

Resumos apresentados pelos autores durante a Sessão de Posters do XVIII Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, Belo Horizonte, de 3 a 5 de junho de 2009.

Animais aquáticos (resumos 001-002)
Animais de laboratório (resumos 003-005)
Animais silvestres (resumos 006-020)
Asininos (resumos 021)
Aves (resumos 022-025)
Bovinos (resumos 026-135)
Bubalinos (resumos 136-141)
Caninos (resumos 142-168)
Caprinos (resumos 169-195)
Coelhos (resumos 196)
Eqüinos (resumos 197-218)
Felinos (resumos 219-225)
Ovinos (resumos 226-273)
Suínos (resumos 274-284)

ANIMAIS AQUÁTICOS

001

Diferentes hormônios utilizados na indução hormonal em (Rã-touro (*Lithobates catesbeianus*) (*Different hormones used in hormonal induction in Bull-frog (Lithobates catesbeianus)*)

G.J.M. Pereira¹, L.L. Calado¹, R.V.S. Abreu¹, R.A. Mello¹, O.P. Ribeiro Filho², L.D.S. Murgas¹, E.U. Winkaler¹, A.C.S. Gonçalves¹, G.C. Veras¹

¹Departamento de Medicina Veterinária/UFLA, Lavras, MG; ²Ranário Experimental, DBA/UFV, Viçosa, MG. E-mail: gilmarajmp@yahoo.com.br

Introdução

Em anuros, por tipicamente apresentarem fecundação externa o desenvolvimento de técnicas de inseminação artificial podem ser consideradas mais simples segundo Kouba (2009), isto é comprovado em inúmeros estudos que foram bem sucedidos utilizando-se de hormônios exógenos para induzir a espermiacção em uma grande variedade de sapos e rãs. O presente trabalho foi realizado com intuito de verificar dentre os indutores freqüentemente utilizados na indução hormonal de rã touro, qual o mais eficaz na obtenção de espermiacção.

Materiais e métodos

Foram utilizados 25 animais em quatro tratamentos com diferentes indutores hormonais, Extrato Bruto Hipofisário de carpa (EBHc), Acetato de Buserelina (AcB), Hormônio Liberador de Gonadotropinas (GnRH análogo), Gonadotropina Coriônica humana (hCG) e um grupo testemunha induzido com soro fisiológico. As coletas seminais foram realizadas as duas, quatro e seis horas após a aplicação hormonal. Foram avaliadas características seminais como volume (ml), vigor (0-5), motilidade (%) e concentração de espermatozoides/ml e o número de animais que espermiaram (NAE).

Resultados e discussão

De todos os animais induzidos, 28% apresentaram resultado positivo aos indutores. No tratamento com GnRH otevemos 20% dos animais espermiados, enquanto que no tratamento com AcB foram apenas 8%. Este resultado se repetiu em todos os intervalos de tempo. A tabela 1 mostra os dados das características seminais dos animais induzidos com GnRH e AcB. O melhor indutor utilizado foi o análogo ao GnRH onde todos os animais espermiaram.

Tabela 1: Características seminais dos animais induzidos com GnRH e AcB.

Indutores	Hora	NAE	Volume	Vigor	Motilidade	Concentração
GnRH	5	4,56 ± 2,35	2,6 ± 1,1	67 ± 16	1,28x10 ⁵	
AcB	2	3,25 ± 3,89	1,5 ± 0,7	57 ± 28	3,03x10 ⁵	
GnRH	5	2,54 ± 2,09	2,2 ± 1,3	54 ± 25	1,82x10 ⁵	
AcB	2	3,17 ± 1,61	3,5 ± 2,0	28 ± 28	2,83x10 ⁵	
GnRH	5	1,40 ± 0,89	1,4 ± 1,5	22 ± 38	5,86x10 ⁵	

Referências bibliográficas

Kouba A.J.; Willis E.L.; Vance C.K. 2009. Artificial fertilization for amphibian conservation: Current knowledge and future considerations. *Theriogenology* 71: 214–227.

Palavras-chave: Rã touro, hormônio, reprodução, sêmem.

Keywords: Bull frog, hormone, reproduction, semen.

002

Aspectos qualitativos e quantitativos do sêmen de tambaqui após indução hormonal (*Qualitative and quantitative aspects of tambaqui semen after hormonal induction*)

A.N. Maria*, P.C.F. Carneiro, H.C. Azevedo, C.A. Silva, J.P. Santos

Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju-SE; *E-mail: niziomaria@gmail.com

Introdução

O tambaqui *Colossoma macropomum* é um peixe nativo da bacia Amazônica e encontra-se entre as espécies mais importantes e de alto valor comercial em países como o Peru, Colômbia e Brasil. Várias técnicas de indução hormonal da reprodução de peixes têm sido utilizadas nas últimas décadas, entre elas, a aplicação do extrato bruto de hipófise de carpa (EHC), método de indução artificial da reprodução de espécies reofílicas mais utilizado nas estações de piscicultura. Nos machos a indução com extrato bruto de hipófise provoca hidratação nos testículos e acelera o ciclo reprodutivo facilitando a espermiacção (Zaniboni-Filho & Weingartner, 2007). O objetivo deste trabalho foi avaliar os parâmetros qualitativos do sêmen de tambaqui submetido ou não à indução hormonal com EHC.

Material e Métodos

Vinte e dois exemplares machos sexualmente maduros (7±1 Kg, 65±4 cm) foram utilizados nas análises individuais. Metade dos peixes foi submetida à indução hormonal com EHC (0,25 e 2,5 mg/kg de peso corporal, com intervalo de oito horas entre aplicações), enquanto a outra metade não foi submetida à indução hormonal. Doze horas após a segunda aplicação, o sêmen foi coletado e o efeito da indução hormonal sobre os parâmetros seminais qualitativos (coloração e aspecto visual, pH, motilidade, morfologia e viabilidade espermática) e quantitativos (volume, concentração espermática e número de espermatozoides no ejaculado) avaliado.

Resultados e Discussão

Todos os parâmetros analisados, exceto motilidade e número de espermatozoides vivos, apresentaram diferenças significativas entre os animais induzidos e não induzidos. A indução hormonal aumentou 25 vezes o volume de sêmen produzido e cerca de 10 vezes o número de espermatozoides coletados. A concentração espermática, por outro lado, foi reduzida pela metade nos animais submetidos à indução hormonal. O número de defeitos espermáticos menores e totais foram maiores nos machos não induzidos, enquanto que nos defeitos maiores não foram observadas diferenças entre os tratamentos. O EHC é eficiente no processo de indução hormonal de tambaqui, facilitando a retirada do sêmen e melhorando seus aspectos quali-quantitativos.

Referências bibliográficas

Zaniboni-Filho, E. Weingartner, M. Técnicas de indução da reprodução de peixes migradores. *Revista Brasileira Reprodução Animal*, v. 31, n.3, p. 367-373, 2007.

Palavras-chave: Extrato de hipófise; espermatozoides; *Colossoma macropomum*.

Keywords: Pituitary extract; spermatozoa; *Colossoma macropomum*.

Agradecimentos: CODEVASF-4^oSR; CNPq (proc.480110/2008-5); FAPITEC (proc.19.202-00809/2007-9).

ANIMAIS DE LABORATÓRIO**003**

Efeitos da desnutrição protéica após o desmame sobre parâmetros testiculares em ratos adultos criptorquídicos (*Effects of protein malnutrition after weaning on testicular parameters of cryptorchidic adult rats*)

M.C. Melo¹, F.A. César¹, D.A. Chianca Jr.², H. Chiarini-Garcia¹, F.R.C.L. Almeida¹

¹Laboratório de Biologia Estrutural e Reprodução – ICB – UFMG; ²Laboratório de Fisiologia Cardiovascular – UFOP. E-mail: falmeida@icb.ufmg.br

Introdução

A alimentação exerce influência sobre a eficiência reprodutiva uma vez que os nutrientes participam diretamente no desenvolvimento e função dos sistemas reprodutores [1]. Em geral, os animais jovens são mais susceptíveis à desnutrição, já que apresentam uma demanda nutricional aumentada durante o desenvolvimento. Essa condição pode desencadear alterações permanentes no sistema reprodutor destes animais [2]. No entanto, poucos estudos avaliaram o papel da proteína sobre a função testicular. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da deficiência protéica após o

desmame em alguns parâmetros testiculares de ratos adultos criptorquídicos.

Material e Métodos

Dois grupos de filhotes foram selecionados após desmame: Criptorquídicos Controle (n=3, receberam dieta comercial – ~20% PB) e Criptorquídicos Deficiente (n=4, receberam dieta deficiente em proteína – ~6%PB), ambos até aos 70 dias de idade. Aos 21 dias de idade, os ratos foram submetidos ao criptorquidismo unilateral. Aos 70 dias, os animais foram sacrificados e perfundidos com glutaraldeído e fragmentos testiculares foram incluídos em glicol metacrilato [3]. Dados biométricos (peso corporal e testicular) e morfométricos (diâmetro tubular e do lume e altura do epitélio seminífero) foram obtidos. O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente ao acaso e as médias foram comparadas pelo teste t.

Resultados e Discussão

A análise comparativa entre diferentes parâmetros dos testículos criptorquídicos de animais controle e deficiente sugere que a proteína influencia o desenvolvimento do sistema reprodutor, tal como demonstrado na Tab. 1.

Tabela 1. Análise comparativa entre os testículos dos animais criptorquídicos controle e criptorquídicos deficientes. Para efeito de comparação, o peso de um testículo normal de rato seria de 1,60 gramas. (a,b P<0,0001).

Parâmetros	Controle	Deficiente	EP
Peso Corporal (g)	285 a	45 b	8,31
Peso Testículo (g)	0,369 a	0,117 b	0,0602
IGS	0,259 a	0,133 b	0,0278
Diâmetro do Lume	8,063 a	0,522 b	0,3103
Altura do Epitélio	4,060 a	3,303 b	0,0834
Diâmetro Tubular	19,166 a	12,475 b	0,2226

Os resultados indicam que o aumento da temperatura testicular devido ao criptorquidismo experimental afeta o desenvolvimento testicular e que estes efeitos são potencializados pela deficiência protéica.

Referências bibliográficas

- [1] Maggioni et al, Campo Digit@l. 2:105-110,2008;
- [2] Ferrell CL, Reproduction in Domestic Animals, 4: 577-603, 1991
- [3] Chiarini-Garcia & Meistrich. Methods Mol. Biol, 450: 95-107, 2008.

Palavras-chave: desnutrição, proteína, criptorquidismo, testículo.

Keywords: malnutrition, protein, cryptorchidism, testis.

004

Taxa de clivagem de embriões de camundongos mantidos previamente em diferentes meios de manipulação (*Cleavage rate of mice embryos previously maintained on different manipulation media*)

E.P. Costa, F.G. Lopes, E.M.C. Pereira, M.C. Dias, V.L.D. Queiroz, G.M. Santos, J.R.M. Almeida Neto, S.L. Costa, R.J.O. Arroyo, G.G. Macedo

Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Veterinária, Viçosa, MG. E-mail: epcosta@ufv.br

Introdução

Ainda que muitos fatores sejam determinantes para a melhoria dos resultados de transferência de embriões (TE), o meio utilizado para a coleta e manutenção das estruturas até a inovação é um aspecto importante, uma vez que pode interferir na qualidade e, conseqüentemente, na viabilidade dos embriões (Bavister, 1995). O meio de manipulação deve ser o menos complexo possível, proporcionando um ambiente estável e oferecendo condições para o desenvolvimento dos embriões, para que realizem a implantação e resultem em gestações viáveis. Desta forma, o objetivo do presente trabalho foi substituir o meio de manipulação empregado nas rotinas de TE (PBS modificado), por soluções mais simples e estáveis.

Material e Métodos

Para este estudo, foram utilizados 56 embriões de camundongos da raça Suíça-Alpina, no estágio de mórula compacta, divididos em três tratamentos: T1 – controle (PBS modificado), T2 (MD1 – meio definido 1) e T3 (MD2 – meio definido 2). Os embriões foram mantidos por quatro horas em determinado meio de manipulação e, em seguida, cultivados por 10 horas no meio de cultivo (TCM modificado). A contagem do número de células foi realizada após o término do tempo de cultivo, em embriões no estágio de blastocisto expandido. A variável quantitativa “número de células” foi submetida ao teste de Normalidade (Lilliefors) e Homocedasticidade (Cochran). Posteriormente, os dados foram analisados por meio de análise de variância e as médias comparadas utilizando o teste F, adotando-se o nível de 5% de probabilidade (Saeg, 1999).

Resultados e Discussão

O número médio de células encontrado foi de $51,9 \pm 8,8$, $55,4 \pm 9,2$ e $58,1 \pm 12,0$ para os embriões dos tratamentos T1, T2 e T3, respectivamente. De acordo com Pereira et al. (2005), o número de células embrionárias pode ser considerado um importante indicador de qualidade e, conseqüentemente de viabilidade dos embriões. Os resultados observados até o momento indicam que número de células dos embriões não difere entre os tratamentos ($P>0,05$), sugerindo então, que o

desenvolvimento e a qualidade embrionária não foi afetada por nenhum dos meios de manipulação testados. Este trabalho encontra-se em andamento, associado com outros testes *in vitro* e *in vivo*, com embriões bovinos, no intuito de substituir o meio de manipulação mundialmente empregado.

Referências bibliográficas

Bavister, B.D. Culture of preimplantation embryos: facts and artifacts. *Human Reproduction Update*, v.1, n.2, p.91-148, 1995.

Pereira, D.C.; Dode, M.A.N.; Rumpf, R. Evaluation of different culture systems on the *in vitro* production of bovine embryos. *Theriogenology*, v. 63, p. 1131–1141, 2005.

Sistema de Análise Estatística e Genética (SAEG). *Manual do usuário*. Versão 8.0. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, Central de Processamento de Dados, 1999. 138p.

Palavras-chave: meios de manipulação, embriões, camundongo.

Keywords: manipulation media, embryo, mice.

Apoio financeiro: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais – FAPEMIG.

005

Influência da pentoxifilina na taxa de prolificidade de ratas wistar adultas (*Influence of pentoxifylline in the fertility rate of adult wistar rats*)

F.R.L. Rolim, R.J. Vieira, R.M. Fernandes, M.Z.L.C.M. Fernandes, H.K.M. Luz, F.J. Moraes Junior

Universidade Federal do Piauí/ Centro de Ciências Agrárias. E-mail: fernandarrolim@hotmail.com

Introdução

A Pentoxifilina atua como inibidora de enzimas denominadas fosfodiesterases (PDE's), que controlam a concentração intracelular de AMPc, induzindo ao aumento deste e, em consequência, aumenta a estimulação hormonal (CONTI, 2000). A Pentoxifilina protege as células de peroxidação lipídica por radicais livres (ZHANG et al., 2005) que estão envolvidos no estresse oxidativo da fêmea mamífera, haja vista os prejuízos causados por estas moléculas no que se refere às patologias reprodutivas e quadros de infertilidade (AGARWAL et al., 2003). Este trabalho teve como objetivo avaliar a influência da Pentoxifilina na taxa de prolificidade de ratas Wistar através do número de filhotes/parto.

Material e Métodos

Foram selecionadas 24 ratas Wistar adultas, com peso variando entre 200 e 240 gramas. A determinação das fases do ciclo estral foi realizada no início da manhã e final da tarde, através da análise da citologia vaginal, durante quatro dias consecutivos. Para o grupo controle, administrou-se Solução Fisiológica 0,9% (G1) e nos três grupos tratamento, a Pentoxifilina em diferentes concentrações: 15mg/kg (G2), 30mg/kg (G3) e 60mg/kg (G4). As substâncias foram administradas durante oito dias por via intraperitoneal, tendo início no dia do estro, e em seguida as ratas foram transferidas para gaiolas com machos na proporção 2 x 1 (duas fêmeas para um macho), onde permaneceram durante cinco dias para a cópula. Em torno de 20 dias após este período, houve identificação das ratas paridas, seguida da contagem dos filhotes. Os resultados foram analisados estatisticamente pelo Teste de Kruskal-Wallis a nível de significância de 5%.

Resultados e Discussão

As médias e erros padrão dos grupos G1, G2, G3 G4 são respectivamente: 9.00±3.9, 10.33±1.75, 10.00±1.58, 9.63±0.74. A partir destes resultados, verifica-se que não houve diferença significativa entre as médias dos quatro grupos, demonstrando que não houve influência da Pentoxifilina, na taxa de prolificidade.

Referências bibliográficas

Agarwal A, Saleh RA, Bedaiwy MA. Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction. *Fertility and Sterility*, v. 79, p. 829-843, 2003.

Conti, M. Phosphodiesterases and cyclic nucleotide signaling in endocrine cells. *Molecular Endocrinology*, v. 14, p. 1317-1327, 2000.

Zhang X, Sharma RK, Agarwal A, Falcone T. Effect of pentoxifylline in reducing oxidative stress-induced embryotoxicity. *J Assist Reprod Genet.*, v. 22, 2005.

Palavras-chave: prolificidade, fosfodiesterase, pentoxifilina, rata.

Keywords: prolificity, phosphodiesterase, pentoxifylline, rat

ANIMAIS SILVESTRES

006

Biometria testicular de caititus (*Tayassu tajacu*) **mantidos em cativeiro** (*Testicular biometry of captive collared peccaries* (*Tayassu tajacu*))

P.R. Kahwage¹, A.R. Garcia², O.M. Ohashi¹, D.A.A. Guimarães¹, H.L.T. Dias¹, M.M.P. Bartha¹, N.I. Albuquerque²

¹Universidade Federal do Pará, ²Embrapa Amazônia Oriental. E-mail: argarcia@cpatu.embrapa.br

Introdução

O caititu está entre as espécies da fauna brasileira com maior potencial produtivo em cativeiro, devido a sua adaptabilidade e existência de mercado para seus produtos. Para a manutenção em cativeiro, o conhecimento de sua biologia reprodutiva é primordial. Diante disso, informações básicas sobre a anatomia do sistema reprodutivo de machos se fazem importantes, a fim de subsidiar estudos e uso futuro de biotecnologias da reprodução na espécie. O objetivo deste trabalho foi avaliar a biometria testicular de *Tayassu tajacu* adultos, criados em cativeiro.

Material e Métodos

Onze caititus machos em idade reprodutiva (76,41±37,63 meses e 19,62±2,70 kg) tiveram os testículos avaliados após sedação (acepromazina, 0,2mg/kg, IM e quetamina, 5mg/kg, IM). Os animais foram mantidos em decúbito lateral, para avaliação individualizada dos testículos direito (TD) e esquerdo (TE). Os testículos foram inspecionados e individualmente mensurados, com paquímetro milimétrico, de modo a se obter o comprimento e largura de cada gônada. A consistência foi avaliada por palpação e classificada em escala de 1 (flácida) a 5 (firme). As médias foram comparadas por Teste t e as correlações estabelecidas pelo Teste de Pearson. O nível de significância adotado foi de P<0,01.

Resultados e Discussão

Foram realizadas 234 avaliações nos animais, sendo 117 em TD e 117 em TE. Os animais apresentaram comprimento médio do TD de 3,89±0,53 cm, largura média de 2,70±0,35 cm e consistência de 2,33±0,26. Os resultados médios para comprimento, largura e consistência do TE foram 3,89±0,48 cm, 2,69±0,32 cm e 2,34±0,27, respectivamente. Os resultados foram ligeiramente inferiores aos observados por Sonner et al. (2004), que encontraram média de 4,27 cm de comprimento e 2,71 cm de largura para testículos de caititus. Houve alta correlação entre os comprimentos de TD e TE (r=0,9441; P<0,0001) e larguras de TD e TE (r=0,8323; P<0,0001), demonstrando a simetria entre gônadas. Houve, também, alta correlação entre a consistência de TD e TE (r=0,9547; P<0,0001). A relação comprimento/largura, tanto em TD quanto em TE foi de 1,44. Associações entre consistência testicular e qualidade seminal necessitam ser investigadas, de modo a se estabelecer o padrão fisiológico para animais potencialmente férteis, que poderá ser usado futuramente em avaliações andrológicas.

Referências bibliográficas

Sonner, J.B; Miglino, M.A; Santos, T.C; Carvalhal, R; Assis Neto, A.C., Moura, C.E.B; Oliveira, M.F. Aspectos macroscópicos e morfológicos dos testículos em catetos e queixadas. *Biota Neotropica*, v.4, n.2, p.1-12, 2004.

Palavras-chave: biometria, *Tayassu tajacu*, testículo, Andrologia.

Keywords: biometry, *Tayassu tajacu*, testicle, Andrology.

Financiamento: Embrapa Amazônia Oriental e CNPq (Processo 474882/2006-3).

007

Eficiência da eletroejaculação em caititus (*Tayassu tajacu*) (*Efficiency of electroejaculation in collared peccaries (Tayassu tajacu)*)

A.R. Garcia¹, O.M. Ohashi², D.A.A. Guimarães², R.S. Luz-Ramos², P.R. Kahwage², H.L.T. Dias², M.M.P. Bartha²

¹Embrapa Amazônia Oriental [²Universidade Federal do Pará. E-mail: argarcia@cpatu.embrapa.br

Introdução

Estudos sobre a fisiologia reprodutiva de machos *Tayassu tajacu* são escassos, principalmente sobre avaliação de suas características seminais. A colheita de sêmen é um ponto crítico para o avanço da andrologia na espécie. Apesar da eletroejaculação ser adotada com segurança em animais silvestres (Gould et al., 1978), poucos estudos envolvendo a técnica foram realizados em caititus. Por isso, o objetivo do trabalho foi desenvolver e avaliar a eficiência de um protocolo experimental de eletroestimulação para colheita de sêmen em caititus.

Material e Métodos

Onze machos *Tayassu tajacu* (idade: 76,4±37,6 meses; peso: 19,6±2,7 kg) foram submetidos a procedimento experimental de eletroejaculação, na Embrapa Amazônia Oriental (Belém-PA), com intervalo mínimo de 15 dias. Os animais foram isolados em baias individuais e submetidos a jejum completo por 24 horas. Previamente à eletroejaculação, foi aplicada acepromazina (0,2mg/Kg IM) e, após 10 minutos, foi aplicada quetamina (5mg/Kg IM). Sedados, os animais foram submetidos a tricotomia, lavagem prepucial e remoção de fezes. Em seguida, uma probe endorectal lubrificada foi introduzida e realizou-se única sessão de 45±13 estímulos. Cada estímulo teve máximo de 12 volts e duração de 5 seg, com 3 seg de intervalo (0 volt) entre eles. Foram realizadas 117 tentativas de colheita, entre outubro de 2007 e fevereiro de 2009.

Resultados e Discussão

Das 117 tentativas, 75,21% (n=88) apresentaram sucesso na colheita de ejaculados com espermatozoides. Assim, 24,79% das tentativas (n=29) não foram bem sucedidas. Foram consideradas tentativas sem sucesso aquelas em que os animais não ejacularam (n=24; 20,52%) e aquelas em que somente a fração gel (n=4; 3,42%) ou líquido seminal (n=1, 0,85%) foram obtidos. A ausência de ejaculação pode decorrer de resistência individual à eletroestimulação ou à estimulação insuficiente. Das amostras seminais colhidas, 9,4% (n=11) apresentaram contaminação por urina, que pode estar associada ao posicionamento mais cranial da probe e estímulo da inervação controladora da micção concomitante à ejaculação. Em 10,25% das tentativas, os ejaculados ficaram retidos no prepúcio (n=12), devido ao formato em espiral da glândula peniana dos caititus, que leva ao enrolamento da mesma e à contenção do pênis. Em 55,56% das tentativas (n=65), houve colheita

de amostras com células, consideradas ideais para avaliações andrológicas e eventual processamento seminal. Não houve acidentes ou perdas de animais. Assim, a eletroejaculação, segundo o protocolo experimental adotado, pode ser considerada método eficiente e seguro para a colheita de sêmen em caititus.

Referências bibliográficas

Gould et al. Rectal probe electroejaculation. *J Med Primatol*, v.7, p.213-222, 1978.

Palavras-chave: Andrologia, eletroejaculação, sêmen, fauna silvestre, *Tayassu tajacu*.

Keywords: Andrology, electroejaculation, semen, wildlife, *Tayassu tajacu*.

Financiamento: Embrapa Amazônia Oriental e CNPq (Processo 474882/2006-3).

008

Caracterização morfométrica de espermatozoides epididimários de cutias (*Dasyprocta aguti*) criadas em cativeiro (*Morphometrical characterization of epididymal sperm from captive agouti (Dasyprocta aguti)*)

M.S. Ferraz¹, A.M. Conde Júnior¹, E.A.M. Fortes¹, H.M. Almeida², N.M. Rodrigues³, A.R. Silva⁴, M.A.M. Carvalho⁵

¹Doutorandos em Ciência Animal, UFPI, Teresina; ²Mestranda em Ciência Animal, UFPI, Teresina; ³Graduanda em Medicina Veterinária, UFPI, Teresina; ⁴Depto. Ciências Animais, UFERSA, Mossoró, RN; ⁵Depto. Morfofisiologia Veterinária, UFPI, Teresina. E-mail: carvalhomam@uol.com.br, mcelina@ufpi.edu.br

Introdução

O estudo da morfometria espermática tem-se mostrado de grande importância para avaliação da fertilidade do reprodutor. As células espermáticas de roedores apresentam variação morfométrica entre as diferentes famílias desta ordem, com comprimento total variando de 35 a 250 µm. O formato alongado da cabeça espermática de roedores e a cauda mais longa podem ser atribuídos a processos evolutivos e adaptativos, já que existe competição entre espermatozoides de diferentes machos dentro do trato genital da fêmea (Roldan et al., 1992). Gil et al. (2009) ao examinarem espermatozoides de suínos, concluíram que a morfometria da cabeça e da peça intermediária dos mesmos influenciam suas características de motilidade. O objetivo desse estudo foi caracterizar a morfometria dos espermatozoides epididimários de cutias (*Dasyprocta aguti*).

Material e Métodos

Foram colhidos espermatozoides epididimários de oito cutias machos por meio de lavagem do epidídimo com solução fisiológica a 0,9%. Para as análises morfológicas foram observadas 200 células espermáticas consideradas normais, coradas com Rosa de Bengala, e mensuradas quanto aos parâmetros: comprimento e largura de cabeça e peça intermediária, comprimento de cauda, comprimento total e área de cabeça utilizando Programa Computacional de Análise de Imagens Leica Qwin D-1000, versão 4.1 (Cambridge, UK).

Resultados e Discussão

Os valores encontrados para a morfometria da cabeça dos espermatozoides foram $4,89 \pm 0,41$ µm de comprimento, $3,13 \pm 0,35$ µm de largura e $13,01 \pm 2,01$ µm² de área. Para peça intermediária os valores encontrados foram $5,33 \pm 0,44$ µm para comprimento e $0,98 \pm 0,13$ µm para largura. Os dados de comprimento de cauda e comprimento total foram $29,91 \pm 2,29$ µm e $40,12 \pm 2,44$ µm, respectivamente. Os espermatozoides possuem uma cabeça alongada, possivelmente relacionada à competição de espermatozoides de diferentes machos conforme descrito para outros roedores.

Referências bibliográficas

Gil MC, García-Herreros M, Barón FJ, Aparicio IM, Santos AJ, García-Marín LJ. Morphometry of porcine spermatozoa and its functional significance in relation with the motility parameters in fresh semen. *Theriogenology*, v. 71, p. 254–263, 2009.

Roldan ERS, Gomendio M, Vitullo AD. The evolution of eutherian spermatozoa and underlying selective forces: female selection and sperm competition. *Biological Review of Cambridge Philosophy Society*, v. 67, p. 551-593, 1992.

Palavras-chave: morfometria espermática. cutias. roedores.

Keywords: spermatozoa morphometry. aguties. rodents.

