fibras pode melhorar o contato entre sangue materno e fetal e estimular a produção de histótrofo pelas glândulas endometriais, fundamentais para a sobrevivência fetal.

Palavras-chave: placenta, eficiência reprodutiva, suíno, nutrição materna.

keywords: placenta, reproductive efficiency, swine, maternal nutrition.

Teste de protocolo de indução hormonal com Acetato de Buserelina associado a inibidor de dopamina em fêmeas de pacu (*Piaractus mesopotamicus*)

*Testing a hormonal induction protocol with Buserelin Acetate associated with a dopamine inhibitor in female pacu (*Piaractus mesopotamicus*)*

Roosevelt Passos Barbosa^{*1}, Cristiane Fernanda Benevente¹, Laíza Maria de Jesus Silva¹, Felipe Ricardo Santos de Almeida¹, Márcio Roberto Reche¹, Valdecir Fernandes de Lima¹, Sergio Ricardo Batlouni¹.

¹Centro de Aquicultura da UNESP/Jaboticabal, Jaboticabal, SP

*E-mail:r.barbosa@unesp.br

O objetivo deste estudo foi testar um novo protocolo de indução hormonal em fêmeas de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) com o uso de hormônio sintético análogo ao GnRH (Acetato de Buserelina) associado ao inibidor de dopamina, comparado ao protocolo tradicional de tratamento com extrato de hipófise de carpa (EHC). Foram selecionadas 12 fêmeas, do plantel de reprodutores do CAUNESP segundo as características visuais de amadurecimento sexual, com biomassa total (BT) de $3,03 \pm 0,53$ kg, foram separadas aleatoriamente em desenho experimental de 4x3 (4 indivíduos, 3 tratamentos) sendo os tratamentos: T1 = EHP + cloprostenol sódico, T2 = acetato de buserelina + Domperidona + cloprostenol sódico e T3 = acetato de buserelina + cloprostenol sódico. Nas fêmeas T1, o EHC foi administrado na dosagem de 6,0 mg/kg, em duas aplicações (10 e 90%, com um intervalo de 24 horas entre as aplicações), aplicado juntamente com a segunda dose, 2,0ml de cloprostenol sódico/indivíduo. As fêmeas T2 e T3, receberam acetato de buserelina na dose de 0,5 ml/kg em dosagem única, sendo que as fêmeas T2 receberam juntamente inibidor de dopamina (Domperidona) na dose de 2,5mg/kg. Ambos os tratamentos, T1 e T2, receberam cloprostenol sódico após 5 horas da dose de acetato de buserelina. A desova ocorreu aproximadamente em 320 horas após a segunda dose de EHC em fêmeas do T1 com desova média de $234,00 \pm 83,50$ g, e taxa de fecundidade em 60% e eclosão em 40%. Não houveram respostas à ovulação das fêmeas T2 e T3 após 40 horas da indução com acetato de buserelina. Embora apresentassem sinais morfológicos claros de amadurecimento sexual tais como papilas genitais proeminentes, abdômen inchado e macio, não houve a expulsão dos oócitos. Podemos concluir que a dosagem administrada de 0,5ml/kg em dose única de acetato de buserelina associado a inibidor de dopamina, não surtiram efeito na maturação final dos oócitos, necessitando, portanto, aprofundamento de estudos sobre o efeito da dosagem administrada nos ovários.

Palavras chave: reprodução, hormônio sintético, desova, nativo.

Keywords: reproduction, synthetic hormone, spawning, native.

Proposta de definição de critérios para a captura com base no estudo da carga reprodutiva de peixes amazônicos

Proposal to define capture criteria based on reproductive load study of Amazonian fish

Rafael Yutaka Kuradomi¹, Juan Carlos Alonso², Rainara de Jesus Gato Soares¹, Alfredo Pérez Lozano¹

¹Instituto de Ciências Exatas e Tecnologia - ICET, Universidade Federal do Amazonas - UFAM, Itacoatiara, AM, Brasil, ²Instituto de estratégia socioambiental e estratégica da Amazônia - PIATAM, UFAM, Manaus, AM, Brasil
E-mail: rkuradomi@ufam.edu.br / piracatinga@yahoo.com.br