009

Determinação de protocolo para colheita e avaliação de espermatozoides epididimários em cutias (*Dasyprocta aguti*) (*Determination of a protocol for collection and analysis of epididymal spermatozoa in agoutis (Dasyprocta aguti)*)

M.S. Ferraz¹, D.J.A. Menezes¹, R.M. Cabral², D.M.N. Albuquerque³, G.P. Tavares⁴, A.R. Silva⁵, M.A.M. Carvalho⁶

¹Doutorandos em Ciência Animal, UFPI, Teresina, Brasil; ²Pós-doutoranda PRODOC-CAPES, UFPI, Teresina; ³Mestrando em Ciência Animal, UFPI, Teresina, Brasil; ⁴Graduando em Medicina Veterinária, UFPI, Teresina, Brasil; ⁵Depto. Ciências Animais, UFERSA, Mossoró, RN, Brasil; ⁶Depto. Morfofisiologia Veterinária, UFPI, Teresina, Brasil. E-mail: carvalhomam@uol.com.br, maria.ancelina@pq.cnpq.br

Introdução

A colheita de espermatozoides epididimários é uma técnica que permite a obtenção de células espermáticas viáveis e

capazes de ligar-se à zona pelúcida, fertilizando o oócito (Tsutsui et al., 2003). Em ratos (Sankai et al., 2001), esta alternativa tem sido realizada com sucesso, permitindo o armazenamento dos espermatozóides. Relatos sobre esta técnica em cutias (*Dasyprocta aguti*) são inexistentes, conforme literatura consultada. O objetivo deste estudo foi estabelecer um protocolo para a colheita e avaliação de espermatozóides epididimários em cutias.

Material e Métodos

Oito cutias machos foram submetidos à orquiectomia seguida da colheita dos espermatozóides epididimários por meio de lavagem retrógrada da cauda do epidídimo conforme descrito por Garde et al. (1994). As amostras foram submetidas à avaliação do volume, cor, pH, motilidade, vigor, concentração, integridade acrossômica, porcentagem de espermatozóides vivos, resposta ao teste hiposmótico e morfologia.

Resultados e Discussão

Foram obtidos espermatozóides viáveis em 100% das colheitas. As amostras apresentaram coloração esbranquiçada. O volume e pH médios foram de 32 μ l e 6,9, respectivamente. Os valores médios para concentração, motilidade e vigor espermáticos foram, respectivamente, 748 x 10⁶ espermatozóides/ml, 86,5% e 4,6, dados superiores aos obtidos por outros autores usando a mesma técnica em roedores (Parapanov et al., 2008). A porcentagem de espermatozóides vivos foi de 66%, e 41,86% das células espermáticas responderam positivamente ao teste hiposmótico. Os defeitos totais representaram 21,12%, sendo 1,97% de defeitos primários e 19,15% secundários. O acrossoma mostrou-se íntegro em 99,5% dos espermatozóides. Diante do exposto, fica demonstrado que é possível a obtenção de espermatozóides viáveis a partir de epidídimos de cutias.

Referências bibliográficas

- Garde J, Aguado M, Perez S, Garrido D, Perez-Guzman M, Montoro V. Physiological characteristics of epididymal spermatozoa from postmortem rams. *Theriogenology*, v. 41, p.203, 1994.
- Parapanov RN, Nusslé S, Crausaz M, Senn A, Hausser J, Vogel P. Testis size, sperm characteristics and testosterone concentrations in four species of shrews (Mammalia, Soricidae). *Anim Reprod Sci*, 2008. No prelo.
- Sankai T, Tsuchiya H, Ogonuki N. Short-term nonfrozen storage of mouse epididymal spermatozoa. *Theriogenology*, v. 55, p. 1759-1768, 2001.
- Tsutsui T, Wada M, Anzai M, Hori T. Artificial insemination with frozen epididymal sperm in cats. *J Vet Med Sci*, v.65, p. 397-399, 2003.

Palavras-chave: Espermatozóides. Epidídimo. Roedores. Cutias.

Keywords: Spermatozoa. Epididymis. Rodents. Agouties.

010

Ensaio comparativo de dois crioprotetores para congelamento de sêmen de jaguatirica (*Leopardus pardalis* LINNAEUS, 1785) (Comparative assay between two cryoprotectors for freezing ocelots semen)

E.C. Avila¹, R.M. Mascarenhas², T.D. Souza¹, T.A.R Paula¹

¹Centro de Triagem de Animais Silvestres da UFV, ²Escola de Veterinária da UFMG. E-mail: rebeca_vet01@yahoo.com.br, tarcizio@ufv.br

Introdução

A criopreservação de sêmen tornou-se nas últimas décadas uma ferramenta eficaz no armazenamento e propagação de material genético nos animais domésticos. Atualmente esta tecnologia vem sendo aplicada à conservação das espécies selvagens, em particular os felinos que estão entre as espécies mais ameaçadas no Brasil e no mundo. Para o uso efetivo destas tecnologias, adaptações dos protocolos tradicionais se fazem necessárias devido a variações fisiológicas espécie-específicas. Já foram testados como crioprotetores o glicerol e o dimetil-sulfóxido para congelamento de sêmen felino, entretanto um diluente ideal ainda não foi definido. Este trabalho avaliou a eficácia de dois meios diluidores, um à base de glicerol e um de etileno glicol, para congelamento de sêmen de duas jaguatiricas.

Material e Método

Foram utilizadas duas jaguatiricas adultas, provenientes de criadouro conservacionista credenciado no Município de Belo Horizonte-MG, ligado a ONG Bichos Gerais. Os animais foram anestesiados através da administração de associação de cetamina e xilazina por via intramuscular. A coleta de sêmen foi realizada por eletroejaculação, com probe de 1,6 cm de diâmetro com eletrodos longitudinais. O protocolo utilizado foi baseado em Wildt *et al* (1983) com as seguintes adaptações: a bexiga foi previamente esvaziada e lavada; foram utilizados sete séries de cinco estímulos de 16v. O sêmen foi diluído nos meios, Tris-Citrato-6% de Glicerol e Tris-Citrato- 6% de Etilenoglicol, envazado em palhetas de 0,25 mL, resfriados à 0,3o C/min até°C, equilibrado por 1 hora e congelado em vapor de nitrogênio líquido (15 min). O descongelamento foi realizado a 37° C por 60 segundos.

Resultados e Discussão

As amostras de sêmen coletadas apresentaram as seguintes características: volume médio de 0,15 mL; concentração total média de 840 x 10⁶ espermatozóides; motilidade e vigor médios de 90% e 4,5 respectivamente; e 49,5% de espermatozóides morfologicamente normais sendo as alterações mais observadas a cauda dobrada (11,91%) e a cauda enrolada (7,25%). Na avaliação da integridade e viabilidade da membrana espermática pós-descongelamento as amostras congeladas em etilenoglicol apresentaram média de 35,5% de células reativas ao testes hiposmótico e 23,5% de células não coradas no teste de coloração supra-vital com eosina-nigrosina, enquanto as amostras congeladas em meio contendo

glicerol apresentaram médias de 41,5 e 54,5% respectivamente. No teste de termorresistência os espermatozoides congelados em meio contendo etilenoglicol sobreviveram por 35 a 40 minutos incubados a 37° C, enquanto os congelados em meio contendo glicerol sobreviveram por 45 a 60 minutos. O protocolo de coleta de sêmen modificado mostrou-se eficaz em relação a qualidade das amostras e ao total de espermatozoides coletados. Ambos crioprotetores mostraram-se viáveis para congelamento de sêmen, embora ajustes no protocolo de congelamento ainda sejam necessários.

Referências bibliográficas

Wildt DE, Bush M, Howard JG, O'Brien SJ, Meltzer D, Van Dyk A, Ebedes H, Brand DJ. Unique seminal quality in the South African cheetah and a comparative evaluation in the domestic cat. *Biol Reprod*, v.29, p.1019-1025.

Palavras Chaves: jaguatirica, espermatozoide, criopreservação.

Keywords: ocelots, spermatozoa, cryopreservation.

Apoio: FAPEMIG.

011

Arranjo dos componentes do tecido intertubular em Morcego *Artibeus lituratus* (Olfers, 1818) adulto (*Arrangement of the components of the intertubular tissue in Bat *Artibeus lituratus* (Olfers, 1818) adult*)

J.M. Oliveira¹, B.C. Caldeira¹, D.B. Morais², S.L.P. Matta², T.A.R. Paula², M.M. Castro¹, M.C. Souza¹

¹Centro Universitário do Leste de Minas Gerais Unileste MG; ²Universidade Federal de Viçosa. E-mail: jerusabio@hotmail.com

Introdução

Os morcegos pertencem à ordem Chiroptera e possuem atividade reprodutiva que varia de espécie para espécie. A porção endócrina do testículo de mamíferos é representada pelas células de Leydig as quais, juntamente com células conjuntivas, leucócitos, vasos sanguíneos e linfáticos, formam o tecido intertubular. O arranjo destes diferentes componentes é fundamental na manutenção dos elevados níveis intratesticulares (Fawcett *et al.*, 1973). Análises acerca da reprodução de animais são importantes para diferenciar padrões de vida e protocolos em reprodução, objetivando controle e proteção das espécies.

Material e Métodos

Foram coletados cinco testículos de Morcego *Artibeus lituratus* (Olfers, 1818) adultos provenientes da Reserva Serra do Brigadeiro no município de Viçosa no período de fevereiro de 2007. Os testículos foram processados histologicamente para a obtenção de lâminas histológicas com cortes de três micrômetros de espessura, estes foram corados com azul de toluidina-borato de sódio a 1%, e analisados em microscópio de luz.

Resultados e Discussão

Segundo, Fawcett *et al.*, (1973), a drenagem linfática, aliada à quantidade de células de Leydig e tecido conjuntivo frouxo no espaço intertubular nas diferentes espécies de mamíferos segue, em geral três padrões distintos. Observou-se que o morcego *Artibeus lituratus* apresenta o arranjo indicativo três, constituído de abundantes grupamentos de células de Leydig que ocupa praticamente todo o compartimento intertubular, apresentando pouco tecido conjuntivo e vasos linfáticos. O morcego *Molossus molossus* (Morais, 2008) também é classificado neste padrão, sugerindo que este seja o padrão reprodutivo da ordem Chiroptera.

Referências Bibliográficas

Cabral, B.C., 2007. Avaliação morfofuncional do testículo e do processo espermatogênico do cachorro-do-mato (*Cercopithecus thomasi*, Linnaeus, 1766) adultos. Tese de Mestrado. Universidade Federal de Viçosa.

Fawcett D.W., Neaves W.B., Flores M.N., 1973. Comparative observations on intertubular lymphatic and the organization of the interstitial tissue of the mammalian testis. *Biol. Reprod.* 9: 500- 532.

França, L.R., Russell, L.D., 1998. The testis of domestic mammals. In: REGADERA, J & MARTINEZ-GARCIA (eds)., *Male Reproduction, A multidisciplinary overview*. Churchill Livingstone, Madrid. p. 197- 219.

Morais, D.B., 2008. Morfologia e morfometria testicular em morcegos insetívoros (*Molossus molossus*, Pallas, 1776 Chiroptera: Molossidae). Tese de Mestrado. Universidade Federal de Viçosa.

Palavras-chave: *Artibeus lituratus*, espaço intertubular, testículos.

Keywords: *Artibeus lituratus*, space intertubular, testicles.

Apoio: FAPEMIG.

012

Caracterização da colpocitologia de Quatis (*Nasua nasua*) Linnaeus, 1766 (*Study of colpo-cytological of Coatis (*Nasua Nasua*) Linnaeus, 1766*)

M.M. Castro, B.C. Caldeira, J.O.B. Viana, N.C. Figueiredo, M.C. Souza, C.D.P. Coelho, J.M. Oliveira.

Centro Universitário do Leste de Minas Gerais. E-mail: marianamc16@yahoo.com.br

Introdução

O interesse pelo estudo de animais da fauna brasileira vem crescendo consideravelmente nos últimos anos, devido aos

risco de extinção. Os quatis (*Nasua nasua*) são animais essencialmente diurnos e podem viver em grupos de até 30 animais. Podem viver em áreas reflorestadas, mas com alteração de seus habitats, estes tem se aproximado cada vez mais de sítios e chácaras em busca de alimento, estreitando assim a relação com o homem. O presente trabalho propõe a técnica da colpocitologia, como um método de estudo das células vaginais, com os objetivos de investigar o perfil citológico de quatis (*Nasua nasua*) adultos.

Material e Métodos

O estudo foi realizado no Centro de Biodiversidade da USIPA (CEBUS), Ipatinga, MG. Foram utilizadas três fêmeas adultas de quatis (*Nasua nasua*). As coletas foram realizadas duas vezes por semana, sempre no mesmo horário. Para contenção dos animais foram utilizadas gaiolas. A secreção foi colhida com um *swab* umedecido em solução salina, introduzido na comissura dorsal da vulva até atingir o canal vaginal. Após a coleta, as lâminas foram fixadas por imersão em álcool absoluto durante 30 segundos e em seguida coradas com três tipos de corantes, sendo eles, Azul de Metileno 10%, Shorr 10% e o Giemsa 10% por 10 minutos. As lâminas foram avaliadas em microscópios de luz com aumento de 400X.

Resultados e Discussão

Os resultados mostram que a técnica de colpocitologia vaginal é viável em quatis (*Nasua nasua*) acompanhando o padrão celular observado nas demais espécies aproximando-se do descrito para carnívoros silvestres. Foram encontrados quatro tipos de células epiteliais diferentes durante a análise da técnica, sendo elas: anucleadas, nucleadas, intermediárias e parabasais. Os três protocolos de coloração mostraram-se eficientes mas, o corante Azul de Metileno mostrou-se mais eficaz para a identificação e classificação das células. A colpocitologia mostrou-se uma técnica aplicável em quatis, podendo ser considerada uma técnica auxiliar no manejo e em estudos na área de reprodução de espécies silvestres.

Referências bibliográficas

Porto RRM, Cavalcante TV, Dias FEF, Rocha JMN, Souza JAT. Perfil Citológico Vaginal de Ovelhas da Raça Santa Inês no Acompanhamento do Ciclo Estral. *Ciência Animal Brasileira*, v. 8, n. 3, p. 521-527, jul./set. 2007.
Barbosa LP, Rodrigues MV, Neves MM, Morais DB, Melo BES, Balarini MK, Coelho CDP, Mendonça C. Caracterização da colpocitologia em capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*). *Rev. Bras. Saúde Prod. An.*, v.8, n.4, p. 258-266, out/dez, 2007

Palavras-chave: Quatis, Colpocitologia, Reprodução, Conservação.

Keywords: Coatis, Colpo-cytological, Reprodução, conservation.

013

Número de gerações de espermatogônias diferenciadas em queixadas (*Number of spermatogonial generations in white-lipped peccaries*)

D.S. Costa, F.D. Charro, J.S. Moreira, A.C.A. Regis, D.C. Ferraz, D.C. Meldau

Laboratório de Reprodução Assistida – Univ. Federal de Mato Grosso do Sul. E-mail: deilercosta@yahoo.com.br

Introdução

O processo de divisões espermatogoniais ainda é um dos aspectos mais complexos e controversos nos estudos da cinética da espermatogênese de mamíferos, sendo que em boa parte das espécies estudadas, o padrão de multiplicação e renovação de espermatogônias ainda não está inteiramente elucidado. Apesar do processo espermatogênico de queixadas já ter sido descrito previamente (Costa et al., 2007), detalhes da cinética da espermatogênese ainda não tinha sido relatada nesta espécie. Objetivou-se determinar o número de gerações de espermatogônias diferenciadas em queixadas adultos.

Material e Métodos

Utilizaram-se fragmentos testiculares de dez queixadas com idade variando entre 1,5 a 2,5 anos provenientes de um criatório comercial devidamente autorizado pelo IBAMA. Após a coleta os fragmentos foram fixados com Karnovsky e incluídos em resina plástica conforme Costa et al. (2004). O número de espermatogônias foi estimado a partir da contagem de 20 seções transversais de túbulos seminíferos de contorno simétrico. Os seguintes tipos celulares foram contados: espermatogônias do tipo A, nos oito estádios; espermatogônias do tipo intermediário, no estádio 6; espermatogônias do tipo B, no estádio 7.

Resultados e Discussão

A população de espermatogônias diferenciadas nos túbulos seminíferos variou consideravelmente entre os estádios 1 e 5 do ciclo, entretanto, apresentou-se constante nos estádios 6, 7 e 8. No estádio 2 a população de espermatogônias do tipo A foi 89% a mais que no estádio 1 ($p < 0,05$), sugerindo um primeiro pico de divisão mitótica deste tipo celular. Por sua vez, a população de espermatogônias A no estádio 3 foi 47% maior ($p < 0,05$) que no estádio 2, sugerindo o segundo pico de mitose. Em relação a população de espermatogônias A do estádio 3, constatou-se um aumento de 10% ($p > 0,05$) no estádio 4 e de 67% ($p < 0,05$) no estádio 5, sugerindo que o terceiro pico de divisões mitóticas tinha se completado neste último estádio. A partir desta contagem, foi possível inferir que existem pelo menos quatro gerações de espermatogônias diferenciadas do tipo A em catetos, ou seja, tipo A₁ (estádio 1), tipo A₂ (estádio 2), tipo A₃ (estádio 3 e 4) e tipo A₄ (estádio 5). Em relação às espermatogônias In e B, não foram encontradas subdivisões para estes dois tipos celulares. Portanto, conclui-se que existem seis gerações de espermatogônias diferenciadas em queixadas.

Referências bibliográficas

Costa, D.S., Henry, M., Paula, T.A.R. Espermatogênese de Catetos (*Tayassu tajacu*). *Arq. Bras Med Vet Zoot* v.56, p.46-

51, 2004.

Costa, DS, Menezes, CMC, Paula, TAR Spermatogenesis in white-lipped peccaries (*Tayassu pecari*) Anim Reprod Scie v. 98, p.322–334, 2007.

Palavras-chave: espermatogônia, espermatogênese, testículo.

Keywords: spermatogonia, spermatogenesis, testis.

014

Características seminais de tatus-peba (*Euphractus sexcinctus*) coletados por eletroejaculação (*Semen characteristics from six-banded armadillos (*Euphractus sexcinctus*) collected by electroejaculation*)

M.K.B. Serafim^{1,3}, R.A. Lira², L.L.M. Costa², I.C.N. Gadelha², C.I.A. Freitas², A.R. Silva²

¹Laboratório de Reprodução de Carnívoros, UECE, Fortaleza, CE, Brasil; ²Departamento de Ciências Animais, UFERSA, Mossoró, RN, Brasil. ³E-mail: michellekarenbs@hotmail.com

Introdução

O tatu-peba (*Euphractus sexcinctus*) é um mamífero selvagem nativo das Américas que pertence à ordem Xenarthra ou Edentata, cuja biologia reprodutiva não é ainda completamente elucidada (Oliveira et al., 2007). Este trabalho tem como objetivo descrever as características seminais de tatus-peba coletados por eletroejaculação.

Material e Métodos

Seis machos adultos foram fisicamente contidos e submetidos à coleta seminal, com auxílio de um eletroejaculador (Eletrojet[®], Eletrovet, São Paulo, SP, Brazil). As coletas foram realizadas em duas ocasiões a intervalos de um mês entre as mesmas, utilizando-se um protocolo de eletroejaculação descrito por Wildt et al. (1983). O sêmen foi coletado em tubos plásticos e, imediatamente, avaliado quanto o aspecto, volume, pH, motilidade espermática, vigor, morfologia, percentual de células vivas e integridade funcional mediante um teste hipo-osmótico.

Resultados e Discussão

Obteve-se ejaculados de todos os animais, em todas as ocasiões de coleta (100%), totalizando 12 ejaculados. Não foi observada ereção peniana em nenhuma ocasião. O ejaculado apresentou coloração branca translúcida e aspecto viscoso. Valores de $353 \pm 86 \mu\text{l}$ para volume, 9,0 para pH, concentração de $44 \pm 13 \times 10^6$ espermatozóides/ml, $60 \pm 7,5\%$ de motilidade espermática com $1,5 \pm 0,2$ para vigor, $54,9 \pm 7,3$ de células vivas, $86,2 \pm 2,4\%$ de sptz morfologicamente normais, e $46,2 \pm 6,2\%$ de integridade funcional de membrana foi observado. Salienta-se que as características seminais obtidas pela coleta por eletroejaculação em tatus-peba provêm informações importantes que podem ser úteis no que se refere a programas de reprodução assistida nos membros da família Xenarthra.

Referências bibliográficas

Oliveira IRS, Alves HM, Bezerra FSB, Silva AE, Sousa FDN, Oliveira AF, Batista JS. Indução e caracterização do cio em tatu-peba (*Euphractus sexcinctus*) criado em cativeiro no município de Mossoró - Rio Grande do Norte. In: Anais do IV Congresso Norte e Nordeste da Sociedade de Zoológicos do Brasil - SZB, 2007, João Pessoa, Brasil. João Pessoa: SZB, 2007. pp.1.

Wildt DE, Bush M, Howard JG, O'Brien SJ, Meltzer D, Van Dyk A, Ebedes H, Brandes DJ. Unique seminal quality in the South African cheetah and a comparative evaluation in the domestic cat. Biol Reprod, 29:1019-1025, 1983.

Palavras-chave: *Euphractus sexcinctus*, tatu-peba, sêmen, eletroejaculação.

Keywords: *Euphractus sexcinctus*; armadillo; semen; electroejaculation.

015

Serosa pélvica em machos das famílias *Dasypodidae* e *Myrmecophagidae* (*Serous pelvic in males of Dasypodidae and Myrmecophagidae households*)

A.R. Mortoza¹, L.C. Rezende², M.A. Miglino², J.R. Ferreira³

¹Universidade Católica de Goiás, ²Universidade de São Paulo, ³Universidade de Brasília. E-mail: a_mortoza@hotmail.com

Introdução

A literatura clássica sustenta a hipótese da escavação pélvica representar o fundo da cavidade abdominal, estando forrada pela serosa peritoneal, a qual favorece a dinâmica visceral além de revestir os testículos nos tatus e tamanduás.

Material e Métodos

Espécimes das famílias Dasypodidae (*Euphractus sexcinctus*, n=3) e Myrmecophagidae (*Myrmecophaga tridactyla*, n=3; *Tamandua tetradactyla*, n=3) foram coletados em rodovias do estado de Goiás e Paraná, na forma da lei, passando pela rotina: fixação em formol (10%), perfusão de rede arterial (soro fisiológico 40°C), injeção de látex corado, conservação em álcool (70%), dissecação (Lupa LTS 3700[®]) e foto-documentação.

Resultados e Discussão

Analisar a disposição do peritônio pelviano em Xenarthra implica no entendimento do que seja espaço pélvico subperitoneal e pelve maior. A serosa envolve as vísceras, tornando-as relativamente ou totalmente peritonizadas. O septo urotretal apresenta-se no assoalho da pelve maior, como uma reflexão serosa entre a bexiga e o reto, se insinua na pelve

menor, no retro peritônio, estando os músculos da cauda dorso lateralmente ao primitivo canal anorretal, o que impede que parte do seio urogenital primitivo, localizado ventralmente, penetre na escavação pelviana, definindo posição abdominal para a bexiga urinária e as gônadas, totalmente peritonizadas. Em *Euphractus sexcinctus* o gubernáculo traciona os testículos ventro-lateralmente e inicia o processo de deslocamento gonadal para uma primitiva escavação na parede ventro-lateral do abdome que corresponde, por analogia, ao processo vaginal dos vertebrados com bolsa escrotal. Nos *Myrmecophaga tridactyla* e *Tamandua tetradactyla* o intestino reto, dorsal, exibe musculatura longitudinal desenvolvida e os testículos se encontram em posição análoga à do útero, unidos por septo conjuntivo na linha mediana, ligeiramente insinuados na pelve maior, assim como a bexiga. Em tatus não há escavação vésico-testicular, em razão do deslocamento látero-ventral dos testículos. Em tamanduás existem fundos de sacos vésico e reto testicular, análogos à reto uterina nas fêmeas de outros vertebrados.

Referências bibliográficas

Hildebrand M.; Goslow G. 2006. Análise da estrutura dos vertebrados: Órgãos genitais e ductos urogenitais. 2.ed. São Paulo: Atheneu Editora. pp.283-297.

Viscaíno SF.; Loughry WJ. 2008. The biology of the Xenarthra: Reproductive biology of the nine-banded armadillo. Gainesville: University Press of Florida. pp.151-171.

Palavras-chave: Tatu, tamanduá, peritônio, testículo.

Keywords: Armadillo, anteater, peritoneum, testis.

016

Morfologia reprodutiva de fêmeas de tatu, *Euphractus sexcinctus* (*Reproductive morphology of armadillo females, *Euphractus sexcinctus)**

L.C. Rezende¹, A.R. Mortoza², M.A. Miglino¹, J.R. Ferreira³

¹Universidade de São Paulo, ²Universidade Católica de Goiás, ³Universidade de Brasília. E-mail: lorisvete@yahoo.com.br

Introdução

O interesse pela biologia reprodutiva do *Euphractus sexcinctus* é parte de um ensaio que buscou interpretar a ontogenia animal, atentando para a filogenia e o ambiente, visto que a literatura destaca características morfofuncionais primitivas neste animal (Grassé, 1955; Enders e Buchanan, 1959). Dissecções objetivaram descrever o aparelho urogenital, bem como as relações entre tecidos moles e duros da pelve.

Material e Métodos

Fêmeas adultas do tatu *Euphractus sexcinctus* foram coletadas de acordo com as normas do IBAMA, fixadas em formol (10%), mensuradas (paquímetro e fita métrica), conservadas em álcool (70%) e dissecadas (Lupa LTS 3700®). Analisou-se os componentes do aparelho reprodutor feminino, destacando-se: a biometria, topografia, esqueleto e órgãos cavitários.

Resultados e Discussão

A análise morfométrica dos espécimes permitiu constatar: comprimento médio focinho-cauda 73,5cm, diâmetro do canal inguinal 5,7mm, no qual insere-se o ligamento umbilical lateral (2,2cm de comprimento). Os comprimentos médios dos órgãos reprodutivos foram: vulva 3cm, vagina 2,7cm, cérvix 5,7cm, corpo do útero 2,1cm e ovários 0,65cm. Na genitália externa, a vulva não exibe lábios diferenciáveis, a face externa destes é recoberta de pele, desprovida de pêlos, alongada, clitóris pronunciado cranialmente e a abertura vaginal apresenta-se caudalmente. O fórnix é alongado, acompanhando o comprimento da cérvix até sua porção média, ocupando o interior da escavação pélvica. O útero apresenta formato de T e o seu corpo, localiza-se rostralmente à cérvix, na pelve maior, disposto ventralmente à bexiga e dorsalmente ao reto. Chama atenção, o maior comprimento da cérvix em relação ao útero. A escavação pélvica representa um cone triangular de vértice ventral e dois vértices dorso-laterais. A região ventral do períneo é urogenital e a dorsal caudoanal, cujos músculos avançam rostralmente, ocupando grande parte do vazio pélvico, deslocando o útero, a bexiga urinária e os ovários cranialmente e insinuando-os no interior da pelve maior. Isto confere à bexiga e ao útero a condição de órgãos intra-peritoniais, diferentemente do encontrado em outros mamíferos. A pelve menor é ampliada pela fusão do ísquio e do ílio com vértebras sacro-coccigeas, dando sustentação à potente musculatura da cauda.

Referências bibliográficas

Grassé P. 1955. Ordre des édentés. In : GRASSÉ, P. Traité de zoologie. Anatomie, Systematique, Biologie. Paris: Masson, tome XVII, pp. 1182-1246.

Enders AC, Buchanan GD. 1959. The reproductive tract of the female nine-banded armadillo. Texas Reports in Biology and Medicine, 17: 323-340.

Palavras-chave: *Euphractus*, sistema reprodutor, morfologia.

Keywords: *Euphractus*, reproductive system, morphology.

017

Estudo das membranas fetais e da morfologia do sistema reprodutor feminino do veado-catingueiro (*Mazama gouazoubira*) (*Fetal membranes and reproductive system of *Mazama gouazoubira)**

A.O. Ferreira¹, A.C. Morini¹, P.O. Favaron¹, C.C. Passos¹, L.M. Santos², D.B. Campos²,

J.A. Peres², M.A. Miglino¹, R.R. Guerra¹

Introdução

O *Mazama gouazoubira* é uma espécie de veado de porte pequeno, que pode ser encontrado abundantemente na América do Sul, desde o sul do Uruguai até o norte de Mato Grosso, no Brasil. Este estudo tem como objetivo descrever as membranas fetais e o sistema reprodutivo feminino dos veados no terço inicial de gestação.