O melhor entendimento das espécies de peixes amazônicos sobre o momento que atingem a puberdade e passam a investir na reprodução é essencial para preservação dos estoques pesqueiros, especialmente em uma região onde o equilíbrio entre exploração e conservação é vital para a subsistência de comunidades ribeirinhas. No entanto, são poucas espécies que tem o seu tamanho de captura regulamentado, e sem uma revisão dos critérios técnicos com base biológica, para a determinação dos tamanhos regulamentários. O objetivo deste estudo foi analisar as variações no investimento em crescimento e reprodução das espécies, através da variabilidade na maturidade sexual, e a carga reprodutiva (comprimento médio de maturidade sexual - L_m e sua relação com o comprimento máximo - L_{max}), como indicadores para definir, comprimentos mínimos e máximos regulamentais de captura. Para isso foram compilados dados, extraídos de fontes publicadas, sobre tamanhos (mínimos, máximos, de maturidade sexual, e assintótico) de 123 espécies de peixes amazônicos. Os resultados indicaram uma forte correlação linear entre L_m e L_{max} , porém sem diferenças significativas entre machos e fêmeas quando se analisaram o total de espécies. Foi identificado que as espécies de pequeno porte atingem a puberdade mais cedo, enquanto espécies maiores retardam a puberdade para maximizar a produção de descendentes. A relação L_m/L_{max} foi constante entre espécies do mesmo gênero, e similares entre famílias de ordens diferentes. Este estudo desenvolveu um critério técnico como proposta, para definir comprimentos mínimos e máximos de captura, utilizando como limites referenciais a carga reprodutiva $(L_m/L_{max}) * L_{max}$ e o comprimento ótimo de captura ($L_{opt} = 2/3 * L_{max}$), como uma ferramenta a ser aplicada na gestão dos recursos pesqueiros amazônicos.

Palavras-chave: tamanho; pesca; puberdade; preservação; rio Amazonas.

Keywords: size; fishing; puberty; preservation; Amazon river.

Efeitos da obesidade no desempenho reprodutivo de zebrafish (*Danio rerio*)

Effects of obesity on the reproductive performance of zebrafish (Danio rerio)

Blenda Rodrigues Nunes Vilela¹, Bárbara do Carmo Rodrigues Virote¹, Mariana Milagres Solis², Laura Cristina Jardim Porto Pimenta², Luis David Solis Murgas^{1*}

¹Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias - Universidade Federal de Lavras, Lavras/MG, Brasil, ²Programa de Pós-graduação em Nutrição e Saúde - Universidade Federal de Lavras, Lavras/MG, Brasil

*E-mail: lsmurgas@ufla.br

A obesidade é uma desordem metabólica de causas multifatoriais, que pode impactar negativamente a reprodução. Dentre os modelos utilizados para essa área de estudo, o zebrafish é um modelo experimental de pesquisa consolidado, devido ao seu rápido desenvolvimento, sua alta fertilidade e reprodução ao longo de todo ano. O objetivo deste trabalho é avaliar os efeitos da obesidade na reprodução do zebrafish. O experimento foi realizado no Biotério Central da Universidade Federal de Lavras registrado sobre o número 084/2017 pelo Comitê de Ética Animal. Para tanto, animais adultos de ambos os sexos, foram mantidos em condições ideais de cultivo em sistema de recirculação de água. Os animais foram divididos em dois grupos: Grupo Controle (GC) e Grupo Induzido a Obesidade (GO). Durante oito semanas, o GC recebeu uma dieta balanceada para a espécie (20 mg/dia/peixe) e o GO foi superalimentado (120 mg/dia/peixe). Semanalmente realizava-se a reprodução dos animais. O protocolo para reprodução consistiu em remover os animais do aquário e acondicioná-los em criadeiras próprias para reprodução no dia anterior a cada desova, sendo mantidos fêmeas e machos separados por uma divisória (proporção 1:1). No dia seguinte pela manhã, antes do término do período de escuro, removia-se a divisória e juntavam-se os animais. Após 2 horas, os embriões eram coletados e alocados em uma placa de Petri contendo meio *Egg Water* para incubação e desenvolvimento. A análise do desenvolvimento embrionário foi realizada até 120 horas pós fertilização (hpf). Os dados foram analisados estatisticamente pelo teste de normalidade ANOVA. Os índices de fertilidade e fecundidade absoluta não apresentaram nenhuma diferença significativa ($p>0,05$), entretanto a taxa de eclosão no GO foi 55% menor que o GC ao final do experimento ($p<0,05$). Além disso, os embriões do GO apresentaram uma maior taxa de mortalidade e maiores alterações morfológicas, tais como edema, lordose e alterações na formação da cauda. A obesidade nos zebrafish não está relacionada com o desenvolvimento de infertilidade, uma vez que os índices de fertilidade e fecundidade não apresentaram diferença significativa entre os grupos ($p>0,05$). Por outro lado, a obesidade pode impactar no desenvolvimento embrionário dos descendentes e na taxa de mortalidade dos embriões. Os resultados obtidos nesta pesquisa demonstram os impactos negativos da indução da obesidade na capacidade reprodutiva do zebrafish, uma vez que reduz a taxa de eclosão e compromete o desenvolvimento embrionário.

Palavras-chave: Nutrição. Superalimentação. Reprodução.

Keywords: Nutrition. Overfeeding. Reproduction.

Apoio: CAPES, FAPEMIG e CNPq.