Material e Métodos

Foram analisadas macroscopicamente e microscopicamente as amostras coletadas. O animal estudado apresentava uma gestação univitelínea com um embrião medindo 1,3 cm de CR. No embrião pode ser observado pulmão, coração, fígado, e já apresentava o crescimento de membros.

Resultados e Discussão

A placenta apresentou-se oligocotiledonária [1] e o saco gestacional de uma extremidade a outra media 15 cm, ao abri-lo verificamos a ausência de placentônios, bem como área de implantação do embrião. A membrana corioalantoidea ao microscópio possuía o alantóide bem vascularizado com uma fina camada de células de núcleo e citoplasma alongados [2]. Na outra face da membrana visualizamos a tentativa de arranjo de células redondas, de citoplasma escasso e núcleo grande e arredondado, características de células trofoblásticas [3]. A ausência de cotilédones foi confirmada na microscopia, sendo a carúncula desprovida de tecido fetal por entre seus vilos. Envolvendo o embrião visualizou-se o saco amniótico constituído de duas camadas passíveis de separação mecânica, mas que apresentaram a mesma morfologia macro e microscopicamente, sendo constituídas de células fusiformes, sendo avascularizada [2]. Não foi observado saco vitelino nesse espécime. O sistema reprodutor feminino apresentou duas tubas uterinas com 4 cm. O corno úterino era bicornual como em outros ruminantes. Dentro do útero foi achado 9 carúnculas, este número era pequeno quando comparado com bovino. A cérvis era formada por tecido conjuntivo denso com vilosidades longitudinais como as dos ruminantes. Conclui-se que, o sistema de reprodutivo do veado de *Mazama gouazoubira* é similar ao dos outros ruminantes domésticos apresentando algumas diferenças nas membranas fetais.

Referências bibliográficas

(1) Disponível em: <http://placentation.ucsd.edu/indxfs.html>. Acessado em 2009.

(2) Morini, A.C. et al.. Caracterização das membranas fetais em búfalas no terço inicial da gestação. Pesquisa Veterinária Brasileira, 28(9):437-445, 2008.

(3) Pinto, L.M. et al., Comportamento das células trofoblásticas gigantes na placenta de vacas Nelore (*Bos indicus* - Linnaeus, 1758). Revista Brasileira de Reprodução Animal, 32(2):110-121, 2008.

Palavras-chave: veado, placenta, *Mazama gouazoubira*.

Keywords: deer, placenta, *Mazama gouazoubira*.

018

Dinâmica nuclear de oócitos de Veado-Catingueiro (*Mazama gouazoubira*) maturados *in vitro* (Nuclear dynamics of Brown Brocket Deer (*Mazama gouazoubira*) oocytes *in vitro* matured)

M.S. Cursino^{1,2}, E.S. Zanetti^{1,2}, N.Z. Saraiva², J.M.B. Duarte¹

¹Núcleo de Pesquisa e Conservação de Cervídeos, ²Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, Jaboticabal, São Paulo. E-mail: marina.suzuki@gmail.com

Introdução

A biotecnologia da reprodução e os bancos genômicos são fundamentais para os programas de conservação de espécies selvagens. Entretanto, as biotecnologias têm sido ineficientes devido à falta de conhecimentos básicos sobre os aspectos reprodutivos destas espécies. O veado-catingueiro é um dos cervídeos mais abundantes do Brasil e estudos de técnicas de reprodução assistida com estes animais podem favorecer a aplicação do conhecimento em outras espécies de cervídeos ameaçadas de extinção. O presente estudo propõe avaliar a dinâmica nuclear de oócitos de veado-catingueiro durante a maturação *in vitro* (MIV).

Materiais e Métodos

Foram utilizadas duas fêmeas adultas de veado-catingueiro. Para o tratamento de superovulação foi utilizado dispositivo intravaginal de progesterona (CIDR[®] de ovinos e caprinos) por 8 dias, seguido de uma aplicação i.m. de 0,25mL de benzoato de estradiol (Estrogin[®]) no dia da colocação do implante (D0). No D4 iniciou-se a aplicação i.m. de 130mg de FSH (Folltropin[®]-V), dividido em 8 doses iguais a cada 12 horas. No oitavo dia (D8) realizou-se a ovariectomia e retirada do CIDR[®]. Os oócitos foram coletados pela técnica de 'slicing' e colocados em solução de lavagem (TCM-199 Hepes, SFB, Piruvato e Sulfato de Amicacina). Posteriormente, os oócitos foram cultivados em meio de maturação (TCM-199 suplementado com 10% de SFB, 0,20mM de piruvato, 83,3µg/mL de sulfato de amicacina, 1,0µg/mL de FSH e 50µg/mL de hCG) em estufa úmida a 38°C e 5% de CO₂ em ar e amostras foram obtidas em seis diferentes momentos (0, 5, 10, 15, 20 e 25 horas de MIV) para observação da dinâmica nuclear. Para verificação da maturação nuclear, os oócitos foram corados com 10µg/mL de Hoechst 33342 durante 15 minutos e avaliados em microscópio de epifluorescência (330-385nm).

Resultados e Discussão

Foram colhidos 33 oócitos dos quatro ovários, os quais foram divididos em seis grupos e colocados para maturação. Os resultados obtidos quanto à dinâmica nuclear dos oócitos (Tabela 1) demonstraram que é necessário um período de cultivo de 20 a 25 horas, em meio de maturação, para que mais de 50% dos oócitos atinjam o estágio de metáfase II, necessário para o sucesso da fertilização *in vitro* (FIV).

Tabela 1. Resultados da maturação nuclear dos oócitos da espécie *Mazama gouazoubira*.

Estágios da meiose	Total de oócitos/estágio	Período para que mais de 50% dos oócitos completassem a fase da meiose
GV	3	0 a 5hs (n=2)
GVBD	10	0 a 10hs (n=6)
MI	10	0 a 15hs (n=7)
AI	1	15hs (n=1)
MII	5	20 a 25hs (n=5)
Não Conclusivo	4	

GV: vesícula germinativa; GVBD: quebra da vesícula germinativa; MI: meiose I; AI: anáfase I; MII: meiose II.

Estes resultados corroboram com estudos de maturação *in vitro* de oócitos realizados em outras espécies de cervídeos, onde o período necessário para que os oócitos atinjam a maturação nuclear foi de 24 a 27 horas (BERG *et al.*, 2002).

Referências bibliográficas

Berg, D. K., Thompson, J. G. e Asher, G. W. Development of *in vitro* embryo production systems for red deer (*Cervus elaphus*) Part 2. The timing of *in vitro* nuclear oocyte maturation. *Animal Reproduction Science*, 70:77–84, 2002.

Palavras-chave: maturação nuclear, oócito, cervídeo, veado-catingueiro.

Keywords: nuclear maturation, oocyte, deer, brown brocket deer.

019

Criopreservação de sêmen de Veado-mateiro (*Mazama americana*): comparação entre três diluidores (*Cryopreservation of Red Brocket Deer's semen (Mazama americana): comparison between three extenders*)

S. M. Favoretto, E.S. Zanetti, J.M.B. Duarte

Núcleo de Pesquisa e Conservação de Cervídeos, Departamento de Zootecnia, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, Jaboticabal, São Paulo. E-mail: sami_mesq@hotmail.com

Introdução

O conceito de bancos genômicos tem crescido como uma forma de manutenção da variabilidade genética das populações. Entretanto, a qualidade da criopreservação dos gametas irá determinar a eficiência desses bancos. Sendo assim, o objetivo desse trabalho foi comparar três diluentes para a congelação de sêmen de *Mazama americana*.

Material e Métodos

Foram testados 3 diluentes: Tris-gema (4,54% Tris; 2,6% ácido cítrico; 0,75% glicose; 10% gema de ovo; 6% de glicerol; pH 6,0), Tes-tris-gema (1,2% Tes; 0,2% Tris; 1,6% glicose; 1,6% frutose; 20% gema de ovo; 6% glicerol; pH 7,3) e Tes-tris-gema-Equex[®] (1,2% Tes; 0,2% Tris; 1,6% glicose; 1,6% frutose; 20% gema de ovo; 6% glicerol; 0,5mL Equex[®]; pH 7,24). Foram utilizados seis machos e realizadas três colheitas por animal (eletroejaculação) com intervalo de 90 dias entre elas. As amostras foram congeladas em congelador portátil para sêmen e embriões (Tk 3000) com taxa de refrigeração de -0,25°C/min, a partir da temperatura ambiente até 5°C, e de congelação de -5 °C/min de 5°C a -120°C. Foram mantidas em nitrogênio líquido por 15 a 30 dias e descongeladas em água a 37°C por 20 segundos. Na pré-congelação avaliou-se volume, concentração, motilidade, vigor, integridade de membrana em cada um dos diluidores e morfologia espermática utilizando solução de formol salina. Após a descongelação das amostras, foram realizadas novas análises de motilidade, vigor, integridade de membrana e morfologia espermática. Os resultados foram avaliados através da análise de variância e posteriormente submetidos ao teste de Tukey (SAS). P<0,05 foi considerado significativo.

Resultados e Discussão

O volume e a concentração média foram 318,05±156,00µL e 2585,28±978,22 x 10⁶ spz/mL, respectivamente. A motilidade pré-congelação não foi diferente entre os diluentes (~60%). A motilidade pós-descongelação foi 16,33±5,50; 5,44±5,25; 24,66±10,01 nos diluentes Tris-gema, Tes-tris-gema e Tes-tris-gema-Equex[®], respectivamente, com diferença entre os diluentes Tes-tris-gema e Tes-tris-gema-Equex[®]. O vigor pós-descongelação foi maior quando o sêmen foi congelado com Tes-tris-gema-Equex[®] (3,83±0,40), quando comparado com os diluidores Tris-gema e Tes-tris-gema (2,66±0,81; 1,89±1,22, respectivamente). Na análise de integridade de membrana pós-descongelação não houve diferença entre os diluidores quanto ao número de células apresentando membranas íntegras, entretanto observou-se menor número de células com membrana totalmente lesada e maior número de células com membrana apenas parcialmente lesada no diluidor Tes-tris-gema-Equex[®]. Houve aumento no número de patologias maiores com o uso dos diluidores Tes-tris-gema e Tes-tris-gema-Equex[®], principalmente células apresentando cauda fortemente dobrada, o que sugere baixa osmolaridade dos diluidores. Entretanto observou-se que o número de células alteradas foi menor com o uso do Tes-tris-gema-Equex[®], sugerindo efeito protetor do Equex[®] às membranas celulares. Podemos sugerir que o diluidor Tes-tris-gema-Equex[®] promoveu melhor qualidade do sêmen após a descongelação, promovendo vigor pós-descongelação semelhante à pré-

congelamento e menor lesão às membranas no processo de congelamento. Entretanto o desempenho deste diluidor na proteção das células espermáticas de *Mazama americana* foi inferior ao encontrado em outras espécies, sugerindo a necessidade de maiores estudos para caracterização do sêmen de veado-mateiro para a adequação de um diluidor às características seminais da espécie.

Palavras-chave: cervídeo, sêmen, criopreservação, veado-mateiro.

Keywords: deer, semen, cryopreservation, red brocket deer.

020

Primeiro relato de inseminação artificial com tempo fixo em Veado-mateiro (*Mazama americana*) (First report of fixed-time artificial insemination in Red Brocket Deer (*Mazama americana*))

E.S. Zanetti¹, B.F. Polegato¹, J.M.B. Duarte¹

¹Núcleo de Pesquisa e Conservação de Cervídeos, Departamento de Zootecnia, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, Jaboticabal, São Paulo. E-mail: eveline_zanetti@yahoo.com.br

Introdução

O veado-mateiro (*Mazama americana*) é a espécie de maior porte dentro do seu gênero e embora possua uma ampla distribuição geográfica (do sul do México ao norte da Argentina) vem sofrendo com a perda e fragmentação de habitat. Sua classificação como dados deficientes pela IUCN demonstra a falta de conhecimento a respeito desta espécie, sobre a qual existem várias dúvidas a respeito da classificação taxonômica. Sua reprodução em cativeiro apresenta algumas limitações devido à falta de conhecimento sobre sua fisiologia e comportamento reprodutivo. Dificuldade no pareamento dos animais em cativeiro tem sido observada, decorrente da agressividade das fêmeas com relação ao macho. Nesse contexto, as biotécnicas da reprodução podem assegurar a reprodução de animais que de outra forma não se reproduziriam, além de facilitar o manejo reprodutivo em programas de conservação. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi fertilizar uma fêmea da espécie *Mazama americana* que encontrava-se em cativeiro há onze anos sem sucesso reprodutivo, decorrente do fato de não aceitar a presença de machos e não evidenciar comportamento de estro. Diante desta situação e do resultado negativo de outras tentativas para reproduzi-la utilizando a sincronização de estro com cópula natural e inseminação artificial por via vaginal, decidiu-se pela inseminação artificial por via intra-uterina com tempo fixo (IATF).

Materiais e Métodos

A fêmea BR045E (12 anos), pertencente ao Setor de Animais Silvestres da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal – SP, foi submetida a um tratamento de 10 dias com um dispositivo intravaginal CIDR[®] (*Controlled Internal Drug Release*[®]-Pfizer[®]) contendo 0,33 gramas de progesterona (tipo-T, desenvolvido para ovinos e caprinos), seguido de uma aplicação i.m. de 265µg de cloprostenol sódico (Ciosin[®]-Shering Plough Coopers[®]) e 450UI de gonadotrofina coriônica equina (Folligon[®]1000UI-Intervet[®]) no momento da retirada do implante. Antes do procedimento cirúrgico o animal foi submetido a um jejum sólido e líquido de 48 e 24 horas, respectivamente. A inseminação foi realizada por via laparoscópica 80 horas após o término do tratamento e o sêmen fresco (0,25mL com 1×10^8 espermatozoides totais e 8×10^7 espermatozoides vivos) foi depositado no interior do útero. Após a cirurgia, o animal recebeu 2,5mg de hormônio luteinizante (Lutropin[®]-V-Bioniche[®]) e 40.000 UI/Kg de penicilina benzatina (Pentabiótico reforçado[®]-Fort Dodge[®]) i.m. O diagnóstico de gestação foi obtido por ultra-sonografia transabdominal 70 dias após a IATF.

Resultados e Discussão

O tempo de gestação foi de sete meses, conforme já relatado para a espécie; entretanto, o filhote não sobreviveu após o parto. Embora os protocolos de IATF sejam de difícil aplicação direta nos cervídeos neotropicais, devido à falta de conhecimento detalhado da fisiologia ovariana e à necessidade de maior frequência de manejo para sucessivas aplicações hormonais, podemos dizer que o protocolo realizado foi eficiente na presente condição. No entanto, é importante salientar que inúmeros fatores contribuem para o sucesso das técnicas de inseminação, entre eles o método de sincronização e o tempo decorrente até a inseminação; a dose e a qualidade do sêmen; a experiência dos técnicos e o estresse do manejo ao qual o animal foi submetido. Embora este seja o relato de apenas um caso, o seu sucesso é o início de um caminho promissor para a utilização das biotécnicas reprodutivas no manejo populacional *ex situ* e *in situ*, visando a conservação dos cervídeos brasileiros.

Palavras-chave: cervídeo, sincronização de estro, inseminação artificial, veado-mateiro.

Keywords: deer, estrous synchronization, artificial insemination, red brocket deer.

ASININOS

021

Uso de sondas fluorescentes para avaliação da integridade da membrana do espermatozoide asinino pós congelamento

(Use of fluorescent probes to assess asinine spermatozoa membrane integrity after frozen)

P.G. Ker^{1*}, **G. Pugliesi**¹, **L.F. Martins**², **G.R. Carvalho**¹, **R.R. Oliveira**¹

¹ Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa; ² Departamento de Veterinária, Universidade Federal de Viçosa. *E-mail: pgkvet@yahoo.com.br

Introdução

A menor taxa de fertilidade do sêmen asinino congelado quando comparada ao sêmen fresco e/ou resfriado, é um dos maiores entraves à difusão dessa biotecnologia. A integridade da membrana espermática (IMP) é fundamental para sobrevivência do espermatozóide no aparelho reprodutor feminino. Várias técnicas laboratoriais têm sido usadas para avaliar a IMP na tentativa de prever a fertilidade do garanhão. Objetivo-se avaliar integridade da membrana espermática do sêmen congelado de jumento por uma técnica de fluorescência.

Material e Métodos

Foram realizados 8 congelamentos do sêmen coletado de um reprodutor da raça Pêga. Após a coleta, o sêmen foi diluído com diluidor de Kenney *et al.* (1975), centrifugado e o *pellet* foi ressuspensionado com diluidor de congelamento (Martin *et al.*, 1979). O sêmen foi resfriado, estabilizado e congelado. Os parâmetros físicos (motilidade e vigor) foram avaliados no sêmen fresco e descongelado. A IMP foi avaliada utilizando as sondas diacetato de carboxifluoresceína e iodeto de propídio através do método de Zúccari (1998). Foram contadas 100 células, classificadas em íntegras, semi-lesadas e lesadas. Foi realizada a correlação simples de Pearson entre as variáveis motilidade no pós-descongelamento e porcentagem de espermatozóides íntegros.

Resultados e Discussão

A motilidade e vigor médio do sêmen descongelado foram de $36,9\% \pm 6,5$ e $2,6 \pm 0,3$. A porcentagem de espermatozóides íntegros, semi-lesados e lesados foram de $24,9 \pm 11,1$, $9,9 \pm 4,3$ e $66,4 \pm 8,5$, respectivamente. Não foi observada correlação significativa entre as variáveis estudadas, contrastando com os resultados obtidos por Oliveira (2005) que encontrou valores de $40,5\% \pm 7,9$ e $42,1 \pm 9,4$ para motilidade e porcentagem de espermatozóides íntegros, respectivamente. Apesar dos dados de motilidade e vigor no descongelamento serem considerados satisfatórios para a espécie asinina, o elevado comprometimento da IMP poderia afetar a fertilidade do sêmen, o que não pôde ser avaliado neste estudo. Novos estudos precisam ser realizados para comprovação da eficácia desta técnica na predição da fertilidade do sêmen congelado de jumentos.

Referências bibliográficas

Oliveira J.V. Estudo de metodologias para criopreservação do sêmen de jumento por meio de testes laboratoriais e fertilidade. Botucatu, 2005. Tese – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia Júlio Mesquita Filho Unesp
Zúccari, C.E.S.N. Efeito da criopreservação sobre a integridade estrutural da célula espermática equina. Botucatu: UNESP. Tese (Doutorado), 1998.

Palavras-chave: jumento, sêmen congelado, análises laboratoriais.

Keywords: Donkey, frozen semen, laboratory analysis.

AVES

022

Análise computacional da compactação da cromatina de espermatozóides de galo (*Computational analysis of chromatin condensation of fowl*)

I.N. Duarte¹, **D.A. Pinto**¹, **G.S.L. Sampaio**¹, **M.N. Gama**¹, **A.C.N. Rodrigues**¹, **J.V. Rocha**¹, **M.E. Beletti**²

¹Faculdade de Medicina Veterinária, ²Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal de Uberlândia-UFU, Uberlândia, MG, Brasil. E-mail: ivamario@yahoo.com.br

Introdução

O objetivo desse trabalho foi testar variantes metodológicas utilizando azul de toluidina (AT), até se estabelecer um protocolo confiável para a avaliação computacional da compactação da cromatina em espermatozóides de galo, bem como utilizar esta metodologia para avaliar sêmen de matrizes pesadas em idade de descarte e em pico de produção.

Material e Métodos

Para a avaliação computacional da compactação da cromatina, foram utilizadas 10 amostras de sêmen de galos com 35 semanas de idade e 10 amostras de sêmen de galos com 60 semanas de idade. O melhor método foi hidrólise com ácido clorídrico 1N por 10 minutos, coloração em cubeta com AT 0,025%, pH 4,0, por 20 minutos, desidratação em álcool, diafanização em xilol e montagem com bálsamo do Canadá. Todas as amostras de sêmen foram submetidas a este protocolo e posteriormente avaliadas por análise de imagem computacional, onde foram feitas mensurações da área, comprimento, largura, perímetro, homogeneidade da compactação da cromatina dentro de cada cabeça e intensidade de compactação da cromatina.

Resultados e Discussão

Os espermatozóides de galos velhos apresentaram mais alterações na cromatina do que os de galos jovens. Os galos jovens apresentaram cabeças de espermatozóides maiores do que galos velhos. A análise computacional da compactação da cromatina mostrou-se um método menos subjetivo e mais preciso do que a avaliação visual das cabeças dos

espermatozoides.

Referências bibliográficas

Beletti, M.E.; Costa, L.F. A systematic approach to multi-species sperm morphometrical characterization. *Analytical and Quantitative Cytology and Histology*, St Louis, v.25, n.2, p.97-107, 2003.

Soares, J. M. ; Beletti, M. E. . Avaliação da integridade cromatínica de espermatozoides de galos (*Gallus gallus*, Linnaeus, 1758) de linhagem pesada em duas idades. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v. 43, p. 543-553, 2006.

Palavras-chave: Espermatozoide, galo, cromatina.

Keywords: Spermatozoon, fowl, chromatin.

Agradecimento: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais – FAPEMIG.

023

Morfologia testicular em Emas (*Rhea americana*, LINNEAUS - 1758): diâmetro dos túbulos seminíferos (*Testicular Morphology in Emas (Rhea americana, LINNEAUS - 1758): Diameter of seminiferous tubules*)

S.F.M. Carvalho¹, G.E. Freneau²

¹ Pós-Graduação em Ciência Animal – LATS EV-UFG, Goiânia-GO; ²Prof. Laboratório de Andrologia e Tecnologia do Sêmen Escola de Veterinária – UFG. E-mail: gfreneau@gmail.com

Introdução

Conhecimentos sobre a morfologia testicular subsidiaram questões sobre a reprodução de determinada espécie em conhecimentos de morfo-fisiologia. Este temática na ema não foi ainda estudada. O objetivo de este trabalho foi o estudo a morfologia quantitativa microscópica dos túbulos seminíferos desta ave, servindo de base a futuros estudos de reprodução e fertilidade.

Material e Métodos

Foram utilizadas 54 emas sexualmente maduras com idade média de 2,5 anos, peso corporal médio de 30 kg, de criatório comercial. Foram abatidas em frigorífico credenciado pelo SIF. As coletas foram realizadas durante os meses de dezembro de 2006 e maio de 2007, meses considerados como de atividade e repouso reprodutivo respectivamente. Fragmentos de parênquima testicular foram obtidos após do abate e fixados em solução de Bouin, posteriormente desidratados, diafanizados, incluídos, cortados pela técnica de HE. Com auxílio de microscópio binocular de luz, objetiva de 40x e *software* Axio Vision® 3.0.6 sp4 (Carl Zeiss, GmbH) foram medidos em cortes transversais dos túbulos seminíferos os diâmetros dos túbulos seminíferos (DTS), os diâmetros do lumen tubular (DLT) de cada túbulo e a espessura do epitélio em suas medidas vertical e horizontal, formando dois ângulos retos. As medias obtidas nas diferentes coletas foram comparadas pelo teste ‘t’ student.

Resultados e Discussão

Os túbulos seminíferos da Ema apresentaram contornos regulares. Os dados observados para cada coleta (dezembro 2006 e maio 2007) serão apresentados: diâmetro do túbulo vertical $115,0 \pm 22,6$ e $7,5 \pm 0,5$ ($P < 0,05$), diâmetro do túbulo horizontal $108,6 \pm 15,13$ e $3,1 \pm 0,4$, diâmetro do túbulo seminífero $111,8 \pm 18,8$ e $5,3 \pm 0,5$, diâmetro do lume vertical $55,7 \pm 11,9$ e $6,4 \pm 0,6$, diâmetro do lume horizontal $48,8 \pm 9,4$ e $2,7 \pm 0,6$, diâmetro do lume $52,3 \pm 10,6$ e $4,5 \pm 0,6$, espessura do epitélio vertical $59,3 \pm 13,5$ e $1,1 \pm 0,4$, espessura do epitélio horizontal $59,8 \pm 14,2$ e $0,4 \pm 0,7$ e espessura do epitélio seminífero $59,5 \pm 7,1$ e $0,8 \pm 0,4$. Estas diferenças ($P < 0,05$) nos dados apresentados são decorrentes de uma maior atividade da espermatogênese nos meses de verão fato observado em outras espécies de aves (Stefanini, 1999; Baraldi-Artoni et al 2007). A arquitetura dos túbulos seminíferos de Emas é similar à descrita em outras espécies de aves (Jones, Lin 1993; Baraldi et al, 1999; 2007, Thurston; Korn, 2000). Foram apresentadas as dimensões dos diâmetros dos túbulos seminíferos e lume tubular na Ema (*Rhea americana*, LINNEAUS – 1758). Foram detectadas maiores valores nos diâmetros e lume dos túbulos seminíferos no mês de dezembro que comprova como esta época de maior atividade espermatogênica.

Referências bibliográficas

Jones RC, Lin M. Spermatogenesis in birds. *Oxf Rev Reprod Biol.*;v. 15, p. 233-64; 1993

Baraldi-Artoni SM, Bottino F, Oliveira D, Sobue Franzo V, Amoroso L, Orsi AM, Cruz C. Morphometric study of *Rynchotus rufescens* testis throughout the year. *Braz J Biol.* v. 67, p. 363-7, 2007.

Baraldi Artoni, S. M.; Orsi, A. M.; Carvalho, T. L. L.; Vicentini, C. A.; Stefanini, M. A. Seasonal morphology of the domestic quail (*Coturnix coturnix japonica*) testis. *Anatomia, Histologia, Embryologia*, v. 28, 217-220, 1999.

Thurston RJ, Korn N. Spermiogenesis in commercial poultry species: anatomy and control. *Poult Sci.* v. 79, p. 1650-68, 2000.

Palavras-chave: Reprodução, testículos, aves.

Keywords: Reproduction, testis, birds.

024

Cobertura em codorna européia e tempo de permanência de espermatozoides em Glândulas Hospedeiras de Espermatozoides (GHE) (*Breeding in European quails and time of permanence of the spermatozoids on the Spermatozoid Host Glands*)

J.L.P.S. Miranda, A.P. Marques Júnior

Escola de Veterinária da UFMG. E-mail: miranda.jacklino@gmail.com

Introdução

A determinação do tempo de permanência dos espermatozoides nas glândulas hospedeiras de espermatozoides (GHE) (Bakst, 1998), possibilitando a produção de ovos galados por um período maior de tempo, facilitará que granjas de codorna de corte modifiquem o padrão utilizado na reprodução destes animais. Com isso, pode ser feita redução do número de reprodutores, com conseqüente diminuição de perdas de matrizes por traumatismos na cabeça por excesso de cópulas diárias, resultando em aumento da eficiência reprodutiva, mesmo com um número menor de reprodutores. O trabalho objetiva quantificar o número de glândulas hospedeiras de espermatozoides (GHE) com espermatozoides presentes nas mesmas até o 5º dia de acasalamento, associando este achado com o período de fertilidade dos ovos coletados.

Material e Métodos

De animais em fase reprodutiva foram utilizadas 18 (dezoito) machos, divididos em 3 (três) grupos de seis animais e 40 (quarenta) fêmeas, totalizando 58 (sessenta e dois) animais. As fêmeas foram divididas em 7 grupos e acasaladas por 24 horas em gaiolas individuais. Após este período os machos, utilizados de modo intercalado, eram separados do contato com as fêmeas e colocados em descanso. O procedimento adotado para o abate das matrizes foi o seguinte: Grupo Controle G0 (n=4 fêmeas), abatidas no início do experimento; G1 (n= 6 fêmeas), abatidas no 6º dia (144 horas) após o acasalamento; G2 (n= 6), abatidas no 5º dia (120 horas) após o acasalamento; G3 (n=6), abatidas no 4º dia (96 horas) após o acasalamento; G4 (n=6), abatidas no 3º dia (72 horas) após o acasalamento; G5 (n=6), abatidas no 2º dia (48 horas) após o acasalamento e o G6 (n=6), abatidas no 1º dia (24 horas) após o acasalamento. O material foi fixado com formalina tamponada em tampão fosfato, pH 7,2, 0.1M e incluído com técnicas rotineiras de histologia e corados em HE (Michalany, 1980).

Resultados e discussão

Os resultados morfométricos parciais mostram que a quantidade de glândulas com espermatozoides diminuíram gradativamente nos grupos G6, G5, G4, G3 e G2, até desaparecerem no grupo G1 (144 horas), caracterizando-se as glândulas por não conterem espermatozoides em seu lume. Entretanto, ovos férteis foram encontrados até o 10º dia após o acasalamento de apenas 24 horas. O presente sinaliza que espermatozoides ascendem das GHE em direção ao infundíbulo e permanecem viáveis por mais 4 dias, ainda com capacidade para fertilização.

Referências bibliográficas

Bakst, M. R. Structure of the avian oviduct with emphasis on sperm storage in poultry. J. Exp. Zool., v.282, p.618-626, 1998.

Michalany, J. Técnica histológica em anatomia patológica; com instrução para o cirurgião, enfermeira e citotécnico, São Paulo: EPU, 1980, 277p.

Palavras-chave: codorna, fertilização, glândulas hospedeiras de espermatozoides

Keywords: quail, fertilization, spermatozois host glands

025

Atividade folicular, avaliada por ultrassonografia, e sua relação com progesterona plasmática, fotoperíodo, pluviosidade e postura em avestruzes (*Struthio camelus*) (Follicular activity, evaluated by ultrasonography, and its relation to plasma progesterone, photoperiod and rainfall in ostrich (*Struthio camelus*))

P.C. Pezoa Poblete¹, V.S. Moustacas¹, C.H. Oliveira², A.P. Marques Junior¹, J.P.A. Haddad³

¹MV, Setor de Reprodução Animal, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG); ²Bióloga, autônoma; ³MV, Setor de Epidemiologia, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). E-mail: info@zoovetconsultoria.com.br

Introdução

O Avestruz, em vida livre, é considerado sazonal, fotoperíodo dependente (Jarvis et al., 1985). Em cativeiro sua sazonalidade pode não ser tão evidente, sendo influenciado por outros fatores, como a disponibilidade constante de alimento e pluviosidade (Huchzermeyer, 2000; Kornfeld et al., 2004). Objetivou-se verificar a atividade folicular em avestruzes em diferentes estações do ano, relacionando-a com postura, fotoperíodo, concentração de progesterona plasmática e pluviosidade.

Material e Métodos

O experimento foi realizado durante 12 meses no criatório *Pure Avestruz* em Carmo-do-Cajuru-MG. Foram selecionados oito avestruzes mestiços da raça *African Black e Blue Neck*. O acesso ultrassonográfico foi realizado pelo flanco direito, caudalmente ao fêmur, logo após a última fileira de penas. Os foliculos eram contados e mensurados no seu diâmetro diagonal. Sangue foi coletado e dosou-se a progesterona segundo o método de quimioluminescência. A duração do fotoperíodo foi obtida no domínio do Observatório Nacional (www.on.br) e o período de chuva no domínio do Instituto Nacional de Meteorologia (www.inmet.gov.br).

Resultados e Discussão

A atividade folicular foi avaliada segundo o número de foliculos presente e tamanho do foliculo maior. Esta foi compatível, na metade das aves, com a média mensal de postura que mostrou não sofrer influência com a quantidade de

dias de chuva mensal. Uma ave permaneceu com atividade folicular durante todo o ano e outra mostrou relação inversa ao período de postura de todo o grupo. Cinco avestruzes não apresentaram correlação entre a atividade folicular e o fotoperíodo. Em duas aves houve um aumento da atividade com o início do incremento da incidência luminosa (junho). A concentração de progesterona não variou segundo qualquer parâmetro testado, apresentando variações de 0,25 a valores superiores a 60ng/ml. Conclui-se que é possível avaliar a atividade folicular pelo método da ultrasonografia, sem correlacioná-la à dosagem de progesterona e definir o período de postura médio de abril a novembro (oito meses) no intervalo avaliado.

Referências bibliográficas

- Jarvis, M. F. J.; Jarvis, C.; Keffen, R. H. Breeding seasons and laying patterns of the southern African ostrich *Struthio camelus*. *Ibis*, v. 127, p. 442-449, 1985
- Huchzermeyer, F. W. *Doenças de avestruzes e outras ratitas/Trad. Giannoni, M.L., Novais, A.A.*. Jaboticabal: FUNEP. 392p. 2000.
- Kornfeld, M. E.; Elmôr, R. A.; Barbosa, F. W. Manejo Reprodutivo. In: Carrer, C. C.; Elmôr, R. A.; Kornfeld, M. E. (Eds). *A criação do avestruz: Guia completo de A a Z*. Grupo Brasil Ostrich, Pirassununga, SP, , 2004, p.113-126.
- Palavras-chave:** avestruz, sazonalidade, reprodução, ultrassom, progesterona.
- Keywords:** ostrich, seasonality, reproduction, ultrasound, progesterone .
- Agradecimentos:** Fazenda Pure Avestruz – Carmo do Cajuru – MG.

BOVINOS

026

Desenvolvimento reprodutivo de touros Gir-leiteiro precoces e “regulares” (*Reproductive development of precocious and “regular” dairy Gyr bulls*)

J.A.M. Martins¹, F.A. Souza¹, V.R. Vale Filho¹, M.B.D. Ferreira¹, P.E.M. Gonçalves¹, V.J. Andrade¹, L.L. Emerick¹, T.G. Leite¹, C.M. Santos¹, N.A. Azevedo²

¹Escola de Veterinária – UFMG/CAPES/CNPq; ²Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais – EPAMIG. E-mail: jammvet@gmail.com

Introdução

A puberdade em touros é definida como o momento em que o animal apresenta um ejaculado contendo 50 milhões spz/mL com 10% de motilidade [1]. A seleção para antecipação da idade à puberdade em machos é vantajosa, pois permite que os animais sejam introduzidos mais cedo nas atividades reprodutivas, conseqüentemente reduzindo o intervalo de gerações e acelerando o melhoramento genético [2]. O estudo objetivou a avaliação do desenvolvimento reprodutivo de touros precoces (PREC) e regulares (REG) da raça Gir-leiteiro (Gir-L).

Material e Métodos

Vinte e dois tourinhos, criados sob mesma condição de manejo, foram examinados andrologicamente [3] dos 14,3 aos 26,5 meses de idade. Animais PREC (n=10) atingiram a puberdade antes dos 18 meses, e os REG (n=12), aqueles com puberdade após os 18 meses de idade. Os dados de ambos os grupos foram analisados de acordo com a idade média e ajustada à puberdade, adotando-se o máximo de observações antes e após a mesma. As médias das variáveis com distribuição normal foram comparadas entre os grupos utilizando o teste T, e aquelas sem distribuição normal foram comparadas pelo teste de Mann-Whitney. Modelos mistos foram utilizados para se avaliar o efeito de idade, grupo e sua interação pelo procedimento MIXED do pacote estatístico SAS (2002).

Resultados e Discussão

A idade à puberdade diferiu ($p<0,05$) nos dois grupos estudados. Animais PREC foram mais leves ($p<0,05$) que os REG, os quais atingiram a puberdade ao apresentarem maior desenvolvimento corporal. Não foi registrada diferença ($p>0,05$) entre a circunferência escrotal (CE) nos dois grupos, à puberdade. Idade para CE e de idade e grupo para peso apresentaram efeito ($p<0,0001$), em relação à idade à puberdade. Animais REG apresentaram maiores percentuais ($p<0,05$) de defeitos maiores (DM), demonstrando maior eficiência da espermiogênese nos animais PREC à puberdade. Interação significativa ($p<0,05$) entre idade e grupo pode ser observada para DM, indicando que seu desenvolvimento diferiu entre os mesmos. Registraram-se ainda efeitos de idade e de grupo ($p<0,01$) para a motilidade espermática. Concluiu-se que animais PREC foram mais eficientes, principalmente com relação à motilidade espermática e aos defeitos espermáticos do tipo maior, importantes para a eficiência reprodutiva e criopreservação de sêmen.

Referências bibliográficas

- [1] Wolf, F.R.; Almquist, J.O.; Hale, E.B. Prepuberal behavior and puberal characteristics of beef bulls on high nutrient allowance. *Journal of Animal. Science*, n24, p.761-765, 1965.
- [2] Senger, P.L. Puberty. In: Senger, P.L. *Pathways to Pregnancy and Parturition*. Cadmus Professional Communication Science Press Division. 2ed. 2003. 368p.
- [3] Colégio Brasileiro de Reprodução Animal. *Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal*. 2.ed. Belo Horizonte: CBRA, 1998. 49p.

Palavras-chave: *Bos taurus indicus*, espermatozôide, precocidade sexual, puberdade.

Keywords: *Bos taurus indicus*, puberty, sexual precocity, spermatozoa.

027

Efeitos de um novo método de castração sobre o peso, a circunferência escrotal e a motilidade espermática em touros Nelore sobre duas idades (*Effect of a new castration method on weight, scrotal circumference and sperm motility in Nelore young bulls at two ages*)

L.L. Emerick¹, V.J. Andrade¹, J.A.M. Martins¹, F.A. Souza¹, G.A.B. Mahecha², T.G. Leite¹, N.A. Azevedo³, J.C. Dias¹, J.E.J. Murta¹, P.M.E. Gonçalves¹, C.M. Santos¹, V.R. Vale Filho¹

¹Escola de Veterinária da UFMG/CNPq/CAPES; ²Instituto de Ciências Biológicas da UFMG, ³Pesquisador da Epamig. E-mail: lucaslemerick@yahoo.com.br

Introdução

Dentre as exigências de mercado destacam-se a idade ao abate e o grau de terminação da carcaça, preferindo-se aquelas oriundas de animais castrados, por apresentarem maior grau de acabamento. Entretanto, tais carcaças apresentam menor rendimento, o que leva a maioria dos criadores a optarem pela produção de animais inteiros. Na tentativa de melhorar a espessura de gordura dos animais inteiros, a inativação do órgão vomeronasal poderá reduzir as interações reprodutivas pela falta da detecção de feromônios reduzindo a concentração sérica de testosterona proporcionando maiores ganhos de peso, rendimento e acabamento de carcaça. Objetivando-se produzir animais com carcaças superiores, o presente estudo avaliou os efeitos da inativação do órgão vomeronasal sobre as características de peso, circunferência escrotal (CE) e motilidade espermática (MOT) em touros Nelore de um e dois anos de idade criados sob regime extensivos.

Material e Métodos

Foram avaliados 90 touros Nelore de 12 e de 24 meses de idade quanto ao peso, CE e MOT, no período de Janeiro a Setembro de 2008, divididos, dentro de faixa etária, em três grupos de 15 animais: inteiros (G1), castrados (G2) e com a inativação do órgão vomeronasal (G3) (em processo de patente). A castração foi realizada pelo método cirúrgico convencional. A pesagem foi realizada mensalmente, enquanto a CE, e as avaliações do sêmen foram realizadas de três em três meses, até o final do experimento. As médias das variáveis foram analisadas utilizando-se o teste SNK, pelo pacote estatístico SAS (2002).

Resultados e Discussão

Para as variáveis peso, CE e MOT houve efeito de idade e de sua interação com as avaliações subsequentes ($p < 0,05$), possivelmente, pelo fato dos animais jovens desenvolverem características ponderais e reprodutivas com o avanço da idade (Vale Filho et al., 1989). Houve efeito de tratamento para a variável peso, com animais do G1 e G3 não diferiram entre si ($p > 0,05$), porém apresentando médias superiores aos animais do G2 em ambas as idades ($p < 0,05$). Tal fato pode ser atribuído ao efeito anabólico da testosterona proporcionando carcaças com maiores proporções de carne e menores de gordura produzindo animais com pesos superiores (Silva, 2000). Entretanto, para o G3 o mesmo hormônio possivelmente não variou o suficiente para influenciar o peso dos animais.

Referências bibliográficas

Silva, F.F. Aspectos produtivos da castração de novilhos de corte. *Cadernos Técnicos de Medicina Veterinária e Zootecnia*, n.33, p. 68-95, 2000.

Vale Filho, V.R. et al. Peso corporal, circunferência escrotal e características do sêmen em touros Nelore de 36 meses de idade. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, Suppl.1, p.204, 1989.

Palavras-chave: circunferência escrotal, Nelore, peso, sêmen, zebu.

Keywords: Nelore, scrotal circumference, semen, weight, zebu.

Pesquisa financiada pelo CNPq.

028

Correlação entre o crescimento da bolsa escrotal, idade e as características do sêmen do bovino da raça Nelore, dos 10 aos 24 meses de idade (*Correlation between the scrotal growing, age and the characteristics of semen of the Nelore race bovine, of the 10 to the 24 months of age*)

D. Lunelli, T.A. Turra, M.S. Segui, E. Faleiros, R.R. Guimarães, L.E. Kozicki

Pontifícia Universidade Católica do Paraná

E-mail: dilunelli@hotmail.com

Introdução

Ao se examinar um reprodutor verifica-se a biometria testicular, a puberdade, o libido, a capacidade de serviço e a qualidade física e morfológica do sêmen dentre outras. Conforme Unanian (1997), desperta maior interesse a estimativa do desenvolvimento testicular em touros antes dos 24 meses, por se tornar um período, que antecede ou que coincide com a atividade reprodutiva, além de que as aferições do perímetro escrotal (PE) possuem uma correlação positiva com o peso corporal, e a idade à puberdade. O objetivo do trabalho foi correlacionar o crescimento na biometria testicular, pesquisando-se animais em diferentes meses de idade.

Material e Métodos

O experimento foi realizado na Cabanha Rosazul, no município de Palmeira-PR entre setembro/07 a julho/08, utilizando-se 20 animais da raça Nelore com idade média ao início do experimento, entre 10 a 24 meses. Avaliou-se as seguintes características: biometria testicular, peso corporal e características do sêmen. A biometria testicular foi aferida com uma fita métrica, a consistência testicular com palpação e a coleta do sêmen mediante palpação da ampola de Henle ou eletroejaculador de acordo com o Manual do CBRA. Na análise estatísticas calculou-se a média, desvio-padrão, e as variações foram estimadas utilizando-se o teste T e o teste F de Snedecor-Fischer e seu grau de significância. Para a avaliação da correlação, subdividiu-se pela faixa etária em dois grupos: Grupo 1 – menor que 20 meses, e Grupo 2 – igual ou maior que 20 meses.

Resultados e Discussão

O teste F não acusou diferença significativa. Por outro lado o teste T demonstrou crescimento da bolsa escrotal superior ($p < 0,001$) do grupo 1 em relação ao grupo 2. Esse resultado indica em conjunto com o espermograma e a consistência testicular, que os animais da raça Nelore, tornaram-se aptos à reprodução ao estabelecerem o crescimento testicular com a idade média final de 20 meses. Segundo Hahn et al. (1969) touros com potencial para desenvolvimento testicular fisiológico poderiam ser detectados precocemente, mediante o controle do perímetro escrotal, como o observado no presente experimento.

Referências bibliográficas

Hahn, J. Foote, R. H.; Seidel, G. E. Testicular growth and related sperm output in dairy bulls. *Journal of Animal Science*, v. 29, n. 1, p. 41-47, 1969.

Unanian, M.; Silva, A.E.D.F. Estudo da precocidade sexual em bovinos machos da raça Nelore. *DIA de campo*: 10/10/1997. O melhoramento do Nelore a campo: Fazenda Novo Mundo, Grupo Manah, p.6-8, 1997.

Palavras-chave: Biometria testicular, puberdade, bovino.

Keywords: Testicular biometry, puberty, bovine.

029

Sazonalidade reprodutiva em touros Curraleiros (*Reproductive seasonality in Curraleiro bulls*)

H.C.A. Teixeira^{1,2*}, N.V. Nascimento¹, A.A. Egito¹, A.S. Mariane¹, A.F. Ramos¹

¹Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia; ²FAV-UnB – Universidade de Brasília; * Bolsista Capes/UnB. E-mail: aleframos@cenargen.embrapa.br

Introdução

A habilidade de touros para produção de sêmen está na dependência da interação ambiente e espermatogênese. Portanto, a variação sazonal sobre as características físicas e morfológicas do sêmen pode ocorrer, em alguns animais, devido ao desconforto perante temperaturas elevadas. O gado Curraleiro, bovinos naturalizados brasileiros, são predominantes nas regiões nordeste e centro-oeste, apresentando rusticidade e adaptabilidade a altas temperaturas e baixa disponibilidade alimentar. Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito das estações do ano sobre os parâmetros seminais de bovinos do grupamento genético Curraleiro no centro-oeste do Brasil.

Material e Métodos

Cinco reprodutores do grupamento genético Curraleiro, criados a pasto, foram submetidos à coleta de sêmen por meio de eletro ejaculador mensalmente durante um ano. O sêmen coletado foi avaliado quanto ao volume do ejaculado, concentração espermática (câmara de Neubauer), motilidade progressiva (microscopia de luz) e morfologia espermática (contraste de fase). Para análise estatística foi realizada Análise de Variância e teste de Duncan, com auxílio do programa estatístico SAS. Neste trabalho estão apresentados a Média±Desvio Padrão dos resultados obtidos nos meses referentes ao solstício de verão (VER), equinócio de outono (OUT), solstício de inverno (INV) e equinócio de primavera (PRI), respectivamente.

Resultados e Discussão

O volume do ejaculado ($7,2 \pm 1,40$; $8,2 \pm 4,09$; $6,9 \pm 2,38$; $8 \pm 0,61$) e motilidade progressiva ($81 \pm 12,45\%$; $81 \pm 8,22\%$; $84 \pm 4,18\%$; $86 \pm 4,18\%$) foram semelhantes ($P > 0,05$) entre as estações do ano. A concentração espermática foi menor ($P < 0,05$) no VER que no OUT e PRI ($452 \pm 278,22^b$; $686 \pm 352,66^a$; $785 \pm 127,03^a$; $520 \pm 199,87^{ab}$). A proporção de defeitos menores foi semelhante ($P > 0,05$) entre as épocas do ano ($7,16 \pm 2,83\%$; $9,22 \pm 10,29\%$; $8,88 \pm 4,32\%$; $6,89 \pm 2,34\%$), enquanto a de defeitos maiores foi maior ($P < 0,05$) no INV e na PRI do que no VER ($8,77 \pm 4,22\%^b$; $8,98 \pm 6,55\%^{ab}$; $11,35 \pm 10,24\%^a$; $10,85 \pm 2,90\%^a$). O aumento dos defeitos maiores no ejaculado dos touros durante o INV e a PRI podem estar relacionados com a menor disponibilidade de alimentos durante esse período, por se tratar de época seca na região centro-oeste do Brasil. Apesar disto, os resultados apontam pouca variação sobre os parâmetros seminais de touros Curraleiros, o que pode ser um indicativo da adaptação destes animais a região de seca prolongada. Mais estudos são necessários para avaliar o efeito das mudanças climáticas sobre a produção espermática de touros Curraleiros.

Palavras-chave: conservação; recursos genéticos; sêmen; touro.

Keywords: conservation; genetics resources; semen; bull.

030

A biometria testicular e sua relação com o início da puberdade de bovinos da raça Nelore (*The testicular biometry and the relation with beginning of the puberty of the Nelore race bovine*)

T.A. Turra, D. Lunelli, M.S. Segui, E. Faleiros, R.R. Guimarães, L.E. Kozicki

Pontifícia Universidade Católica do Paraná. E-mail: thaturra@yahoo.com.br

Introdução

O perímetro escrotal é uma característica facilmente mensurável, seu conhecimento permite prever o potencial reprodutivo de touros jovens por estar associado ao desenvolvimento testicular, à produção diária de espermatozoides e à idade à puberdade (Silva et al., 2002). A inclusão do perímetro escrotal nos programas de melhoramento bovino é essencial, pois esta característica apresenta herdabilidade média a alta. O objetivo do presente trabalho foi de identificar a fase inicial da puberdade dos bovinos.

Material e Métodos

Os dados utilizados referem-se a 20 machos da raça Nelore, da Cabanha Rosazul, situada no município de Palmeira-PR. Os animais tinham idade variando entre 10 a 20 meses ao se iniciar o experimento, e recebiam diariamente uma dieta balanceada em suplementação mineral e concentrado, além das forrageiras a campo. Esses animais foram submetidos a 10 exames consecutivos, sendo as medições do perímetro escrotal realizadas com o auxílio de fita métrica e o espermograma foi efetuado mediante coleta de sêmen por meio de massagem da ampola de Henle ou eletroejaculador. Para os cálculos estatísticos utilizou-se o teste T de Student e as correlações de Pearson.

Resultados e Discussão

Para análise dos resultados dividiu-se os dados em três fases (F): (F1 = 10 a 20 meses; F2 = 15 a 25; F3 = 20 a 30 meses). O teste T acusou elevada significância ($p < 0,001$) em função de que os animais tiveram em média um crescimento de 13,0 cm na F1, 12,5 cm na F2 e 9,0 cm na F3 e o coeficiente de correlação de Pearson, apresentou significância entre a F1 e a F2. Houve ainda uma variação de 47,4% nas medidas da circunferência escrotal ($p < 0,001$) entre F1 e F2. Ao se comparar as F2 e F3, observou-se que os resultados não foram significativos, dados esses que podem ser um indicativo de que os animais atingiram a maturidade. A circunferência escrotal teve um crescimento positivo entre 10 a 18 meses de idade. Os dados do presente experimento são corroborados pelos relatos de Deragon et al. (1990).

Referências bibliográficas

Deragon, L.A.; Ledic, I.L. Avaliação da circunferência escrotal em touros nelore. Revista Brasileira Reprodução Animal, v. 14, n.4, p.227-233,1990.

Silva, A.E.D.F.; Unianian, M.M.; Cordeiro, C.M.T. Relação da circunferência escrotal e parâmetros da qualidade do sêmen em touros da raça nelore, PO. Revista Brasileira de Zootecnia, v. 31, n.3, p.1157-1165, 2002.

Palavras-chave: Bovino, Nelore, biometria testicular, puberdade.

Keywords: Bovine, Nellore, testicular biometry, puberty.

031

Ultra-sonografia na avaliação das glândulas vesicais de bovinos da raça Nelore (*Ultrasonography in the evaluation of the bovine vesicle glands of Nellore race*)

A.A. Pastore^{1,2,3}, G.H. Toniollo², D.J. Cardilli², J.C. Canola², M.E.Z. Mercadante, J.A. Oliveira²; A.J. Coutinho²

¹Androvet – Pecuária – Rua: Matheus Benelli, 537 Sertãozinho SP, Brasil. ²Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal – FCAV/UNESP, Jaboticabal-SP, Brasil. ³ Instituto Qualittas de Pós Graduação. ⁴ Estação Experimental de Zootecnia de Sertãozinho. E-mail: dr.athos@netsite.com.br

Introdução

A capacidade reprodutiva do touro é avaliada, com precisão, pelo exame andrológico (Unanian, 2000). A evolução das técnicas de diagnóstico faz-se necessário, sendo a ultra-sonografia um método muito importante (Sanches e Afonso, 2000; Viana, 2004).

Material e Métodos

Foram utilizados 111 bovinos da raça Nelore, avaliados andrológicamente e submetidos a exame ultra-sonográfico do aparelho reprodutivo aos 13 e 15 meses de idade. Utilizou-se um aparelho Pie medical, transdutor de 7,5MHz, os exames ultra-sonográficos foram executados nas glândulas vesicais (GV) esquerda e direita, pela via trans-retal e as imagens foram feitas no plano longitudinal individualmente. A imagem foi captada no computador e analisada com auxílio do software EIV, que auxiliou também na obtenção da média da escala de cinza (intensidade de pixels da imagem que varia de 0%, cor negra, a 100% cor branca) de duas regiões de interesses pré-estabelecidas (RI). Cada RI foi delimitada com um quadrado de 6,3 mm. O volume, comprimento e largura da glândula vesical foram aferidos com o auxílio do software e a unidade foi o cm³ e mm, respectivamente.

Resultados

A média da largura da GV esquerda aos 13 meses foi de 12,79±2,91mm, o comprimento foi de 34,40±8,49mm e o volume 3,77±1,62cm³, a GV direita aos 15 meses obteve largura de 12,09±3,02, comprimento de 33,79±7,16mm e 3,56±1,27cm³. A GV direita aos 13 meses mediu 12,45±3,92mm de largura, 34,67±6,32mm de comprimento e 3,35±1,62cm³ de volume. A média da escala de cinza foi de 13,52% e 13,93% aos 13 e 15 meses. A GV esquerda aos 13 meses obteve 17,59±6,57%

na escala de cinza e aos 15 meses 16,59±6,58%; A GV direita aos 13 meses foi de 9,46±3,59% e aos 15 meses 11,28±3,30%.

Referências bibliográficas

Sánchez, R., Alfonso, E. Ultra-sonografia na reprodução animal. TecnoVet, v.1, p.6, 2000.

Unanian, M.M.; Silva, A.E.D.; Mc Manus, C.; Cardoso, E.P. Características biométricas testicular para avaliação de touros zebuínos da raça nelore. Revista Brasileira Zootecnia, v.29; n.1, p.136-144, 2000.

Viana, J.H.M., Barreto Filho, J.B., Albuquerque, F.T. Ultra-som: ferramenta para melhorar a eficiência reprodutiva. Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2004.

Palavras-chave: Ultra-som, Nelore, Touros.

Keywords: ultrasound, Nelore, Bulls.

032

Idade a puberdade de touros jovens Nelore no estado de Mato Grosso do Sul (*Puberty age in Nelore young bulls in Mato Grosso do Sul State*)

B.X. Ferreira¹, E.V. Costa e Silva², M.F. Pereira³, A.A.A.D. Fortunato¹, C.E.S.N. Zúccari²

¹Acadêmicos do Curso de Medicina Veterinária / FAMEZ / UFMS – PIBIC/CNPq; ²Laboratório de Reprodução Animal - FAMEZ/ UFMS, Campo Grande – MS; ³Programa de Mestrado em Ciência Animal/ FAMEZ; GERA-MS – Grupo de Estudos em Reprodução Animal do Estado de Mato Grosso do Sul, UFMS/ CNPq. E-mail: bxxf@hotmail.com; licsilva@nin.ufms.br

Introdução

A puberdade é o início da fertilidade e o período em que se verifica rápido desenvolvimento reprodutivo e somático. A puberdade, de forma geral, começa com o aparecimento da fertilidade em seus aspectos funcional, fisiológico e comportamental. Cientificamente é definida como sendo a idade do primeiro ejaculado com 10% de motilidade progressiva e 50 milhões de espermatozoides totais (Wolf et al, 1965).

Material e Métodos

Foram avaliados quanto aos aspectos andrológicos 1425 machos jovens Nelore entre 7 e 24 meses no Estado de Mato Grosso do Sul. Aqueles que apresentaram 19cm de perímetro escrotal foram submetidos ao processo de eletro ejaculação para obtenção do ejaculado e avaliação qualitativa seminal.

Resultados e Discussão

Foram considerados púberes 31% dos tourinhos avaliados, sendo que a faixa etária, peso e perímetro escrotal influenciaram significativamente a classificação dos animais. Até os 9 meses de idade 100% dos tourinhos encontravam-se não púberes. O percentual de animais púberes aumentou de forma expressiva a partir dos 16 meses (50%) atingindo o 84% aos 19 e ultrapassando a casa dos 90% a partir dos 20 meses. Os primeiros registros de puberdade surgiram aos 10 meses (2%), no entanto a idade média à puberdade foi de 19.71 ± 0,25 meses. Foi observada uma pequena parcela de indivíduos mais precoce que atingiu a puberdade antes dos 13 meses, cerca de 11% da população estudada.

Referências bibliográficas

Wolf, FR, Almquist, JO, Hale, EB. Pubertal behaviour and pubertal characteristics of beef bulls on a high nutrition allowance. J. Anim. Sci., v. 224, p. 761-765, 1965.

Palavras-chave: Puberdade, Touros, Fertilidade.

Keywords: Puberty, Bull, Fertility.

Apoio: Hélio Coelho & Filhos – Genética Aditiva

033

Perímetro escrotal e crescimento corporal de touros Nelore elite dos 12 aos 18 meses de idade (*Scrotal perimeter and corporal growth of Nelore bulls from 12 to 18 months of age*)

F.P.C. Lima¹, A.P. Marques Júnior¹, J.A.G. Bergmann¹

¹Escola de Veterinária da UFMG – Belo Horizonte, MG, Brasil. E-mail: fabrizialima@gmail.com

Introdução

O conhecimento de parâmetros relacionados à puberdade possibilita a seleção de reprodutores precoces (Bergmann et al, 1996). Alguns indicadores como a seleção para perímetro escrotal, que pode estar geneticamente associado a características seminais e ponderais, medidas de velocidade de ganho de peso, peso a desmama e peso aos 12 meses de idade podem ser correlacionados com precocidade sexual (Pereira, 2004). O objetivo desse trabalho foi acompanhar o desenvolvimento testicular em animais jovens e correlacionar precocidade sexual com desenvolvimento ponderal.

Material e Métodos

Um grupo de 24 tourinhos Nelore (*Bos taurus indicus*) foi avaliado em relação ao perímetro escrotal (PE) e peso, aos 12, 14, 16 e 18 meses de idade. Os animais foram divididos em três grupos de 8 animais cada, de acordo com o PE aos 11 meses de idade. G1 (PE > 22,8cm), G2 (PE entre 21,6 e 22,6cm) e G3 (PE entre 20,1 e 21,2cm). A análise estatística foi feita de acordo com o SAS (1996).

Resultados e Discussão

Segundo França e Russell (1998), o crescimento testicular é rápido à medida que os animais amadurecem sexualmente, continuando o crescimento de forma mais lenta após a maturidade sexual. O G1 expressou PE maior muito precocemente (12 meses) quando comparado aos G2 e G3, o qual não aumentou de forma intensa até o fim das mensurações, apresentando um aumento progressivo e gradual dos 12 aos 18 meses de idade (Fig 1). Os grupos 2 e 3 tiveram PE menor aos 12 meses de idade, no entanto, apresentaram aumento substancial entre os 12 e 14 meses. O crescimento testicular se estabilizou mais tardiamente nesses grupos, similarmente ao que ocorreu desde os 12 meses no G1. O PE maior no G1 aos 12 meses de idade sinaliza a precocidade da espermatogênese. O PE é um marcador adequado para presumir a precocidade sexual. O ganho de peso diário como critério único de seleção não implica necessariamente em seleção para precocidade (Pereira, 2004). A velocidade de crescimento entre os grupos variou, sendo que o G1 teve maior ganho de peso até os 15 meses de idade em relação aos outros grupos. Esse resultado mostra que o ganho de peso maior ocorreu mais cedo nos animais do grupo com maior PE, indicando que essas características se relacionam favoravelmente. É importante avaliar a relação entre o ganho de peso e o peso adulto e também o maior ganho de peso até a puberdade.

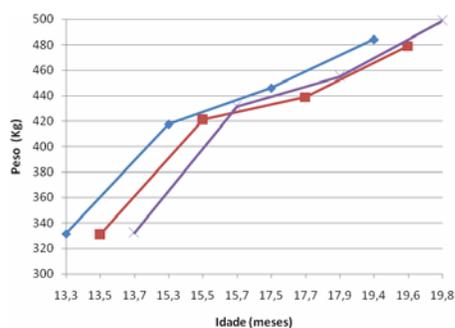


Figura 1: Perímetro escrotal (PE) aos 12, 14, 16 e 18 meses de idade

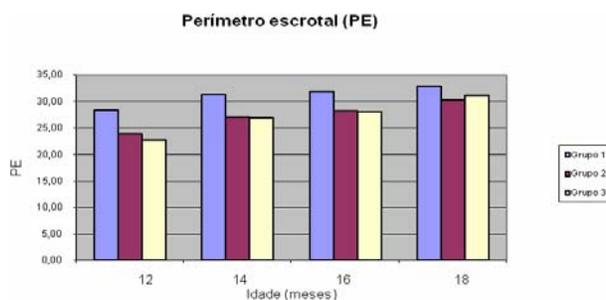


Figura 2: Peso corporal em função da idade em touros Nelore

Referências bibliográficas

Bergmann JAG, Zamborlini LC, Procopio CSO, Andrade VJ, Vale Filho VR. Estimativas de parâmetros genéticos do perímetro escrotal e do peso corporal em animais da raça Nelore. *Arq Bras Med Vet Zootec* 1996;48:69-78.

França, L. R.; Russell, L. D. The testis of domestic mammals. In: Martinez-García, F.; Regadera, J. Male Reproduction. Madri: Churchill Communications Europe, p. 197-219,1998.

Pereira JCC. Melhoramento genético aplicado à produção animal. 4ed. Belo Horizonte: FEP-MVZ, 2004.

SAS Institute Inc., Cary, NC, USA. SAS user's guide: basics. 9.1.3 ed. Cary, 2002-2004.

Palavras-chave: Touros, Nelore, Perímetro escrotal, Peso.

Keywords: Bulls, Nelore, Scrotal perimeter, Weight.

034

Alterações do padrão ultra-sonográfico do parênquima testicular em bovinos jovens da raça Nelore
(*Ultrasonographic changes of the testicular parenchyma pattern in young Nelore bulls*)

D.J. Cardilli¹, G.H. Toniollo¹, A.A. Pastore¹, J.C. Canola¹, M.E.Z. Mercadante²

¹Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Unesp, campus de Jaboticabal-São Paulo; ²Estação Experimental de Zootecnia de Sertãozinho, Sertãozinho – São Paulo. E-mail: djcardilli@yahoo.com.br

Introdução

O parênquima testicular de bovinos jovens da raça nelore é homogêneo e tem baixa ecogenicidade. As microlitíases testiculares (MT) em humanos apresentam padrão ultra-sonográfico heterogêneo e com múltiplos pontos hiperecóticos que não produzem sombra acústica, e caracterizam-se por calcificações intratubulares compostas por múltiplas camadas de fibras colágenas. O desenvolvimento deste estudo visa contribuir para a avaliação andrológica, divulgando imagens de alterações do padrão ultra-sonográfico do parênquima testicular, as quais podem auxiliar no descarte precoce de animais para a reprodução.

Material e Métodos

Foram realizados exames clínicos e ultra-sonográficos nos testículos de 114 bovinos da raça Nelore que fizeram parte de um mesmo rebanho, criados em sistema intensivo, localizado na cidade de Sertãozinho-SP. A avaliação teve início aos nove meses de idade e foram repetidas quando estes atingiram, respectivamente, 13 e 15 meses. Os exames ultra-sonográficos foram realizados com um aparelho Pie Medical 200C, utilizando-se transdutor linear de 8 MHz. Foram feitas varreduras em planos transversais e frontais dos testículos direito e esquerdo.

Resultados e discussão

Três animais apresentaram parênquima testicular heterogêneo com múltiplos pontos hiperecóticos que não produziam sombra acústica em ambos os testículos, e estes não tinham alterações de tamanho, forma, posição, simetria, mobilidade, consistência e sensibilidade. Em humanos, as MT apresentam padrão ultra-sonográfico semelhante ao que foi descrito nestes bovinos. A etiologia e os significados clínicos da MT em humanos ainda são desconhecidos, todavia a doença está associada com transtornos da diferenciação sexual, criptorquidismo, subfertilidade, enfermidades inflamatórias, alterações vasculares e neoplasias. O padrão ultra-sonográfico do parênquima testicular permaneceu alterado dos 9 aos 15 meses de idade, desta forma, não seria indicado o uso destes animais na reprodução, logo, o conhecimento destas alterações é de grande importância, pois permitirão o descarte precoce de animais acometidos, já que ocorrem em pré-púberes.

Referências bibliográficas

Cardilli, D.J. et.al. Ultrasonographic study of testicular development in young Nelore bulls raised in extensive management system. *Animal Reproduction*, v.6, n.1, p.252, 2009.

Villalobos Gollás, M. et.al. Importancia de microlitiasis en ultrasonido de neoplasias de células germinales de testículos. *Actas Urol. Esp.*, v.32, n.2, p. 190-193, 2008.

Palavras chave: Bovinos, Nelore, testículos e ultra-sonografia.

Keywords: Bovine, Nelore, testes, and ultrasound.

035

Relação do teste hiposmótico com o status reprodutivo de touros jovens da raça Montana Composto Tropical (*Relationship between the hiposmotic test and reproductive status in young Montana Tropical bulls*)

R.O. Pinho¹, L.F. Martins¹, J.B. Siqueira², F. Domeneck³, T. Miranda Neto³, J.D. Guimarães¹

¹Departamento de Medicina Veterinária, UFV/MG; ²Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária, UNESP/SP; ³Agro-Pecuária CFM. E-mail: rogerio_op@yahoo.com.br

Introdução

O Montana Composto Tropical possui uma genética que permite apresentar níveis produtivos mais próximos de raças européias do que zebrinas, e pode ser uma alternativa de cruzamento em condições tropicais. A integridade funcional da membrana plasmática avaliada pelo teste hiposmótico (HIPO) é uma importante ferramenta para predizer a capacidade de fertilização do sêmen bovino. Este trabalho teve como objetivo estudar as relações entre os aspectos físicos e morfológicos do sêmen com o HIPO em sêmen *in natura* de touros jovens da raça Montana Tropical classificados aptos e inaptos à reprodução.

Material e Métodos

Trinta e um touros jovens de 18 a 22 meses de idade da raça Montana Composto Tropical, foram agrupados em dois grupos: grupo 1 - oito animais aptos à reprodução; grupo 2 - vinte e três animais inaptos à reprodução, de acordo com o Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA, 1998). O ejaculado dos animais foi coletado pelo método de eletroejaculação, e após a avaliação física e morfológica do sêmen foi realizado o HIPO. Os testes de Lilliefors e Cochran-Bartlett foram realizados para verificar a normalidade dos dados e a homogeneidade das variâncias e posteriormente submetido a análise de variância.

Resultados e Discussão

Foram detectadas diferenças entre os grupos 1 e 2 em relação ao perímetro escrotal e aos defeitos maiores e totais ($P < 0,05$). Não houve diferença entre os grupos em relação aos aspectos físicos do ejaculado ($P > 0,05$). A média do percentual de espermatozoides reativos ao HIPO foi de $54,3 \pm 19,8$, sendo $60,1 \pm 22,1$ para o grupo 1 e $52,3 \pm 19,1$ para o grupo 2, não ocorrendo diferença entre os grupos ($P > 0,05$). Houve correlações médias e positivas do HIPO com aspectos físicos do sêmen, e médias e negativas com os aspectos morfológicos do sêmen ($P < 0,05$). Embora não se observou diferença entre os grupos, o HOST mostra-se importante teste ($P > 0,05$) complementar na avaliação qualitativa de sêmen bovino.

Referências bibliográficas

Revell, S.G., Mrode, R.A. An osmotic resistance test for bovine semen. *Anim. Reprod. Sci.*, v.36, p.77-86, 1994.

Colégio Brasileiro de Reprodução Animal – CBRA. Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal. 2ªed. Belo Horizonte, 1998, 49p.

Palavras-chave: bovinos, espermatozoides, Montana.

Keywords: bulls, spermatozoa, Montana.

036

Seleção espermática epididimal de acordo com a aptidão reprodutiva em touros de corte (*Epididymal sperm selection as reproductive ability in beef bulls*)

L.J.F. Campos¹, C.E. Fernandes³, A.L. Zart¹, D.N.A. Sodré¹, M. Kurtz-Filho²

¹FAMEZ – UFMS, ²DMF/UFMS; ³DPA/CCBS/UFMS. E-mail: laryssa.jfc@gmail.com, cefarnandes@nin.ufms.br, adri_zart@hotmail.com, deboras.nas@gmail.com, mkfkurtz@gmail.com

Introdução

O epidídimo é um dos principais órgãos associados à fisiologia da reprodução do macho. Morfologicamente é composto por três regiões distintas: cabeça, corpo e cauda, cujas funções envolvem a biosíntese, secreção e absorção de proteínas que favorecem o processo de maturação e armazenamento espermático. Paralelamente, o epidídimo atua na seleção de espermatozoides defeituosos, especialmente por macrófagos intra-epiteliais na região da cauda. O objetivo desse ensaio foi avaliar a seleção espermática epididimal em touros com ou sem alterações no espermiograma.

Material e Métodos

Foram estudadas amostras de 17 touros com idade entre 2 e 10 anos, sendo considerados 9 aptos e 8 inaptos após exame de sêmen. O percentual de formas normais e de defeitos espermáticos foram avaliados pelo método de Feulgen (contraste de fase em 1000x) em esfregaços das diferentes regiões epididimais (cabeça, corpo e cauda) e do sêmen. A diferença entre regiões epididimais, sêmen e categoria do touro foi estimada pela análise de variância, modelo linear multivariado (teste de Duncan para $p < 0,05$) para efeitos principais e interativos.

Resultados e Discussão

Os resultados mostraram que houve seleção espermática entre regiões do epidídimo para diferentes defeitos morfológicos. Touros inaptos apresentam menor ($p < 0,05$) percentual de espermatozoides morfolologicamente normais em todas as regiões epididimais em relação aos aptos: cabeça, $49,8 \pm 6,3\%$ x $65,4 \pm 5,9\%$; corpo, $45,8 \pm 6,7\%$ x $64,6 \pm 5,9\%$; cauda, $56,6 \pm 6,3\%$ x $76,1 \pm 5,9\%$. No sêmen observou-se a mesma tendência entre inaptos ($58,4 \pm 7,3\%$) e aptos ($72,5 \pm 8,0\%$). Dos defeitos estudados, a gota citoplasmática proximal foi superior ($p < 0,05$) na região da cabeça em relação às demais, tanto nos aptos ($10,8 \pm 3,4$) quanto nos inaptos ($12,3 \pm 3,6$) demonstrando que há condições semelhantes de maturação espermática entre as categorias estudadas. A cabeça isolada normal foi superior nas regiões da cabeça ($17,8 \pm 3,5\%$), corpo ($31,9 \pm 3,6\%$), cauda ($20,6 \pm 3,5$) em relação ao sêmen ($9,9 \pm 4,4$), sem efeito ($p > 0,05$) de categoria. Os percentuais de vesículas nucleares e alterações de cromatina foram superiores em todas as regiões nos inaptos ($6,6 \pm 2,0$; $6,2 \pm 2,1$ e $11,3 \pm 2,0$ para cabeça, corpo e cauda, respectivamente) em relação aos aptos ($4,4 \pm 1,9$; $3,1 \pm 1,9$ e $4,0 \pm 1,9$ respectivamente para as mesmas regiões). Conclui-se que em touros aptos por ocasião do exame de sêmen, a seleção espermática é mais evidente, sugerindo melhores condições no ambiente epididimal, especialmente para defeitos de núcleo e cromatina espermática.

Palavras-chave: epidídimo, touro, sêmen, espermatozoides.

Keywords: epididymis, bulls, semen, sperm.

037

Protein maps of postpubertal *Bos indicus* bulls raised in Queensland, Australia

A.A. Moura¹, M. McGowan², R. Holroyd³, B. Venus³, J. Mayers², C.E. Souza¹, A. Nouwens⁴, S. Manson⁴

Department of Animal Science¹, Federal University of Ceará, Brazil; School of Veterinary Science², School of Chemistry and Molecular Biosciences⁴, The University of Queensland; Department of Primary Industries³, Australia. E-mail: amoura@ufc.br, arlindo.moura@gmail.com

Introduction

At ejaculation, sperm come in contact with accessory sex gland (ASG) secretions and go through complex alterations until they reach the oviduct and fertilize an oocyte. Proteins from both epididymal and ASG affect those events (Cornwall, 2009; Moura et al., 2007) and the identification of such proteins is vital to fully comprehend sperm function. This study was then conducted to evaluate seminal plasma protein maps from bulls Australian bulls. This country is one of the most important beef producers of the world and many of its herds are formed by *Bos indicus* and their crosses, often raised on pasture, similar to what is seen in most of Brazil.

Materials and Methods

Semen was collected by electroejaculation from fifteen 24-month old Brahman bulls, raised in natural pasture in the Northeast of Queensland. Sperm criteria was evaluated and an aliquot of semen centrifuged for harvest of seminal plasma. Samples were electrophocused (750 µg of protein; 24 cm IPG strips; pH 3 to 11), followed by SDS-PAGE (15%). Sypro-Ruby stained gels were scanned (Typhoon 9410, GE) and images analyzed with PDQuest, v. 8.0 (Bio Rad, USA).

Results and Discussion

Semen samples had an average of $66 \pm 12\%$ of normal sperm and seminal plasma gels, 451 ± 25 spots. Protein spots # 3305, 2305 and 1308 (15 kDa; pI 4.3–5.5) comprised 6.7 % of all intensities quantified in the 2-D maps. These spots appear similar to BSP A1/A2 and A3 proteins previously described in the ASG of Holstein bulls (Moura et al., 2007). We also detected spots with MW and pI comparable to BSP 30 kDa. BSPs affect sperm membrane structure and capacitation, among other events. A cluster with 8 spots was the second most abundant in the gels, corresponding to 3.8 % of the total integrated optical density of all spots. However, the identity of those elements remains to be established. Many other spots are shown as “trains”, typical of protein isoforms, as we and others have reported to be the case for epididymal and ASG proteins from several species (for review: Cornwall, 2009; Moura et al., 2007). Study of the seminal plasma proteome of tropically-adapted bulls will help us to understand the unique aspects of these genotypes and their reproductive attributes.

References

- Cornwall GA. 2009. New insights into epididymal biology and function. Hum Reprod Update. 15:213-227.
Moura AA, Koc H, Chapman DA, Killian GJ. 2007. A comprehensive proteomic analysis of the accessory sex gland fluid of mature Holstein bulls. Anim Reprod Sci. 98:169-188.

Keywords: Australia, *Bos indicus*, electrophoresis, protein, seminal plasma, sperm.
Palavras-chave: Austrália, *Bos indicus*, eletroforese, espermatozóide, plasma seminal, proteína.

038

Biometria testicular e características seminais de touros da raça Nelore criados a campo na região Norte do Estado do Maranhão (*Testicular biometry and seminal characteristics of Nelore bulls in the Norte region of Maranhão*)

J.A.T. Souza¹, C.J. Farias¹

¹Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / Universidade Federal do Piauí. E-mail: adalmir@ufpi.br

Introdução

Elevada frequência de touros questionáveis quanto a aspectos biométricos testiculares, físicos e morfológicos do sêmen, além do comportamentais sexual, tem sido registrados. Alguns trabalhos mostram a subutilização de touros Nelore e sugerem que a tradicional relação touro/vaca de 1:25, seja ampliada para até 1:60, o que geraria uma economia no custo do bezerro desmamado. Na seleção andrológica de touros, o exame clínicos dos órgãos genitais, a biometria testicular, a avaliação do sêmen e, se possível, o comportamento sexual, são essenciais para assegurar a boa fertilidade do macho. Este trabalho objetiva registrar alguns aspectos clínicos andrológicos obtidos de reprodutores da raça Nelore, criados a campo, na região Norte do Estado do Maranhão.

Material e Métodos

De um total de 750 exames andrológicos em touros da raça Nelore, criados a campo, em oito propriedades da região Norte do estado do Maranhão, 738 touros foram considerados aptos para uso na reprodução. A idade e peso médios foram, respectivamente, 57,32±26,22 meses e 599,78±135,60 kg. Os procedimentos técnicos para os exames clínicos dos órgãos reprodutivos, colheita e análise do sêmen, foram de acordo com as normas estabelecidas pelo COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL. Os exames foram realizados nos meses de novembro e dezembro de 2008, como preparativo dos animais para uso na Estação de Monta do ano 2008/2009, normalmente iniciada nos meses de dezembro ou janeiro. Todos os dados foram processados pelo Software CAP (Classificação Andrológica por Pontos).

Resultados e Discussão

Os valores médios e respectivos desvios, referentes ao conjunto escroto-testicular foram: consistência (1-5) = 4,34±0,62, perímetro escrotal (cm) = 34,30±3,61, comprimento (cm) = 11,13±1,13 e largura (cm) = 6,44±0,83; ao epidídimo foram: conformação (1-3) = 2,90±0,32; ao sêmen foram: volume (ml) = 6,02±1,85, turbilhão (0-5) = 3,15±1,06, motilidade individual progressiva (%) = 74,67±7,11, vigor (0-5) = 3,54±0,69, concentração (10³/mm³) = 648,05±294,65, defeitos maiores (%) = 6,70±1,41 e defeitos totais (%) = 15,16±4,31. De uma maneira geral, os dados registrados se enquadram entre os trabalhos realizados, sob condições similares, em outras regiões, particularmente no Sudeste do país, refletindo a boa adaptabilidade desses animais às condições climáticas da região Norte do Estado do Maranhão.

Referências bibliográficas

CBRA-Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal. 2 ed., 49p., 1998.
Fonseca, V.O.; Franco, C.S.; Bergmann, J.A.G et al. Potencial reprodutivo de touros da raça Nelore (*Bos taurus indicus*) acasalados com elevado número de vacas. Arq. Bras. Méd. Vet. Zootec., v.49, p.53-62, 1997.
Vale Filho, V.R.; Bergmann, J.A.G; Andrade, V.J. et al. Caracterização andrológica de touros Nelore selecionados para a primeira estaca de monta, Rev. Bras. Reprod. Anim., v.26, n.2, p.64-67-215, 2002.
Pineda, N.R.; Fonseca, V.O.; Proença, R.V. Potencial reprodutivo de touros Nelore: libido, capacidade de serviço e eficiência em acasalamentos com elevada proporção de vacas, Rev. Bras. Reprod. Anim., v.24, n.1, p.44-51, 2001.
Vale Filho, V.R.; Bergmann, J.A.G; Andrade, V.J. et al. Caracterização andrológica de touros Nelore selecionados para a primeira estaca de monta, Rev. Bras. Reprod. Anim., v.26, n.2, p.64-67-215, 2002.
Salvador, D.F.; Dias, J.C.; Vale Filho, V.R. et al. Perfil andrológico de touros da raça Nelore com três e quatro anos de idade, criados extensivamente em condições do estado do Mato Grosso do Sul, Rev. Bras. Reprod. Anim., v.26, n.2, p.64-7, 2001.

039

Efeito da suplementação oral com vitamina E sobre os parâmetros seminais em touros da raça Brangus (*Effects of oral vitamin E supplementation in the seminal parameters in Brangus bulls*)

E.A Barbosa, L.K Hatamoto-Zervoudakis, M.F. Duarte Júnior, F.A.P.B. Arguello, W.A.S Marinho, B.H. Tsuneda, J.T. Zervoudakis, J.L.O. Santana, A.R. Gozer, J.D. Bortolotto, R.P. Silva

Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária- Universidade Federal de Mato Grosso. E-mail: eleonora_vet@hotmail.com

Introdução

A produção equilibrada de espécies reativas ao oxigênio e de enzimas antioxidantes esta relacionada as funções espermáticas fisiológicas. Todavia, a produção excessiva destes metabolitos reduz a motilidade e a viabilidade dos espermatozoides, por aumentar os defeitos dos espermatozoides e iniciar uma reação em cadeia de oxidação de proteínas, lipídeos e DNA (Xavier et al., 2008). A vitamina E é um antioxidante e elimina os peróxidos livres formados durante

processos de oxidação, os quais podem diminuir a permeabilidade e elasticidade das membranas citoplasmáticas. O objetivo deste trabalho foi o de avaliar se a suplementação oral com vitamina E altera os padrões seminais de touros da raça Brangus.

Material e Métodos

Foram utilizados 17 touros em idade reprodutiva e com fertilidade comprovada pelo método de eletroestimulação. Os animais foram distribuídos aleatoriamente em: Grupo controle (GC, e Grupo Tratamento (GT, animais suplementados diariamente com 400UI de vitamina E (α -tocoferol) oralmente, no concentrado durante 60 dias). Cada grupo foi mantido separado em piquetes formados por pastagem de *Panicum maximum* cv. Mombaça e recebendo concentrado diariamente. Durante o período experimental, foram realizadas 4 coletas de sêmen sendo: antes do início da suplementação; com 30 e com 60 dias de suplementação, e 15 dias após o término da suplementação. As variáveis avaliadas foram: motilidade e vigor, integridade da membrana espermática (teste de expansão hiposmótico, HIPO) e viabilidade espermática (EOS). Os dados foram analisados através de ANOVA com $\alpha=10\%$.

Resultados e Discussão

Os valores encontrados para os animais do GC para motilidade, vigor, HIPO e EOS foram respectivamente: 60,83 \pm 3,20; 2,70 \pm 0,09; 26,71 \pm 2,89; 77,12 \pm 2,02; e os valores encontrados para os animais do GT para motilidade, vigor, HIPO e EOS foram respectivamente: 53,41 \pm 4,59; 2,22 \pm 0,16; 26,80 \pm 3,89; 77,69 \pm 2,89. Foi encontrado efeito de tratamento sobre o vigor ($p=0,0183$). Não foram encontradas diferenças ($p>10$) para as variáveis: motilidade, HIPO e EOS. Conclui-se que a suplementação oral com vitamina E 400 UI/dia não influencia a qualidade seminal de touros.

Referências bibliográficas

Xavier, G.C.; Maymone, A. C. M.; Soares, P. C.; Silva Junior, V. A.

Palavras-chave: Vitamina E, suplementação, antioxidante, espermatozoides.

Keywords: Vitamin E, supplementation, antioxidant, spermatozoa.

040

Motilidade *in vitro* do sêmen bovino congelado-descongelado e re-diluído em meio à base de água de coco em pó (ACP-111): resultados preliminares (*In vitro motility of bovine semen freeze-thawing re-diluted in media based on powder coconut water (PCW-111): preliminary results*)

C.C.S. Melo¹, V.P. Machado², E.V. Castro¹, C.C. Campello², C.C.M. Salgueiro¹, J.F. Nunes¹, R.J. Vieira²

¹Universidade Estadual do Ceará; ²Universidade Federal do Piauí. E-mail: cibelescmelo@yahoo.com.br

Introdução

A busca por diluidores eficazes e de baixo custo tem motivado pesquisadores no mundo. Neste contexto foi desenvolvido no Nordeste do Brasil o diluidor para sêmen bovino à base de água de coco em pó (ACP-111). Os diluentes à base de ACP já foram utilizados na conservação do sêmen de caprinos, ovinos (Machado et al., 2006), eqüinos (Sobreira Neto, 2008), peixes (Viveiros et al., 2008) e humanos (Faustino, 2007). Entretanto, o estudo da motilidade espermática de doses de sêmen bovino descongeladas e re-diluídas em ACP-111 ainda não foi relatado. Deste modo, o trabalho objetivou avaliar se a re-diluição do sêmen bovino descongelado em ACP-111 influenciaria na motilidade total após o teste de termo-resistência (TTR).

Material e Métodos

Doses congeladas de sêmen bovino da raça Girolando (n=60) provenientes de seis reprodutores da ABS. Trinta doses foram submetidas ao TTR (38°C/2 h) após a descongelação e as demais foram re-diluídas em ACP-111 na proporção de 1:1 e submetidas ao mesmo procedimento. A motilidade total do sêmen bovino descongelado convencionalmente ou descongelado e re-diluído em ACP -111 foi analisada aos 5, 30, 60, 90 e 120 minutos de incubação do TTR através de sistema CASA (SCA, Microptics S.L.). Os resultados obtidos foram comparados pelo teste do qui-quadrado a 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão

Tabela 1. Motilidade total do sêmen bovino descongelado convencionalmente ou descongelado e re-diluído em ACP-111, submetido ao teste de termo-resistência (TTR) a 38°C durante 2 horas, avaliada por sistema CASA.

	Teste de Termo-resistência (tempos de incubação)				
	5 min	30 min	60 min	90 min	120 min
Descongelamento Convencional	78.90% ^a	70.75% ^a	58.80% ^a	52.70% ^a	39.15% ^a
Re-diluídos ACP-111	75.12% ^a	61.16% ^a	55.94% ^a	46.35% ^a	40.86% ^a

Letras diferentes entre linhas ($P<0,05$)

A motilidade total do sêmen bovino não foi influenciada pela re-diluição em ACP-111.

Referências Bibliográficas

Machado VP, Nunes JF, Araújo AA, Fernández DRP, Cordeiro MA, Medeiros CHN, Medeiros ALN, Monteiro AWU. Fertilidade após inseminações artificiais cervical e laparoscópica utilizando diluidores à base de água de coco. Braz Jour Anim Sci, v.43, p.43-49, 2006.

Sobreira Neto, JÁ. Avaliação *in vitro* do sêmen eqüino diluído em água de coco em pó (ACP-105) e resfriado a 5°C.

Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2008. 70 p. Dissertação de Mestrado. Viveiros, ATM, Maria, NA, Órfão, LH, Carvalho, AM, Nunes, JF. Powder coconut water (ACP[®]) as extender for semen cryopreservation of Brazilian migratory fish species. 8^o ISRPF, Santo Malo, França, 2008, p. 137. Faustino, LR. Sêmen humano criopreservado em meio diluente à base de água de coco em pó (ACP-113). Fortaleza, 2007. 58p. II. Monografia (Curso de Ciências Biológicas) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Ciências Biológicas.

Palavras-chave: bovino, sêmen, diluidores, água de coco em pó, motilidade.

Keywords: bull, semen, extenders, powder coconut water, motility.

041

Avaliação de protocolos para coleta e preservação de espermatozóide epididimário bovino post mortem (*Evaluation of two techniques for collection and preservation of bovine epididymal spermatozoa post mortem*)

M.I.V. Melo, M.F. Brito, A.O. Gontijo, T.T.C. Carvalho

Curso de Medicina Veterinária – PUC Minas Betim. E-mail: bel.melo@terra.com.br

Introdução

A recuperação de espermatozoides do epidídimo é uma importante técnica para obtenção de reserva de germoplasma provenientes de animais com alta importância genética e/ou biológica, que vierem a óbito (ALVAREZ et al., 2006; MATINEZ-PASTOR et al., 2006). O objetivo deste experimento foi estabelecer o melhor método para recuperação de espermatozoides epididimários na espécie bovina, entre retrofluxo e cortes seriados na cauda do epidídimo, comparando estes dois protocolos quanto ao número e a viabilidade espermática

Material e Métodos

Foram trabalhados 16 pares de epidídimos. Os epidídimos já dissecados foram mantidos em sacos plásticos, a 5°C por 24 horas. Destinou-se o epidídimo esquerdo para o protocolo 1 – retrofluxo, e o epidídimo direito para o protocolo 2 – cortes seriados na cauda. Os volumes recuperados em ambos os protocolos sofreram rediluição com o meio Tris-Gema sem glicerol e com glicerol (diluição final de 7% de glicerol). Retiraram-se alíquotas para análise da concentração espermática. As amostras foram submetidas à curva de resfriamento em estufa (-0,10°C/minuto) e mantidas a 5°C por 72 horas, sendo avaliadas a cada 24 horas quanto à motilidade total (MT), motilidade progressiva (MP) e vigor espermático (V). Procedeu-se a análise não paramétrica e comparação entre as médias pelo teste de Mann-Whitney, considerando-se o nível de probabilidade de 5%.

Resultados e Discussão

O método de recuperação dos espermatozoides não teve efeito significativo sobre o total de espermatozoides recuperados, sobre a MT, MP e V. O crioprotetor glicerol teve efeito deletério sobre a MT, MP e V. A avaliação imediata das características físicas de espermatozoides recuperados do epidídimo bovino não deve ser utilizada como parâmetro de seleção de amostras viáveis para o processamento de criopreservação uma vez que ocorre grande variação destas características, inclusive com melhores resultados ao longo do período de armazenamento a 5°C.

Referências bibliográficas

Alvarez, M. I. A.; Arismendi, D. R. B.. Movilidad individual de los espermatozoides epididimários de toros postmortem obtenidos mediante lavado retrógrado. *Zootecnia Tropical*, v. 24, n. 3, p. 267-280, 2006.

Martinez-Pastor, F.; Macias, V.G.; Alvarez, M.; Chamorro, C.; Herraes, P.; Paz, P.; Anel, L. Comparison of two methods for obtaining spermatozoa from the cauda epididymis of Iberian red deer. *Theriogenology*, v.65, p.471-485, 2006.

Palavras-chave: Cortes; retrofluxo; bovino; espermatozóide epididimário.

Keywords: Cuts, flushing, bovine, epididymal sperm.

042

Influência de secreções de células de oviduto cultivadas in vitro sobre a viabilidade espermática em bovinos (*Influence of in vitro cultivated oviduct cells secretion in the bovine sperm viability*)

P.S. Valleriote; A.J.B. Dias; C.S. Paes de Carvalho

Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Laboratório de Melhoramento Genético Animal, Av. Alberto Lamego, 2000- Parque Califórnia, Campos dos Goytacazes/ RJ, Brasil, CEP: 28013-602; Tel.: (22)2739-7285. E-mail: valleriote@yahoo.com.br

Introdução

O microambiente produzido pela secreção das células epiteliais do oviduto tem um efeito direto sobre o processo de motilidade e capacitação espermática, e reação acrossômica, eventos necessários à fertilização. O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da adição de meio de cultura de células de oviduto bovino sobre parâmetros físicos e integridade de membrana plasmática de espermatozoides bovinos.

Material e Métodos

Os ovidutos foram obtidos em matadouros transportados ao laboratório e posteriormente dissecados. As células de oviduto foram cultivadas em meio 199, a 38.5°C, em 5% de CO₂, durante 5 dias. O meio de cultura foi concentrado 10X, em concentrador protéico (AMICON). Posteriormente alíquotado e armazenado a -20°C. O sêmen foi descongelado e

avaliado em relação à motilidade, vigor e integridade de membrana. Em seguida os espermatozoides foram selecionados em gradiente de Percoll. Os espermatozoides foram ressuspensos em meio Talp-sp suplementado com BSA, numa concentração final de 50×10^6 spz/mL e distribuídos em 3 tratamentos: T^{Controle} (Talp-sp); T^{Heparina} (Talp-sp + heparina 10 µg/mL); T^{Oviduto} (Talp-sp + 3,6 µg/mL de meio de cultura de células de oviduto). As amostras foram incubadas por 3h a 38.5°C e 5% de CO₂. As avaliações de motilidade total (MT), motilidade progressiva (MP) e vigor (V) e integridade de membrana plasmática (Teste Hiposmótico) foram realizadas no início do período de incubação (T0) e após 3h.

Resultados e Discussão

No T0 os espermatozoides de T^{Controle}, T^{Heparina} e T^{Oviduto} apresentaram resultados semelhantes de MT (85,0%±11,2; 80,0%±10,4; 86,4%±4,75), MP (65,7±23,1; 58,6±19,3; 69,2±13,7) e vigor (4,0), respectivamente. Após 3h de incubação os espermatozoides de T^{Controle}, T^{Heparina} e T^{Oviduto} mostraram uma redução, em relação ao T0, nos valores médios±DP de MT (65,4%±13,0; 53,0%±18,9; 75,5±20,2), MP (40,9%±21,6; 36,4%±23,9; 48,6%±22,5) e vigor (3,1±0,9; 3,3±0,7; 3,4±0,9), respectivamente. Os resultados do teste hiposmótico das amostras de T^{Controle}, T^{Heparina}, T^{Oviduto} mostraram que em T0 71,9%±15,9; 70,9%±7,9 e 66,7%±20,8 dos espermatozoides apresentaram-se com membranas íntegras ao teste hiposmótico, respectivamente. Após três horas de incubação as amostras de T^{Controle}, T^{Heparina} e T^{Oviduto} apresentam, respectivamente, 64,3%±8,9; 65,1%±14,7; 64,4%±16,3 de células íntegras

Palavras-chave: capacitação, espermatozoides, fertilização, heparina, oviduto.

Keywords: capacitation, sperm, fertility, heparin, oviduto.

Apoio: FAPERJ.

043

Efeito do método de congelamento na viabilidade de sêmen bovino (*Effect of freezing method on bovine semen viability*)

W.F. Vasconcelos Filho¹, R.M.S.C. Costa², M.R.B. Mello¹

¹Departamento de Reprodução e Avaliação Animal, Instituto de Zootecnia, UFRRJ, Seropédica/RJ; ²Ciências Biológicas, Universidade Gama Filho, Rio de Janeiro/RJ.

E-mail: wilson_medvet@hotmail.com

Introdução

Usualmente os técnicos a campo realizam a congelamento de sêmen de maneira manual. Esta técnica tem se mostrado viável, porém, é difícil padronizar as curvas de resfriamento e de congelamento, uma vez que dependem da qualidade do material utilizado (vedação da geladeira, tipo de caixa de isopor, quantidade de gelo, nível de nitrogênio líquido entre outros) (POLGE *et al.*, 1949). Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da criopreservação de sêmen bovino utilizando duas técnicas de congelamento (convencional e automatizada) sobre a motilidade, vigor e resistência térmica dos espermatozoides após a descongelamento.

Material e Métodos

Foram utilizados 3 touros holandeses para coleta de sêmen semanal pelo método da vagina artificial durante 6 semanas. Após a coleta, foram avaliados: volume, turbilhonamento, motilidade, vigor, concentração espermática e determinado o número de doses. Após diluição em meio a base de tris-gema, o sêmen foi envasado em palhetas de 0,5 ml. Em seguida, as palhetas foram submetidas as técnicas de congelamento convencional (uso de geladeira, vapor de nitrogênio e imersão em nitrogênio líquido) e automatizada (aparelho Cryogen®). Após 24 horas as amostras foram descongeladas, reavaliadas e submetidas ao teste de termoresistência rápido (TTR). Os resultados foram analisados pelo teste Kruskal-Wallis (análise de variância não paramétrica) com nível de significância de 5%.

Resultados e Discussão

A motilidade e o vigor médio para o sêmen fresco, congelado na máquina, congelado na geladeira, TTR-máquina e TTR-geladeira foram, respectivamente, 75% e 3,7; 47% e 3; 35% e 2,5; 18% e 1,7; 10% e 1,3. Não foi observada diferença estatística significativa entre as técnicas convencional e automatizada para motilidade e vigor pós-descongelamento e pós-TTR. GONZALEZ (2004) também estudou o efeito das diferentes técnicas sobre os resultados de motilidade e vigor e não encontrou diferenças significativas entre as técnicas, reforçando a idéia de que a utilização da máquina é vantajosa por facilitar e padronizar as curvas de refrigeração/congelamento.

Referências bibliográficas

POLGE, C.; SMITH, A. U.; PARKERS, A. S. Revival of spermatozoa after vitrification and dehydration at low temperatures. *Nature* (London), v.164, p.666, 1949.

GONZALEZ, R. A. F. Efeito da criopreservação usando diferentes técnicas de congelamento e crioprotetores sobre parâmetros espermáticos e a integridade de membranas do espermatozoide bovino. 2004. 92f. Tese (doutorado). Facul. de Méd. Vet. e Zootec., USP, Pirassununga, 2004.

Palavras-chave: congelamento; sêmen; touro; geladeira; máquina de congelamento.

Keywords: freezing; semen; bull; fridge; freezing machine.

044

Efeitos do processo de seleção do sexo por centrifugação em gradiente de densidade nos parâmetros da motilidade de espermatozoides bovinos (*Effects of bovine X-bearing separation by centrifugation in density gradient in the bovine*)

sperm motility parameters)

L.Z. Oliveira^{1,2}, R.P. Arruda³, E.C.C. Celeghini³, A.F.C. Andrade³, A.C. Lucio¹, M.C.V. Miguel¹, A.P. Perini¹, V.F.M. Hossepian de Lima¹

¹FCAV/UNESP Jaboticabal; ²FAMEV/UFU; ³FMVZ/USP. E-mail: leticiazoccolaro@yahoo.com.br

Introdução

Em animais de interesse zootécnico, os benefícios da seleção do sexo somente são efetivamente observados quando não há redução da eficiência reprodutiva. Desta forma tem-se incentivado a investigação da qualidade espermática após a sexagem. O objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos do processo de seleção do sexo por centrifugação em gradiente de densidade de Percoll™ (Hossepian de Lima et al., 2003) nos parâmetros de motilidade dos espermatozoides bovinos criopreservados.

Material e Métodos

Foram utilizadas doses de sêmen de seis touros de diferentes raças, sendo avaliadas quatro partidas de cada touro (n=24). As doses foram descongeladas e avaliadas por análise computadorizada da motilidade do sêmen (CASA) antes (grupo Controle) e após o processo de sexagem por centrifugação em gradiente de Percoll™ (grupo Sexado).

Resultados e Discussão

Pode-se observar na Tabela 1 que o processo de sexagem do presente trabalho promoveu melhora na maioria das características de motilidade espermática. No entanto, no grupo sexado observou-se diminuição das velocidades espermáticas possivelmente por influência do meio denso e/ou pela presença de partículas coloidais no Percoll™, pois o aumento na viscosidade do meio pode reduzir a amplitude do movimento flagelar (Mortimer, 1997). Conclui-se, portanto que a metodologia utilizada foi eficiente em selecionar as células com maior competência para motilidade espermática presentes na amostra.

Tabela 1- Médias ± erros padrão da análise computadorizada da motilidade (CASA) de espermatozoides bovinos descongelados antes (Controle) e após (Sexado) o processo de sexagem por centrifugação em gradiente de Percoll™

Variáveis	Controle	Sexado
Motilidade total (%)	69.9 ± 1.7 a	85.0 ± 1.8 b
Motilidade progressiva (%)	59.2 ± 1.6 a	75.9 ± 1.7 b
Velocidade média da trajetória (µm/s)	107.6±4.8 a	91.3±1.1 b
Velocidade retilínea (µm/s)	91.1± 4.1 a	79.8±0.8 b
Velocidade curvilínea (µm/s)	173.2±8.9 a	137.6±3.5 b
Frequência de batimentos (Hz)	33.1 ± 1.0 a	35.9 ± 0.9 b
Retilinearidade (%)	84.4 ± 0.7 a	87.4± 0.7 b
Linearidade (%)	55.5 ± 1.2 a	61.4 ± 1.4 b
Células com movimento rápido (%)	66.2 ± 1.8 a	82.9 ± 1.8 b

Letras minúsculas diferentes na mesma linha representam diferença significativa (p<0.05).

Referências bibliográficas

Hossepian de Lima, V.F.M.; Moreira-Filho, C.A.; Ramalho, M.F.P.D. Processo de seleção do sexo de espermatozoides mamíferos e métodos de controle de qualidade de doses de sêmen sexado congelado. BR PI 0300604-2, 17 Jun., 2003.
Mortimer, S.T. A critical review of the physiological importance and analysis of sperm movement in mammals. Human Reproduction Update, v.3, p.403-439, 1997.

Palavras-chave: CASA, gradiente de Percoll™, sexagem espermática, qualidade espermática.

Keywords: CASA, Percoll™ density gradient, sexing sperm, sperm quality.

045

Suplementação oral com vitamina E e selênio: integridade da membrana espermática e qualidade do sêmen fresco de touros jovens da raça Brangus (*Oral supplementation with vitamin E and selenium: spermatic membrane integrity and fresh semen quality of young Brangus bulls*)

M.F. Duarte Júnior, L.K. Hatamoto-Zervoudakis, E.A. Barbosa, F.A.P.B. Arguello, W.A.S. Marinho, B.H. Tsuneda, J.T. Zervoudakis, J.L.O. Santana, A.R. Gozer, J.D. Bortolotto, R.P. Silva

Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária- Universidade Federal de Mato Grosso. E-mail: junim_vet@hotmail.com

Introdução

Existe correlação que vitaminas e minerais podem afetar a função reprodutiva, contudo os papéis específicos desses nutrientes em tecidos reprodutivos ainda não estão bem definidos. O trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar se a integridade da membrana espermática e a qualidade do sêmen fresco de touros jovens Brangus são alteradas pela suplementação com vitamina E e selênio.

Material e Métodos

Foram utilizados 17 touros da raça Brangus com idade média de 24 meses e peso vivo médio de 454 kg. Os animais

foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos: grupo controle (GC) e grupo suplementado com vitamina E e selênio (GS, 400 UI de vitamina E/dia + 0,1 mg de selênio/kg de MS ingerida) adicionados ao concentrado. Cada grupo foi mantido separado em piquetes formados por pastagem de *Panicum maximum* cv. Mombaça e recebendo concentrado balanceado diariamente na quantidade de 4,5 kg/animal. A suplementação com vitamina E e selênio foi realizada por 60 dias. Durante o período experimental, foram realizadas 4 coletas de sêmen sendo: antes do início da suplementação; com 30 e com 60 dias de suplementação, e 15 dias após o término da suplementação. O sêmen foi coletado pelo método da eletroejaculação. O experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado com medidas repetidas no tempo.

Resultados e Discussão

Não foi verificado efeito significativo da suplementação com vitamina E e selênio ($p > 0,10$) sobre a consistência testicular, volume do ejaculado, concentração, motilidade, vigor, morfologia, integridade acrossomal e viabilidade espermática. Por outro lado, houve efeito do tratamento sobre a integridade da membrana espermática ($p = 0,0164$). Maior porcentagem de espermatozoides com membrana plasmática íntegra foi observada no grupo suplementado com vitamina E e selênio. A suplementação oral com vitamina E e selênio, nos níveis utilizados e nas condições de manejo do presente experimento, não influenciou os parâmetros de qualidade do sêmen fresco, porém promoveu efeito positivo sobre a integridade funcional da membrana espermática de touros jovens da raça Brangus.

Referências bibliográficas

SAS. The Statistical Analyze Systems for Windows V8. Cary, 1999-2001

Palavras-chave: antioxidantes, espermatozoide, estresse oxidativo.

Keywords: antioxidants, spermatozoa, oxidative stress.

046

Efeito da adição de heparina sobre a integridade do acrossomo do sêmen congelado de touros (*The effect of heparin addition on the integrity of frozen/thawed bovine spermatozoa acrosome*)

M.Y.M. Shiroma¹, B.R. Bertozzo¹, P.R.R. Scaldelai¹, E.V. Costa e Silva², C.E.S.N. Zúccari³

¹ PIBIC; ^{2,3} DMV / DZO - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia / FAMEZ / UFMS. E-mail: zuccari@nin.ufms.br

Introdução

In vitro a heparina remove as proteínas do plasma seminal bovino, inibidoras da capacitação, adsorvidas à membrana plasmática. A ligação da heparina ao espermatozoide bovino induz mudanças no ambiente intracelular estimulando a elevação do cálcio, pH e concentração de cAMP. O aumento do cálcio intracitoplasmático está associado com a capacitação e a reação acrossomal (Cormier e Bailey, 2003). O trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da incubação com heparina sobre a integridade do acrossomo do espermatozoide bovino criopreservado.

Material e Métodos

Doses de sêmen congelado de 10 touros foram submetidas à lavagem em solução salina a 0,9% (*wash*) e centrifugadas durante 5 minutos. Após a ressuspensão do *pellet* a amostra foi fracionada e submetida a dois tratamentos: (G1) diluição em meio Talp-sp (Parrish et al., 1988); (G2) diluição em Talp-sp acrescido de heparina (10 µg/mL), sendo então incubados a 37°C por 5 horas. Aliquotas de sêmen foram submetidas às análises de motilidade/vigor, integridade da membrana plasmática (eosina/nigrosina-EN) e *status* acrossomal (*trypan blue*/Giemsa-TBG) nos momentos: pós-descongelação (PD), pós-*wash* (PW) e pós-incubação (PI).

Resultados e Discussão

A capacitação espermática foi indiretamente avaliada pela ocorrência da reação verdadeira do acrossomo. Não houve efeito do tratamento sobre esta variável ($1,65 \pm 0,5$; $p < 0,05$) embora o tempo de incubação adotado de 5 horas, tenha sido superior ao mínimo recomendado de 4 horas (Parrish et al., 1989; Parrish et al., 1988). É provável que a baixa ocorrência de reação do acrossomo verdadeira se deva a não utilização de um agente indutor, como a lisofosfatidilcolina, geralmente empregada para se avaliar o *status* da capacitação (Parrish et al., 1988; Cormier e Bailey, 2003).

Referências bibliográficas

Cormier, N.; Bailey, J. A differential mechanism is involved during heparin and cryopreservation-induced capacitation of bovine spermatozoa. Biol. Reprod., v.69, p.177-185, 2003.

Parrish, J.J., Susko-Parrish, J., Winer, M.A. et al. Capacitation of bovine sperm by heparin. Biol. Reprod., v.38, p.1171-1180, 1988.

Parrish, J.J., Susko-Parrish, J.L., First, N.L. Capacitation of bovine sperm by heparin: inhibitory effect of glucose and role of intracellular pH. Biol. Reprod., v.41, p.683-699, 1989.

Palavras-chave: Bovino, capacitação, espermatozoide.

Keywords: Bovine, capacitation, spermatozoa.

047

Relação de diferentes osmolaridades de soluções hiposmóticas e tempo de incubação no teste hiposmótico com a congelabilidade de sêmen de touros da raça Nelore (*Relationship between different osmolarities and incubation times*)

in hiposmotic test with semen freezability of Nelore bulls)

L.F. Martins¹, R.O. Pinho¹, R.M. Paraizo¹, R.R. Oliveira², J.D. Guimarães¹, E.F. Castilho¹, J.G.S. Neves¹, P.T. Silva¹

Departamento de medicina veterinária da Universidade Federal de Viçosa¹; Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa². E-mail: leonardofmpr@yahoo.com.br

Introdução

A integridade funcional da membrana plasmática medida pelo teste hiposmótico é uma importante ferramenta para prever a capacidade de fertilização do sêmen bovino *in natura* e congelado/descongelado. Mas ainda não se entende completamente os resultados obtidos e não existe uma padronização da técnica para sêmen de touros zebuínos. O objetivo deste trabalho foi estudar diferentes osmolaridades e tempos de incubação ao se realizar o teste hiposmótico e suas relações com a congelabilidade do sêmen de touros zebuínos.

Material e Métodos

Foram utilizados 30 ejaculados de 6 touros adultos da raça Nelore. No sêmen *in natura* foi feita avaliação física e morfológica, a coloração supravital e o teste hiposmótico. Para o teste hiposmótico foram utilizadas soluções de citrato de sódio e frutose com osmolaridades de 60, 100, 150mOsm/kg e água destilada com 15, 30 e 60 minutos de período de incubação a 37°C. Após a criopreservação, as amostras foram descongeladas e foram realizados os testes hiposmótico, coloração supravital, teste de termo-resistência lento e a coloração fluorescente.

Resultados e Discussão

Os valores médios e desvios padrões do percentual de espermatozoides reativos em sêmen *in natura* e congelado/descongelado foram 60,3±21,6 e 30,8±11,8, respectivamente. Não foram detectadas interações entre os tempos e as osmolaridades (P>0,05), apenas a água destilada apresentou diferença em relação aos valores médios obtidos no teste hiposmótico realizado no sêmen *in natura* (P<0,05). Não foram detectadas diferenças para os valores médios de espermatozoides reativos incubados nas diferentes soluções com diferentes osmolaridades para o sêmen congelado/descongelado no percentual de espermatozoides reativos no teste hiposmótico (P>0,05). Não se detectou diferenças entre os tempos de incubação tanto no sêmen *in natura* e congelado/descongelado (P>0,05). O teste hiposmótico se correlacionou com as principais características de qualidade seminal e os valores obtidos nos testes complementares (P<0,05). Conclui-se que o teste hiposmótico pode ser realizado com 15 minutos de incubação e com uma solução que varie a osmolaridade de 60 a 150 mOsm/kg tanto em sêmen *in natura* como em congelado/descongelado, e que o teste hiposmótico é uma ferramenta complementar que pode ser utilizada na avaliação do sêmen *in natura* e criopreservado.

Referências bibliográficas

Bacinoglu, S.; Tas, M.; Cirit, U.; Ozdas, O., B. The potential fertility estimation capacity of the hypoosmotic swelling test, the thermal stress test and a modified cervical mucus penetration test in the bovine. *Animal Reproduction Science*, v. 104, p. 38-46, 2008.

Colégio Brasileiro de Reprodução Animal - CBRA. Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal. 2.ed. Belo Horizonte, 1998. 49 p.

Harrison, R.,A.; Vickers, S., E. Use of fluorescent probes to assess membrane integrity in mammalian spermatozoa. *Journal of Reproduction and Fertility*, v.88, p.343-52, 1990.

Palavras-chave: *Bos indicus*, criopreservação, macho, testes complementares.

Keywords: *Bos indicus*, cryopreservation, male, complementary tests.

048

Efeitos de equipamentos e diluidores na congelação rápida do sêmen bovino (*Effects of the equipments and dilutors in the fast freezing of the bovine semen*)

R.V. Duarte¹, I. P. Santos², J. Almeida¹, F.R.C. Nogueira¹, O.A. Resende¹

¹Centro Universitário de Barra Mansa-UBM, BM, RJ, ²Universidade do Norte Fluminense - UENF, Campos, RJ. E-mail: oaresende@uol.com.br

Introdução

Existem muitas técnicas para o processamento de sêmen nas diversas espécies. O método mais indicado de congelamento para o sêmen bovino é o congelamento rápido. A execução deste método tem algumas variações, como a composição dos diluidores e as diferentes apresentações de caixa de isopor (MIES FILHO, 1982). O objetivo foi avaliar os sistemas de congelação de sêmen bovino usando caixas de isopor com e sem forro metálico, em rampas fixas e flutuantes, nos diluidores lactose-gema e tris-gema.

Material e Métodos

No período de agosto a outubro de 2007 foram feitos 3 procedimentos de congelação de sêmen de um touro da raça Guzerá, usando 4 equipamentos: a) caixa sem forro metálico e rampa fixa; b) caixa com forro metálico e rampa móvel; c) caixa com forro metálico e rampa fixa e d) caixa sem forro metálico e rampa móvel, e 2 diluidores (tris e lactose) na congelação rápida do sêmen bovino, avaliando a motilidade, o vigor no congelamento e descongelamento pelos testes de Termo-resistência (TTR) e hiposmótico (HOST).

Resultados e Discussão

Os resultados médios de motilidade de 44 ± 2 , 38 ± 4 , 42 ± 1 e $42\pm 1\%$, respectivamente para os tratamentos a) caixa sem forro metálico e rampa fixa, b) caixa com forro metálico e rampa móvel, c) caixa com forro metálico e rampa fixa e d) caixa sem forro metálico e rampa móvel, não apresentaram significância estatística ($P>0,05$). As médias de vigor variaram de 2,8 a 3,8 para os quatro tratamentos, não sendo significativas as diferenças. Quanto à avaliação dos diluidores tris e lactose, também não houve diferenças significativas sobre as médias de motilidade (41 ± 1 e $38\pm 7\%$), vigor (3 ± 1 e 4 ± 1) pós-descongelamento, bem como nas médias de motilidade TTR (16 ± 1 e $19\pm 1\%$) e no HOST (39 ± 1 e $30\pm 9\%$). Estes resultados estão de acordo com os padrões adotados pelo CBRA (1998) para o sêmen bovino congelado (30% de motilidade e 3 de vigor), e em concordância com os encontrados por Gonzalez (2004). A opção para a utilização de tipos de caixas, rampas e diluidores estarão na dependência da avaliação dos custos incluídos na aquisição dos diferentes equipamentos.

Referências bibliográficas

Colégio Brasileiro de Reprodução Animal. Manual para Exame Andrológico e Avaliação de Sêmen Animal. 2 ed, n. 21, Belo Horizonte: CBRA, 49p., 1998.

Gonzalez, R. A. F. Efeito da criopreservação usando diferentes técnicas de congelamento e crioprotetores sobre parâmetros espermáticos e a integridade de membranas do espermatozóide bovino. 2004, Universidade de São Paulo – Pirassununga/SP. (Tese de doutorado).

Mies Filho, A. Reprodução dos animais e IA. 5 ed. Porto Alegre, 783p, 1982.

Palavras-chave: Criopreservação do sêmen. Caixas e rampas de congelamento. Diluidores.

Keywords: Sêmen cryopreservation. Boxes and freezing ramps. Dilutors.

049

Qualidade do sêmen de touros do grupo genético Pantaneiro estocado no Banco Brasileiro de Germoplasma Animal (*Semen quality of Pantaneiro bulls stored in the Brazilian Bank of Animal Germoplasm*)

A.F. Ramos¹, N.V. Nascimento¹, A.V.R. Silva^{1,2*}, H.C.A. Teixeira^{1,2**}, A.A. Egito¹, M.S.M. Albuquerque¹, S.R. Paiva¹, S.T.R. Castro¹, A.S. Mariente¹

¹Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia; ²UnB – Universidade de Brasília. E-mail: aleframos@cenargen.embrapa.br

Introdução

A raça Pantaneira, descendente provavelmente de bovinos europeus, é formada por animais de pequeno porte e grande rusticidade. Muitas destas características se devem a adaptação deste grupo genético ao distinto ecossistema do Pantanal, caracterizado por áreas inundadas na maior parte do ano. Esses animais desempenharam papel preponderante na economia desta região e atualmente encontram-se ameaçados de extinção. A Embrapa conduz um programa de conservação desta e de outras raças naturalizadas brasileiras cuja uma das atividades é manter e enriquecer um Banco de sêmen e embriões. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi o de avaliar a qualidade do sêmen congelado armazenado ao longo de 24 anos de coletas, de reprodutores da raça Pantaneira, estocado no Banco Brasileiro de Germoplasma Animal.

Material e Métodos

Uma dose de cada uma das 80 partidas de sêmen, equivalente a 6.650 doses de sêmen congeladas de 13 reprodutores Pantaneiros, foi descongelada em banho-maria a 37°C e avaliada quanto à motilidade progressiva MP (microscopia de luz), vigor (microscopia de luz), morfologia espermática (contraste de fase) e integridade de acrossoma (trypan blue + giemsa).

Resultados e Discussão

Todas 80 partidas foram avaliadas e 31,2% (25/80) foram consideradas excelentes, apresentando $42,0\pm 3,2\%$ de motilidade progressiva (MP), $3,3\pm 0,4$ de vigor, $86,1\pm 6,5\%$ de espermatozóides normais (EN), $4,9\pm 1,7\%$ de defeitos maiores (DMa), $9,0\pm 5,6\%$ de defeitos menores (DMn), $51,6\pm 10,2\%$ de espermatozóides vivos com acrossoma íntegro (EVAI) e $3,7\pm 1,7\%$ de espermatozóides com acrossoma reagido (EAR). Além dessas, $43,8\%$ (35/80) alcançaram os padrões mínimos exigidos pelo CBRA apresentando $32,1\pm 2,5\%$ de MP, $3,0\pm 0,5$ de vigor, $83,1\pm 6,7\%$ de EN, $7,9\pm 3,8\%$ de DMa, $9,0\pm 3,9\%$ de DMn, $54,1\pm 12,8\%$ de EVAI e $4,1\pm 1,8\%$ de EAR. Foram considerados questionáveis 25% (20/80) das partidas, apresentando $17,2\pm 6,8\%$ de MP, $2,4\pm 0,5$ de vigor, $83,6\pm 8,7\%$ de EN, $6,8\pm 4,0\%$ de DMa, $9,6\pm 5,1\%$ de DMn, $37,9\pm 17,6\%$ de EVAI e $4,6\pm 2,6\%$ de EAR. Oitenta por cento do sêmen de reprodutores da raça Pantaneira estocado no BBGA apresentou os critérios mínimos de qualidade para uso em programas de reprodução assistida. Este material genético poderá ser utilizado, por exemplo, tanto em programas de recuperação do efetivo populacional da raça bem como em experimentos de cruzamentos com raças comerciais que visem avaliar características de rusticidade e adaptação ao ambiente em sistemas de produção. Por se tratar de um material genético de valor estratégico, o sêmen considerado questionável continuará estocado no BBGA e poderá ser utilizado associado a outras biotécnicas reprodutivas que permitam a otimização dos resultados.

Palavras-chave: bovino; conservação ex situ; criopreservação; raça naturalizada

Keywords: bovine, cryopreservation; ex situ conservation, local adapted breed

*Bolsista do CNPq - processo n° 552397/2005-9

**Bolsista CAPES/UnB

050

Percentual de espermatozoides rápidos do sêmen bovino congelado-descongelado e re-diluído em água de coco em pó (ACP-111®): resultados preliminares (*Percentage of rapid sperm of bovine semen freeze-thawing re-diluted in powder coconut water (PCW-111®): preliminary results*)

V.P. Machado, C.C.S. Melo, E.V. Castro, C.C. Campello, C.C.M. Salgueiro, J.F. Nunes, R.J. Vieira

Universidade Federal do Piauí (UFPI)/Universidade Estadual do Ceará (UECE). E-mail: v_porto@yahoo.com.br

Introdução

O diluidor água de coco *in natura* foi utilizado na conservação do sêmen caprino (Nunes, 1988), ovino (Machado *et al.*, 2006), bubalino (Valle, 1997). Objetivando estabilizar o produto foi desenvolvido o diluidor água de coco em pó (ACP). A ACP já foi utilizada na conservação do sêmen de caprinos, ovinos, suínos, eqüinos, peixes e humanos. Entretanto, não se sabe se a re-diluição de doses de sêmen bovino descongelado em água de coco em pó (ACP-111) beneficiará o percentual de espermatozoides rápidos *in vitro* após o teste de termo-resistência. O objetivo deste trabalho foi avaliar se a re-diluição do sêmen bovino descongelado em ACP-111 influenciará o percentual de espermatozoides rápidos (PER) após o teste de termo-resistência.

Material e Métodos

Doses de sêmen de bovino congelado Girolando (n=60) obtidas de seis reprodutores da ABS foram descongeladas à 37°C. Um total de 30 doses de sêmen foram submetidas ao teste de termo-resistência (38°C durante 2 horas) após a descongelação e as 30 doses restantes foram re-diluídas em ACP-111 na proporção de 1:1 e posteriormente submetidas ao teste de termo-resistência (TTR). Os percentuais de espermatozoides rápidos (PER) do sêmen bovino descongelado em diluidor da ABS ou em diluidor da ABS re-diluído em ACP -111 foram analisados aos 5, 30, 60, 90 e 120 minutos de incubação do TTR no Computer Assisted Analysis (CASA). Estes percentuais foram comparados pelo teste do qui-quadrado à 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão

Tabela 1. Percentuais de espermatozoides rápidos (PER) avaliado pelo CASA em sêmen bovino congelado/descongelado em diluidor comercial ou descongelado e re-diluído em água de coco em pó (ACP-111) e submetidos ao teste de termo-resistência (TTR) a 38°C durante 2 horas.

Diluidores	Tempos de incubações do teste de termo-resistência				
	5 min	30 min	60 min	90 min	120 min
DC (T1)	46.22% ^a	41.03% ^a	29.36% ^a	21.48% ^a	10.59% ^a
DC + ACP-111(T2)	47.75% ^a	39.71% ^a	37.18% ^a	26.8% ^a	22.46% ^b

DC: diluidor comercial da ABS; **ACP-111:** diluidor água de coco em pó.

^{a,b}: Diferentes letras entre as linhas significa diferença entre os tratamentos. (p<0,05).

A re-diluição em ACP-111 influenciou o percentual de espermatozoides móveis apenas aos 120 minutos de incubação do teste de termo-resistência, o que poderá elevar taxas de fertilidade *in vivo* em programas de inseminação artificial.

Referências bibliográficas

Machado VP, Nunes JF, Araújo AA, Fernández DRP, Cordeiro MA, Medeiros CHN, Medeiros ALN, Monteiro AWU. Fertilidade após inseminações artificiais cervical e laparoscópica utilizando diluidores à base de água de coco. *Brazilian Journal of Animal Science*, v.43, p.43-49, 2006.

Nunes JF. A inseminação artificial em caprinos no Nordeste do Brasil. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.12, p.85 – 91, 1988.

ValleWG. News on Reproduction Biotechnology in Males. In: 5th WORD BUFFALO CONGRESS, Caseria, Italy, v.1, p.103 - 123, 1997.

Palavras-chave: bovino, sêmen, diluidores, água de coco em pó.

Keywords: bull, semen, extenders, powder coconut water.

051

Efeitos do alto índice de gota citoplasmática proximal na FIV (*Effects of high levels of proximal plasmatic droplets on IVF*)

M.B. Koivisto¹, J.T. Carreira¹, G.Z. Mingoti¹, L.H. Rodrigues², S.H.V. Perri¹

¹Universidade Estadual Paulista – UNESP – Araçatuba, ²CRV Lagoa da Serra. E-mail: koivisto@fmva.unesp.br

Introdução

A gota citoplasmática proximal (GCP) consiste na falha da expulsão do excesso de resíduo citoplasmático, resultando na retenção de uma massa na peça intermediária (FISCHER *et al.*, 2003). Sêmen com altas porcentagens de GCP apresenta fertilidade reduzida (NOTHLING *et al.*, 1997). A fertilização *in vitro* (FIV) consiste em uma excelente ferramenta de pesquisa para investigar as características de espermatozoides com morfologia anormal quanto à fecundação e desenvolvimento embrionário (THUNDATHIL, 2001). O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da GCP no sêmen

de bovinos quanto à motilidade, o vigor, no teste de termo-resistência lento (TTL) e verificar a taxa de produção de embriões *in vitro*.

Material e Métodos

Três partidas de sêmen de cinco (Grupo controle com o espermiograma normal) e oito touros *Bos indicus* (Grupo GCP com índice de GCP $\geq 15\%$) foram selecionadas e descongeladas. Foram realizados os seguintes testes: motilidade e vigor pós-descongelação, concentração e morfologia espermática e o TTL. Três touros do grupo controle que apresentaram baixa percentagem de gota citoplasmática proximal na amostra avaliada (C1, C2 e C3) e dois touros do grupo GCP, que apresentaram P1=28,5% e P2=40,5% de GCP, e percentagem de outros defeitos $\leq 20\%$ foram selecionados para FIV. As análises estatísticas foram efetuadas empregando-se o programa Statistical Analysis System. O nível de significância foi de 5%.

Resultados e Discussão

A percentagem de GCP para o grupo controle foi de $0,51 \pm 0,34\%$, no grupo GCP de $24,35 \pm 10,34\%$. Os resultados obtidos demonstraram que altos índices de GCP não afetaram a concentração, a motilidade e o vigor, antes e após o TTL, assim como não interferiram na percentagem de acrossomas intactos. Não houve diferença entre as taxas de clivagem, as taxas de eclosão e sobre as taxas de clivagem que foram semelhantes para C1, C3 e P1 ($17,98 \pm 9,65$; $16,50 \pm 7,91$; $16,05 \pm 11,13$; respectivamente) e para C2 e P2 ($2,53 \pm 3,63$ e $2,68 \pm 3,45$). Os índices de produção de embriões *in vitro* podem ter sido afetados pela interação da alteração morfológica e o efeito individual do touro. Os efeitos da morfologia espermática na fertilização e desenvolvimento embrionário podem ser somados às características individuais dos touros influenciando a resposta à capacitação *in vitro*, taxa de fertilização e conseqüente desenvolvimento embrionário.

Referências bibliográficas

Fischer MA et al., Human sperm DNA integrity: correlation with cytoplasmic droplets. Urol. v.6, p.207-211, 2003.

Nothing JO et al., Semen quality after thawing: correlation with fertility and fresh semen quality in dogs. J. Rep. Fert, v.51, p.109-116, 1997.

Thundathil J et al., The use of *in vitro* fertilization techniques to investigate the fertilizing ability of bovine sperm with proximal cytoplasmic droplets. J. Ani. Repr.Sci, v. 65, p. 181-192, 2001.

Palavras-chave: Bovinos, FIV, Gota citoplasmática proximal.

Keywords: Bovine, IVF, Proximal cytoplasmic droplet.

052

Clonagem e expressão da proteína ácida do fluido seminal bovina recombinante (raSFP) em *Escherichia coli* (Cloning and expression of the recombinant bovine acidic seminal fluid protein (raSFP) in *Escherichia coli*)

I.C. Bustamante-Filho, G.D. Salton, F.M. Munari, E.O. Cirne Lima, M.R. Schneider, R.M. Gregory, J.P. Laurino, R.C. Mattos, M.I.M. Jobim

^aREPROLAB, Faculdade de Veterinária, UFRGS; ^bCentro de Pesquisa, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, UFRGS;

^cGenzentrum, LMU-München, Alemanha; ^dUniversité Pierre et Marie Curie, França. E-mail: ivan.bustamante@ufrgs.br

Introdução

O uso da tecnologia de DNA recombinante abre portas para um estudo detalhado da estrutura e função de proteínas, e sua produção em sistema procarioto apresenta várias vantagens (Lefebvre et al., 2009). O presente trabalho propõe a expressão heteróloga de aSFP, proteína do plasma seminal bovino de 14 KDa relacionada à congelabilidade do sêmen (Jobim et al. 2004).

Material e Métodos

Foram construídas bibliotecas de cDNA de vesícula seminal bovina. Oligonucleotídeos iniciadores foram sintetizados baseados nas seqüências disponíveis no GenBank (número de acesso NM_174616); O amplicon resultante da reação de PCR foi clonado em pET23a(+), a seqüência de DNA quando traduzida irá gerar uma proteína aSFP recombinante com uma cauda carboxi-terminal de polihistidina. O plasmídeo pET:aSFP foi transformado em linhagens eletrocompetentes de *E. coli* BL21, BL21 (DE3), BL21 Star, BL21 Codon Plus e BL21 PLysS. As culturas foram realizadas em meio 2xYT a 37°C. Para expressão da proteína recombinante foram testadas diferentes concentrações de indutor de expressão IPTG (0,1 0,3, 0,5 e 1,0 mM), e diferentes tempos de indução (1, 2 e 3 h). A expressão foi avaliada por SDS-PAGE 12%, usando como controle cultivo não induzido.

Resultados e Perspectivas

Das cinco linhagens transformadas com pET:aSFP, somente BL21 PLysS induzida com 0,5 mM de IPTG apresentou uma banda de aproximadamente 15 KDa, compatível com o tamanho esperado de raSFP fusionada com tag de polihistidina. Para a confirmação da expressão da proteína recombinante será feito um Western-Blotting usando anticorpo anti-His-tag. Confirmada a expressão, a proteína recombinante será purificada dada sua cauda de polihistidina por cromatografia de afinidade.

Referências bibliográficas

Jobim MIM, Oberst ER, Salbego CG, Souza DO, Wald VB, Tramontina F, Mattos RC. Two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis of bovine seminal plasma proteins and their relation with semen freezability. Theriogenology, v. 61, p. 255-266, 2004.

Lefebvre J, Boileau G, Manjunath P. Recombinant expression and affinity purification of a novel epididymal human

sperm-binding protein, BSPH1, Mol Hum Reprod, v.15, p. 105-114, 2009.

Palavras-chave: plasma seminal, proteína, clonagem molecular, DNA recombinante.

Keywords: seminal plasma, proteins, molecular cloning, recombinant DNA.

053

Avaliação *in vitro* do fluxo de calor por microcalorimetria das células espermáticas em presença de indutores da capacitação (heparina e ionóforo de cálcio) (*In vitro evaluation of the flow of heat by microcalorimetry of sperm cells in the presence of inductor capacitation (heparin and calcium ionophore)*)

C.P. Barbosa¹, M.B.D. Ferreira¹, L.A. Teixeira¹, E.C. Mello¹, F.C.T. Mousinho¹, M.A. Lagares², A.B. Vasconcelos¹

¹Instituto de Estudos Avançados em Veterinária “José Caetano Borges”; Universidade de Uberaba ; ²Escola de Veterinária da UFMG. e-mail: andre_belico@yahoo.com.br

Introdução

A capacidade fecundante do espermatozóide bovino tem sido avaliada na rotina através da indução da reação acrossômica, induzida por heparina ou ionóforo de cálcio e avaliadas através de marcadores moleculares específicos, tanto por citometria de fluxo quanto por microscopia de fluorescência (Arruda et al., 2007). A energia liberada pelas células está diretamente relacionada ao metabolismo espermático, podendo o seu valor ser utilizado como controle ideal da taxa de reação e quantificação de células viáveis. O objetivo deste trabalho foi comparar diversas quantidades molares de heparina ou ionóforo de cálcio sobre a taxa de reação acrossômica induzida, através do fluxo de calor liberado pelas células espermáticas.

Material e Métodos

Foram utilizadas duas palhetas de sêmen congelado de 12 touros (n=24). As células foram descongeladas e avaliadas quanto à porcentagem de espermatozoides com integridade de membrana plasmática (CFDA) e acrossômica (Fitc-PNA), funcionalidade da membrana plasmática (HOST), motilidade progressiva e teste de termo-resistência, antes e pós indução da capacitação. Para ensaios de indução da capacitação e calorimétricos foram tituladas diferentes concentrações de heparina (40; 35; 30; 25 e 20mg) e Ionóforo de cálcio (2; 1,5; 1,0; 0,5; e 0,25mM) para 1×10⁶ espermatozoides/mL.

Resultados e Discussão

A análise dos resultados sugere que a heparina atua melhor como agente capacitador do que o ionóforo de cálcio. Neste trabalho, a avaliação da energia liberada em relação à concentração de heparina quando comparada à porcentagem de células reagidas e com membrana acrossômica intacta verifica-se uma alta correlação, sugerindo que a concentração molar de 30mg/mL de heparina para o 1×10⁶ espermatozoides/mL apresenta melhores resultados como agente capacitador. Este trabalho vem reforçar uma linha de pesquisa que avalia e correlaciona aspectos termodinâmicos à fisiologia e bioquímica das células espermáticas.

Referências bibliográficas

Arruda RP, Andrade AFC, Peres KR, Raphael CF, Nascimento J, Celeghini ECC. Biotécnicas aplicadas à avaliação do potencial de fertilidade do sêmen equino Rev Bras Reprod Anim, v.31, n.1, p.8-16, 2007.

Vasconcelos AB, Castanheira OS, Varago FC, Lagares MA, SantoroMM. Determination of optimal glucose concentration for microcalorimetric metabolic evaluation of equine spermatozoa. Brazilian Archives of Biology and Technology (no prelo).

Palavras-chave: Fluxo de calor. Capacitação espermática. Heparina. Cálcio ionóforo.

Keywords: Heat flux. Sperm capacitation. Heparin. Calcium ionophore.

054

Efeito da centrifugação na integridade do acrossomo do sêmen congelado de touros (*Effect of centrifugation on acrosome integrity of bulls frozen semen*)

R.L.P. Arruda¹, C.E.S.N. Zúccari²

¹Médico Veterinário, Mestrando em Ciência Animal, FAMEZ / UFMS; ²Laboratório de Biotecnologia da Reprodução Animal, FAMEZ / UFMS. E-mail: zuccari@nin.ufms.br

Introdução

A centrifugação é um componente comum na manipulação da suspensão espermática, como para a remoção do plasma seminal, passo importante para a criopreservação do sêmen de algumas espécies e para a execução de técnicas laboratoriais. A centrifugação visa recuperar o máximo de células da população inicial com o mínimo efeito adverso sobre a viabilidade dos espermatozoides. O objetivo deste estudo foi avaliar se a centrifugação realizada durante a técnica laboratorial de coloração com *trypan blue*/Giemsa (TBG) tem efeito sobre a integridade acrossomal das células espermáticas.

Material e Métodos

Foram submetidas à avaliação laboratorial amostras de sêmen congelado provenientes de 14 touros da raça Nelore. Para a avaliação do *status* acrossomal utilizou-se a técnica do TBG descrita por Didion *et al.* (1989). As amostras foram analisadas por dois avaliadores nos momentos pós-descongelamento (PD) e pós-*Percoll*[®] (PP), sendo submetidas a três

tratamentos: 1) sem lavar; 2) uma lavagem e; 3) duas lavagens. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC) considerando os efeitos de avaliador, de momento e de tratamento. As médias foram comparadas pelo teste de Kruskal-Wallis, em nível de 5% de significância.

Resultados e Discussão

Houve efeito significativo de avaliador para o número de vivos, mortos e com reação acrossomal falsa. O momento pós-*Percoll*[®] teve efeito sobre o total de espermatozoides vivos, mortos e com reação acrossomal verdadeira. Na técnica do TBG é usada a centrifugação para melhorar a visualização à microscopia de campo claro. Avaliando o efeito da centrifugação, as categorias de vivos e mortos não diferiram já, para as categorias reação acrossomal verdadeira e reação acrossomal falsa valores superiores ($p < 0,05$) foram obtidos após a centrifugação. De fato, Katkov e Mazur (1998) relatam que a força e o tempo de centrifugação induzem a danos estruturais nas membranas plasmática e acrossomal, portanto acredita-se que a diferença observada para a integridade acrossomal possa ser atribuída a força ($\times G$) e tempo de centrifugação. Conclui-se que o procedimento de centrifugação eleva o número de espermatozoides com perda do acrossomo, tanto de células vivas como mortas.

Referências bibliográficas

Didion, BA, Dobrinski, JR, Giles, JR, Graves, CN. Staining procedure to detect viability and the true acrosome reaction in spermatozoa of various species. *Gamete Research*, v.22, p.51-57, 1989.
Katkov, II, Mazur, P. Influence of centrifugation regimes on motility, yield, and cell associations of mouse spermatozoa. *Journal of Andrology*, v.19, n.2, p.232-241, 1998.

Palavras-chave: centrifugação, espermatozoide, reação acrossomal, *trypan blue*/Giemsa.

Keywords: acrosome reaction, centrifugation, spermatozoa, trypan blue/Giemsa .

055

Influência da seleção por gradiente de percoll e da capacitação espermática sobre a compactação da cromatina de espermatozoides bovinos (*Influence of the selection by percoll gradient and sperm capacitation on the chromatin packaging of bovine spermatozoa*)

D.A. Pinto¹, G.S.L. Sampaio¹, I.N. Duarte¹, M.N. Gama¹, B.G. Alves¹, M.E. Beletti²

¹Faculdade de Medicina Veterinária, ²Instituto de Ciências Biomédicas - Universidade Federal de Uberlândia-UFU/Brasil. E-mail: daniel_herlla1@hotmail.com

Introdução

O espermograma é o principal método de diagnóstico de fertilidade do macho utilizado na rotina. No entanto, esta análise pode não ser suficiente, uma vez que não avalia a estrutura interna da célula espermática, como por exemplo, a cromatina (DNA e proteínas específicas). Através da análise de imagens computadorizadas hoje é possível identificar pequenas alterações na cromatina. O objetivo do presente estudo foi verificar como a seleção de espermatozoides por gradiente de Percoll e a capacitação espermática atuam sobre a compactação da cromatina.

Material e Métodos

Foram utilizadas oito amostras de sêmen de touros com fertilidade desconhecida. Foi realizada a seleção por gradiente de Percoll (45%e90%) de onde foi retirada uma gota para se obter dois esfregaços. Placas de cultura celular foram preparadas e colocadas em estufa com 5%de CO₂, a 39°C e máxima umidade por um período de 24h. Após hidrólise com ácido clorídrico, os esfregaços receberam uma gota de azul de toluidina de onde foram obtidas 50 imagens digitais em tons de cinza de cada lâmina. O programa SCILAB selecionou dentre as cabeças de cada esfregaço as seis mais claras e homogêneas considerando-as como valor de referência (cabeças padrões). As diferenças entre os valores das cabeças padrões e a média dos valores dos pixels de cada cabeça foram determinadas e transformadas em porcentagem da média (Dif%) assim como o coeficiente de variação (CV) dos níveis de cinza foram calculados.

Resultados e Discussão

Após o uso do Gradiente de Percoll, os espermatozoides apresentaram cromatina mais compacta e homogênea, fato que se tornou ainda mais evidente após a capacitação. Pode-se afirmar que durante a seleção por gradiente de Percoll, espermatozoides com a cromatina mais homogênea e compactada forma selecionados. No entanto, o mesmo não pode ser afirmado para a capacitação, já que durante esse processo ocorre a abertura de canais de cálcio, que no interior do núcleo competem pelo sítio de ligação do azul de toluidina, levando a uma menor coloração que necessariamente não significa uma maior compactação.

Referências bibliográficas

Beletti, M.E.; Costa, L.F.; Guardieiro, M.M. Morphometric features and chromatin condensation abnormalities evaluated by toluidine blue staining in bull spermatozoa. *Brazilian Journal of Morphological Sciences*, Campinas, v.22, n.2, p.85-90, 2005.

Palavras-chave: Espermatozoide, gradiente de percoll, capacitação, cromatina.

Keywords: Spermatozoon, percoll gradient, capacitation, chromatin.

Agradecimento: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais – FAPEMIG.

0056

Influência da seleção por gradiente de percoll e da capacitação espermática sobre a morfometria da cabeça de espermatozoides bovinos (*Influence of the selection by percoll gradient and sperm capacitation on the head morphometry of bovine spermatozoa*)

G.S.L. Sampaio¹, D.A. Pinto¹, I.N. Duarte¹, B.G. Alves¹, M.N. Gama¹, M.E. Beletti²

¹Faculdade de Medicina Veterinária, ²Instituto de Ciências Biomédicas - Universidade Federal de Uberlândia-UFU, Uberlândia, Brasil. E-mail: sampaioysl@hotmail.com

Introdução

O objetivo do presente estudo foi verificar como a seleção de espermatozoides por gradiente de Percoll e a capacitação espermática “in vitro” atuam na morfometria da cabeça de espermatozoides bovinos.

Material e Métodos

Foram utilizadas oito amostras de sêmen bovino. Antes e após a seleção por gradiente de Percoll (45%e90%) foram feitos esfregaços de todas as amostras. A seguir, as amostras foram capacitadas em meio de fecundação heparinizado, também sendo feitos esfregaços após esta etapa. Os esfregaços foram corados com Azul de Toluidina e deles foram obtidas 50 imagens digitais em tons de cinza de cada um, das quais foram segmentadas 100 cabeças. Estas foram processadas por programas desenvolvidos em ambiente Scilab com objetivo de se avaliar a área, perímetro, largura, comprimento, razão largura:comprimento, elipsidade, fator de forma, simetria lateral, simetria antero-posterior e harmônicas do descritor de Fourier com amplitudes de zero a dois.

Resultados e Discussão

Foi possível notar que a seleção de espermatozoides por gradiente de Percoll melhora a qualidade do sêmen selecionando espermatozoides com cabeças maiores que a média do sêmen “in natura”, porém de tamanho mais constante, tornando a amostra mais homogênea. O Percoll também exclui algumas formas de espermatozoides, diferenciáveis apenas pelas harmônicas de Fourier 1 e 2. Já na capacitação ocorre um pequeno aumento fisiológico da cabeça dos espermatozoides, provavelmente devido a abertura de canais de cálcio, criando um influxo deste íon, carreando moléculas de água para o interior do espermatozoides.

Referências bibliográficas

Beletti, M.E.; Costa, L.F. A systematic approach to multi-species sperm morphometrical characterization. *Analytical and Quantitative Cytology and Histology*, St Louis, v.25, n.2, p.97-107, 2003.

Palavras-chave: Espermatozoide, gradiente de percoll, capacitação, morfometria.

Keywords: Spermatozoon, percoll gradient, capacitation, morphometry.

Agradecimento: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais – FAPEMIG.

057

Effect of extender and equilibration time on integrity of plasma and acrosomal membranes and mitochondrial function of cryopreserved semen from dairy Gyr bulls evaluated by flow cytometry (*Efeito do diluidor e do tempo de equilíbrio na integridade das membranas plasmática e acrossomal e função mitocondrial em sêmen criopreservado de touros Gir leiteiro avaliado por citometria de fluxo*)

T.G. Leite¹, R.P. Arruda², A.F.C. Andrade², V.R. Vale Filho¹, F.G. Zaffalon², L.L. Emerick¹, J.A.M. Martins¹, P.E.M. Gonçalves¹, M.B.D. Ferreira³, V.J. Andrade¹

¹EV-UFMG, Brazil; ²FMVZ, USP, Brazil; ³EPAMIG-Uberaba, Brazil. E-mail: vejoan@gmail.com

Introduction

There are still doubts concerning the effect of equilibration time on integrity of sperm membranes during cryopreservation (Gao et al, 1997). The aim of this study was to evaluate the effect of equilibration time and extender on post-thaw integrity of plasma and acrosomal membranes, and mitochondrial function, of cryopreserved bovine semen evaluated by flow cytometry.

Material and Methods

Semen samples of 12 andrologically normal adult dairy Gyr bulls were collected by electroejaculation, evaluated according to CBRA (1998). Samples were divided in two aliquots and each of them diluted with different extender (Bioxcell® or TRIS) at 34°C, to a concentration of 50 x 10⁶ sperms/mL; thereafter cooled to ambient temperature (25°C), packaged in 0.50-mL straws and transferred to automatized freezing machines (model TK-3000®). The same cooling (0,25°C/min.) and freezing (20°C/min) rates were used for all six treatments (two extenders (BIO and TRIS), and three equilibration times at 5°C: 0h (T0), 2h (T2), and 4h (T4). Later, the semen samples were thawed (37°C/30s) and integrity of plasma and acrosomal membranes, evaluated by association of FITC-PSA and PI fluorescents probes; mitochondrial function (measured by mitochondrial high potential) was evaluated by JC-1, using flow cytometry.

Results and Discussion

Interactions among equilibration times and extenders were registered. The treatments with no equilibration time showed the lowest results (P<0.05) for percent of cells with intact acrosome and plasma membrane (AIMPI), BIOT0 = 6.91±4.57; TRIST0 = 8.75± 3.80; compared to T2 and T4, within each extender. There was no difference (P> 0.05) between T2 and T4, for Bioxcell (BIOT2 = 15.20±8.15; BIOT4 = 18.27±6.24). For TRIS there were differences (P<0.05) among the three times (TRIST0 = 8.75±3.80; TRIST2 = 20.89±6.06; TRIST4 = 26.81±7.58). The extender TRIS showed the highest

results ($P < 0.05$) within 2 and 4h, but there was no difference between extenders within 0h ($P > 0.05$) for AIMPI. There were no interactions or differences ($P > 0.05$) for mitochondrial function. The results indicated that equilibration time is necessary for the integrity of plasma and acrosomal membranes after thawing, and that TRIS (with egg yolk) is recommended when using equilibration time, assuring the integrity of these membranes. The highest percentage of integrity of plasma membranes was recorded for T4 ($P < 0.05$).

Referências bibliográficas

Gao, D.; Mazur, P.; Critser, J.K. Fundamental cryobiology of mammalian spermatozoa. In: KAROW, A.M.; CRITSER, J.K. (Eds.) *Reproduction tissue banking: scientific principles*. San Diego: Academic, 1997. p. 263-328.

CBRA – Colégio Brasileiro de Reprodução Animal. *Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal*. Belo Horizonte, 1998. 49p.

Keywords: Semen, cryopreservation, flow cytometry, fluorescent probes, equilibration time.

Palavras-chave: Sêmen, criopreservação, citometria de fluxo, sondas fluorescentes, tempo de equilíbrio

Grants from CNPq.

058

Efeito do processo de sexagem de sêmen por citometria de fluxo na estabilidade de cromatina de espermatozoides bovinos (*Effect of the sexing sperm by flow cytometry on the chromatin stability of bovine spermatozoa*)

P.H.M. Alves¹, D.A. Pinto¹, G.S.L. Sampaio¹, I.N. Duarte¹, M.N. Gama¹, K.M. Oliveira¹,

E.G. Diniz¹, M.E. Beletti²

¹Faculdade de Medicina Veterinária, ²Instituto de Ciências Biomédicas – Universidade Federal de Uberlândia – UFU/Brasil. E-mail: mazzutti@gmail.com

Introdução

A citometria de fluxo possibilitou a sexagem de espermatozoides bovinos em escala comercial, tornando-se mais uma ferramenta para o avanço da pecuária. Contudo, durante a sexagem os espermatozoides são submetidos a processos químicos e físicos, o que provavelmente poderia desencadear alterações na estabilidade da cromatina espermática. Este trabalho teve como objetivo estudar a estabilidade da cromatina de espermatozoides bovinos em sêmen sexado.

Material e Métodos

Foram usados esfregaços de sêmen de 15 touros. Um esfregaço de sêmen in natura de cada touro foi confeccionado logo após a aprovação do ejaculado para o processo de sexagem e outro esfregaço de sêmen sexado logo após o descongelamento do mesmo ejaculado já sexado. Os esfregaços foram fixados, hidrolisados em HCl 4N e corados com Azul de Toluidina tamponado pH 4,0. Foram obtidas 100 imagens digitais em tons de cinza de cada lâmina, das quais foram segmentadas 100 cabeças. Estas foram processadas por programas desenvolvidos em ambiente Scilab com objetivo de se obter a média e desvio padrão dos valores de pixel dentro de cada cabeça de espermatozoide. Para referencia da coloração normal, foram selecionados por análise visual seis cabeças por esfregaço. Para cada cabeça analisada, a diferença entre a média dos valores das cabeças padrões e da analisada foi transformada em porcentagem (Dif%) e o coeficiente de variação dos valores de pixel foi calculado (CV).

Resultados e Discussão

Os esfregaços in natura apresentaram DIF% de $0,935 \pm 0,25$ e os sexados $1,29 \pm 0,58$ e o CV de $3,25 \pm 0,58$ e $3,76 \pm 1,31$ respectivamente. A diferença estatisticamente significativa entre os dois tipos de sêmen demonstra que o processo de sexagem afeta a compactação da cromatina dos espermatozoides. No entanto, a intensidade de descompactação é semelhante à encontrada na literatura para touros altamente férteis, demonstrando que a cromatina espermática não sofre alterações que afetem a fertilidade.

Referências bibliográficas

Beletti, M.E.; Costa, L.F.; Guardieiro, M.M. Morphometric features and chromatin condensation abnormalities evaluated by toluidine blue staining in bull spermatozoa, *Brazilian Journal of morphological Science*, Campinas, v. 22, n.2, p. 85-90, 2005

Gry B, B.H.; Ian, D.M.; Annette, K.E.; Torben, G.; Preben, C. DNA integrity in sexed bull sperm assessed by neutral Comet assay and sperm chromatin structure assay. *Theriogenology*, Stoneham, v.63, p.1789-1802, 2005

Palavras-chave: Espermatozoides, sexagem de sêmen, cromatina.

Keywords: Spermatozoon, semen sexing, chromatin.

Agradecimento: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais – FAPEMIG.

059

Efeito do diluidor e do tempo de equilíbrio na longevidade do sêmen criopreservado de touros Gir leiteiro avaliada pelo teste de termorresistência (*Effect of extender and equilibration time on sperm longevity of cryopreserved semen from dairy Gyr bull, evaluated by thermoresistance test*)

V.R. Vale Filho¹, T.G. Leite¹, L.L. Emerick¹, A.F.C. Andrade², R.P. Arruda², F.G. Zaffalon²,

J.A.M. Martins¹, P.E.M. Gonçalves¹, F.A. Souza¹, V.J. Andrade¹, M.A. Silva¹

¹ EV-UFMG, Brazil; ² FMVZ, USP, Brazil. E-mail: vejoan@gmail.com

Introdução

Apesar dos avanços na criopreservação do sêmen bovino, persistem dúvidas sobre a função do tempo de equilíbrio na viabilidade espermática [1]. Testes de exaustão espermática têm sido desenvolvidos para se avaliar a habilidade de sobrevivência e manutenção da fertilidade do espermatozóide (sptz) por longos períodos a determinada temperatura [2]. O objetivo desse estudo foi avaliar o efeito do tempo de equilíbrio e do diluidor na longevidade espermática, em sêmen bovino criopreservado, utilizando-se o Teste de Termorresistência (TTR).

Material e Métodos

Amostras de sêmen de 12 touros Gir leiteiro, coletadas por eletroejaculação, foram avaliadas de acordo com CBRA [3]. Cada amostra foi dividida em duas alíquotas, diluídas com diferentes diluidores (Bioxcell ou TRIS) a 34°C (50x10⁶ sptz/mL). O sêmen diluído foi resfriado até 25°C, envasado em palhetas de 0,50 mL e transferidas para máquinas de congelamento automatizado (TK-3000). Utilizaram-se taxas de resfriamento (0,25°C/min.) e congelamento (20°C/min) para todos os seis tratamentos (2 diluidores e 3 tempos de equilíbrio a 5°C- 0h(T0), 2h(T2) e 4h(T4)). Após descongelamento (37°C/30s.) as amostras foram submetidas ao TTR, a 45°C/1h, e a motilidade avaliada por microscopia óptica.

Resultados e Discussão

Motilidade inicial com maiores valores foram registradas para T2 e T4 (P<0,05) em relação ao T0, para ambos diluidores; não foi observada diferença entre os diluidores em T0, porém, em T2 e T4, TRIS apresentou maiores valores. A diferença entre os tempos de equilíbrio se manteve até ao final do teste. Após 30 minutos de TTR, houve diferença entre os diluidores, com sêmen com Bioxcell apresentando maior motilidade (P<0,05) que TRIS, nos T0. Em T2, TRIS foi superior (P<0,05) ao Bioxcell. Não houve diferença entre TRIS e Bioxcell em T4. No entanto, após 60 minutos, observou-se diferença entre os diluidores apenas em T0. Porém em T2 e T4 não se registraram diferenças entre os diluidores. Registrou-se diferença entre os tratamentos com e sem tempo de equilíbrio, para ambos diluidores. Conclui-se que o tempo de equilíbrio é necessário para maior longevidade do sêmen criopreservado. O diluidor TRIS foi superior Bioxcell quando se utilizou o tempo de equilíbrio.

Referências bibliográficas

- 1- Gao, D.; Mazur, P.; Critser, J.K. Fundamental cryobiology of mammalian spermatozoa. In: KAROW, A.M.; CRITSER, J.K. (Eds.) *Reproduction tissue banking: scientific principles*. San Diego: Academic, 1997. p. 263-328.
- 2- Arruda, R.P., Barnabe, V.H., Alencar, M.M., Barnabe, R.C. Evaluation of frozen bull semen. Quick and slow thermoresistance tests: effects on fertility. *Bras. J. Vet. Res. Anim. Sci.* 29, 131–137, 1992.
- 3- CBRA – Colégio Brasileiro de Reprodução Animal. *Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal*. Belo Horizonte, 1998. 49p.

Palavras-chave: Criopreservação, sêmen, tempo de equilíbrio, termorresistência, longevidade.

Keywords: Cryopreservation, semen, equilibration time, thermoresistance, longevity.

Pesquisa financiada pelo CNPQ.

060

Efeito da sexagem de sêmen por citometria de fluxo sobre a morfometria da cabeça de espermatozoides bovinos (*Effect of semen sexing by flow cytometry on the head morphometry of bull spermatozoa*)

J.M.S. Gallo¹, D.A. Pinto², G.S.L. Sampaio², I.N. Duarte², M.N. Gama², K.M. Oliveira², E.G. Diniz², M.E. Beletti¹

¹Instituto de Ciências Biomédicas, ²Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Uberlândia, UFU/Brasil
E-mail: ju_martins@yahoo.com

Introdução

Durante a produção do sêmen sexado criopreservado, as células espermáticas são submetidas a processos físicos e químicos que poderiam causar alterações nos espermatozoides. Este estudo objetivou analisar alterações morfológicas da cabeça de espermatozoides causadas pelo processo de sexagem por citômetro de fluxo.

Material e Métodos

Utilizou-se sêmen de 15 touros dos quais foram obtidos esfregaços de sêmen antes e após sexagem. Os esfregaços foram fixados, hidrolisados e corados com uma gota de azul de toluidina pH 4. Foram obtidas 100 imagens digitais de cada lâmina a partir de microscopia de luz, das quais foram segmentadas 100 cabeças de cada lâmina. Através de programas desenvolvidos em ambiente Scilab determinou-se a largura, comprimento, razão largura/comprimento, área, elipsidade, perímetro, fator de forma, simetria lateral e simetria antero-posterior de todas as cabeças segmentadas.

Resultados e Discussão

Os resultados sugerem que o sêmen sexado não apresenta alterações significativas na forma da cabeça. Existe a possibilidade de que mesmo que alguns espermatozoides sofram alterações morfológicas provocados pela manipulação, estes não apresentarão condições para serem sexados por não se alinharem adequadamente na passagem do citômetro, sendo assim descartados pelo mesmo. Mesmo espermatozoides assimétricos que já existissem no ejaculado antes da sexagem seriam também descartados. Isso justificaria a maior simetria lateral encontrada no sêmen após o processamento.

Referências bibliográficas

Beletti, M.E.; Costa, L.F.; Guardieiro, M.M. Morphometric features and chromatin condensation abnormalities evaluated by toluidine blue staining in bull spermatozoa, *Brazilian Journal of morphological Science*, Campinas, v. 22, n.2, p. 85-90, 2005

Gry B, B.H.; Ian, D.M.; Annette, K.E.; Torben, G.; Preben, C. DNA integrity in sexed bull sperm assessed by neutral Comet assay and sperm chromatin structure assay. *Theriogenology*, Stoneham, v.63, p.1789-1802, 2005

Palavras-chave: Espermatozóides, sexagem de sêmen, morfometria.

Keywords: Spermatozoon, semen sexing, morphometry.

Agradecimento: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais – FAPEMIG.

061

Comparação de dois diluidores de sêmen bovino na fertilização *in vitro* (*Comparison of two bovine semen extenders in the *in vitro* fertilization*)

R.B. Prado, M.B. Koivisto, H. Atique, Netto, M.B. Fernandes, T.N. Lima, J.C. Torres

UNESP-Campus Araçatuba / UNIRP. E-mail: rodolfo.fertvitro@unirp.edu.br

Introdução

O processo de criopreservação afeta a capacidade funcional dos espermatozóides, diminuindo a fertilidade. A diluição do sêmen ajuda na preservação de sua viabilidade, protegendo-os contra o choque térmico. Os diluidores são compostos por substâncias iônicas e não-iônicas, crioprotetores, fonte de energia, enzimas e antibióticos. A gema de ovo é um dos principais crioprotetores utilizados, porém apresenta alguns inconvenientes, como o risco de contaminação por bactérias e difícil padronização. O uso de diluidores livres de proteína animal pode ser uma alternativa para a diluição do sêmen bovino.

Material e Métodos

O ejaculado de quatro touros foi dividido em duas partes iguais, uma delas foi submetida ao diluidor Tris e gema de ovo (A) enquanto a outra, ao diluidor à base de lecitina de soja (Andromed®) (B). Após a diluição o sêmen foi congelado e armazenado em nitrogênio líquido. Uma palheta de cada amostra foi descongelada e utilizada na fecundação *in vitro* (FIV), utilizando-se 25 oócitos provenientes de ovários de matadouro, realizando-se 8 repetições. A maturação, fecundação e cultivo *in vitro* foram realizados em estufa a 38,5°C, com 5% de CO₂ em ar e umidade relativa de 99%. Foram analisadas as taxas de clivagem, taxa de blastocistos e taxa de eclosão.

Resultados e Discussão

A taxa de clivagem para o diluidor A e B foi de 66,58% e 66,75%, respectivamente. A porcentagem média de blastocistos e blastocistos eclodidos para o diluidor A foi de 33,58% ; 76,15% e 33,17% ; 76,76% para o diluidor B, respectivamente. Os valores apresentados demonstram que não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os diluidores analisados. Assim, a lecitina de soja oferece uma alternativa para a congelamento do sêmen bovino a ser utilizado na FIV, diminuindo a possibilidade de contaminação que os diluidores à base de proteína animal proporcionam, facilitando sua exportação.

Referências bibliográficas

Aires, V.A.; Hirsch, K.D.; Schloesser, F.M.; Bogner, K. Schloesser, S.M.; Hirsch, E. *In vitro* and *in vivo* comparison of egg yolk-based and soybean lecithin-based extenders for cryopreservation of bovine semen. *Theriogenology*, v.60, p.269-279, 2003.

Thun, R., Hurtado, M., Janett, F. Comparison of Biociphos-Plus® and TRIS-egg yolk extender for cryopreservation of bull semen. *Theriogenology*, v.57, p.1087-1094, 2002.

Palavras-chave: Sêmen, Gema de ovo, Lecitina de soja, Fecundação *in vitro*.

Keywords: Semen, Egg Yolk, Soybean Lecithin, In vitro Fertilization.

062

Avaliação de diferentes sistemas de refrigeração na viabilidade espermática de sêmen bovino criopreservado (*Assessment of bovine spermatozoa viability using different cooling protocols prior to cryopreservation*)

E.G. Becker, V.S. Truzzi, G.R. Pereira, L.C. Siqueira, C.K. Severo, J.F.C. Oliveira, P.B.D. Gonçalves

Laboratório de Biotecnologia e Reprodução Animal - BioRep, Universidade Federal de Santa Maria, 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil. E-mail: bayard@ufsm.biorep.br

Introdução

A criopreservação de sêmen é uma importante ferramenta para conservação de sêmen bovino, entretanto, a utilização desta técnica danifica as organelas e membranas do espermatozóide, induzindo também mudanças na capacitação espermática e reação acrossomal. Conseqüentemente, a utilização de protocolos de resfriamento visa minimizar esses efeitos deletérios nos espermatozóides. O objetivo deste estudo foi verificar os diferentes tipos de protocolos de resfriamento sobre a qualidade de espermatozóides bovinos pré e pós descongelamento.

Material e Métodos

Sêmen foi coletado de um touro da raça Jersey duas vezes por semana pelo método de vagina artificial, transportado para

o laboratório, onde permaneceu a uma temperatura de 30°C e envasados em palhetas de 0,25ml, utilizando um diluente comercial com concentração final de 25×10^6 espermatozoides/palheta. Motilidade, vigor e morfologia espermática foram analisados de maneira subjetiva após resfriamento e descongelamento. As palhetas foram alocadas em geladeira doméstica a 5°C (método convencional), e dentro de um recipiente de vidro contendo 500ml de água a 25°C o qual foi colocado dentro de outro recipiente plástico com 2L de água a 25°C, onde era colocado o gelo, e submetido aos seguintes tratamentos por 4 horas: A) método convencional (MC); B) 1L de água em cubos de gelo em um recipiente plástico (G); C) 100 ml de água em cubos de gelo a cada 10 minutos até completar 1L (G10); D) 1L de água em cubos de gelo adicionados aos 90 minutos de refrigeração (G90). A distribuição das curvas de resfriamento estão descritas na Figura 1. Após o resfriamento as palhetas foram congeladas em nitrogênio líquido a -196°C e descongeladas em banho maria a 37°C/1min. Uma alíquota de cada amostra foi utilizada para avaliação da viabilidade espermática determinada pela integridade de membrana plasmática, do acrossoma e pelo potencial de mitocôndria através de sondas fluorescentes. As sondas fluorescentes foram utilizadas em uma combinação de 100µg/mL FICT-PSA, 0.5 mg/mL PI, e 153µM JC-1.

Resultados e Discussão

A motilidade e vigor do sêmen resfriado não diferiram entre os tratamentos. No entanto, observou-se um aumento nas alterações de morfologia no tratamento “G” ($P < 0,05$) de membrana plasmática e acrossoma, e uma diminuição do potencial de mitocôndria no tratamento pelo “MC” em comparação com os demais grupos (Figura 2). Com esses resultados, pode ser concluído que os tratamentos “MC” e “G” nas curvas de resfriamento causam maiores danos aos espermatozoides, sem afetar a motilidade e vigor.

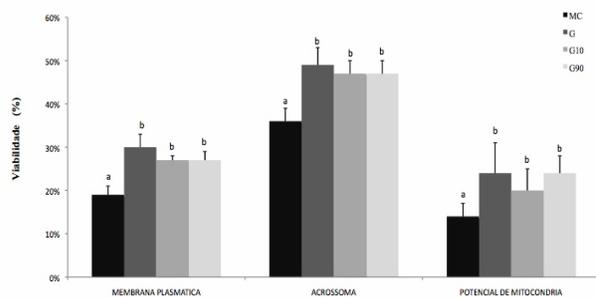


Figura 1. Distribuição das curvas de resfriamento das amostras de sêmen até estabilização de 4 horas.

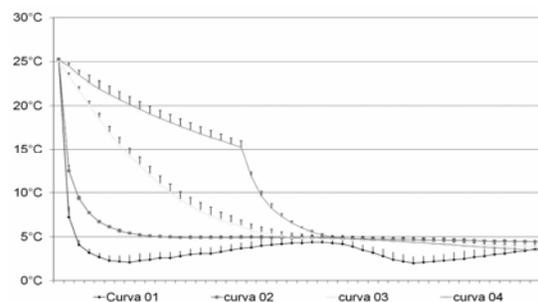


Figura 2. Porcentagem de espermatozoides viáveis durante os diferentes tratamentos. Letras diferentes entre barras ($P < 0,05$).

Palavras-chave: Sêmen bovino, refrigeração, criopreservação, sondas fluorescentes.

Keywords: Bovine semen, cooling, cryopreservation, spermatozoa viability, fluorescent probes.

063

Efeito da adição de albumina sérica bovina sobre a integridade do acrossomo do sêmen congelado de touros (*The effect of bovine serum albumin addition on the integrity of frozen/thawed bovine spermatozoa acrosome*)

B.R. Bertozzo, M.Y.M. Shiroma, P.R.R. Scaldelai, E.V. Costa e Silva, C.E.S.N. Zúccari

FAMEZ – UFMS, Campo Grande, MS, Brasil. E-mail: beatrizbertozzo@gmail.com

Introdução

O útero e o oviduto representam os sítios fisiológicos da capacitação *in vivo* em muitas espécies. No entanto, a capacitação espermática pode ocorrer *in vitro*, através da incubação do sêmen sob uma variedade de condições que mimetizam a composição eletrolítica do fluido do oviduto. Na maioria dos casos os meios contêm substratos energéticos como piruvato, lactato e glicose, uma fonte protéica como a albumina sérica bovina (ASB), bicarbonato de sódio e íons Ca^{+2} (Visconti et al., 1998). O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da adição da albumina sérica bovina, ao meio sp-Talp, sobre a integridade do acrossomo do espermatozóide bovino criopreservado.

Materiais e Métodos

Foram usadas doses de sêmen de dez touros, descongeladas a 37°C/30 segundos e então submetidas à lavagem em solução salina a 0,9% (*wash*), por centrifugação a 700 G, durante 5 minutos. Após a ressuspensão o *pellet* foi fracionado e submetido aos seguintes tratamentos: (Tr 1) diluição em meio Talp-sp acrescido de 5 mg/ml de albumina sérica bovina fração V – livre de ácidos graxos; (Tr 2) diluição em Talp-sp sem albumina, sendo então incubados a 37°C por 5 horas. Alíquotas de sêmen foram submetidas às análises de motilidade/vigor, integridade da membrana plasmática (eosina/nigrosina-EN) e *status* acrossomal (*trypan blue*/Giemsa-TBG) nos momentos: pós-descongelação (PD), pós-*wash* (PW) e pós-incubação (PI).

Resultados e Discussão

A capacitação espermática foi indiretamente avaliada pela ocorrência da reação do acrossomo verdadeira. Observou-se efeito de tratamento para o número de células com reação acrossomal verdadeira (Tr 1 - $2,72 \pm 0,40$; Tr 2 - $1,56 \pm 0,33$;

p<0,05) e, houve interação significativa entre momento da avaliação e tratamento, sendo maior o número de reações verdadeiras na presença de ASB, após 5 horas de incubação. Além da função nutricional a ASB é responsável pela retirada do colesterol da membrana plasmática do espermatozóide, causando alterações na sua fluidez e diminuição da relação colesterol:fosfolípido (Cross, 1998). De acordo com os resultados se conclui que a ASB foi efetiva na indução da capacitação espermática.

Referências Bibliográficas

Cross, N. L. Role of cholesterol in sperm capacitation. *Biol. Reprod.*, v.59, p.7-11, 1998.

Visconti, P.E.; Galantino-Homer, H.; Moore, G.D. et al. The molecular basis of sperm capacitation. *J. Androl.*, v.19, n.2, p.242-248, 1998.

Palavras-chave: bovino, capacitação, espermatozóide.

Keywords: bovine, capacitation, spermatozoa.

064

Viabilidade dos espermatozóides colhidos do epidídimo de touros 24 horas post-mortem (*Viability of epididymal sperm from bulls 24 hours post-mortem*)

J.B. Castro, V.F. Casas, F.F. Souza

Hospital Veterinário, Universidade de Franca, Franca – SP. E-mail: fafesouza@unifran.br

Introdução

O melhoramento genético e as biotecnologias da reprodução têm contribuído para o crescimento do rebanho bovino, assim como o valor econômico dos animais e a qualidade dos subprodutos gerados pela criação. Com a possibilidade real de alterações do trato reprodutivo masculino e da morte inesperada de reprodutores de alto valor genético, o presente estudo teve por objetivo avaliar a viabilidade de espermatozóides colhidos do epidídimo de touros 24 horas *post-mortem*.

Material e métodos

Foram obtidos 30 testículos/epidídimos (15 pares) de um matadouro comercial, os quais foram mantidos a 4°C, durante 24 horas. Após este período, a cauda do epidídimo foi isolada do testículo e seccionada, longitudinal e verticalmente, em 10 mL de meio Botu-turbo® (Biotech, Botucatu, SP). Os fragmentos teciduais foram retirados por filtração. O sêmen foi homogeneizado e uma alíquota foi retirada para análise (motilidade, vigor, concentração e morfologia espermática).

Resultados e discussão

A motilidade média foi de 60,2%, sendo considerada próximo ao normal para espécie (>70%, GONÇALVES et al., 2008). Martins et al. (2007) encontraram de 70% a 80 % de motilidade em espermatozóides de touros, colhidos 7 horas *post mortem*; comparativamente, os resultados do presente estudo foram satisfatórios, pois a colheita do sêmen foi realizada 24 horas *post mortem*. A média da concentração espermática total foi de, aproximadamente, 1,7 x 10⁹ por touro (2 epidídimos). Considerando os valores normais preconizados para a espécie, a concentração espermática do ejaculado do touro (0,4 a 20 x 10⁹ espermatozóides - GONÇALVES et al., 2008) este valor encontra-se dentro da normalidade. Quanto à morfologia obteve-se uma média de 68,9% de normais; o total de anormalidades morfológicas foi de 31,1%, sendo a média de defeitos maiores de 7,6% e menores 23,6%. Apesar da porcentagem de defeitos totais ultrapassar o valor de referência de 30% da somatória dos defeitos maiores e menores (FEITOSA, 2004), a maioria dos defeitos foram gotas distais, resultado já esperado pela origem epididimária do sêmen. Considerando a dose inseminante de 30 milhões, poderiam ser congeladas um total de 1.698 doses de sêmen, sendo a média de 57 doses/epidídimo (114 doses/touro). O uso do sêmen após 24 horas *post mortem* é comprovadamente viável e a significância desse pequeno estoque de células germinativas é evidente considerando que é a última oportunidade de se obter a genética de um reprodutor.

Referências bibliográficas

Feitosa, F.L.F. *Semiologia Veterinária: A Arte do Diagnóstico*. 1ed., São Paulo: Editora Roca, p.424, 2004.

Gonçalves, P.B.D. et al. *Biotécnicas Aplicadas a Reprodução Animal*. 2ed. São Paulo: Editora Roca, 408p., 2008.

Palavras chaves: bovino, sêmen, epidídimo, motilidade.

Keywords: bovine, semen, epididymus, motility

065

Avaliação espermática de touros Nelore infestado com *D. hominis* na bolsa escrotal (*Evaluation of sperm Nelore bulls infested with *D. hominis**)

A. Galvão¹, A. Sanavria¹, J. Almeida¹, I. Pereira², J.A.R. Vilela¹, V.L.T. Jesus¹

¹Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica/RJ; ²Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos de Goytacazes/RJ. E-mail: jesus@ufrj.br

Introdução

A seleção de touros é de um fator importante para o produtor que deseja melhorar seu rebanho pois os touros têm 50,0% de influência sobre a composição genética dos rebanhos. A capacidade reprodutiva dos touros é avaliada com precisão pelo exame andrológico que estabelece a concentração, a motilidade e a morfologia da população espermática no ejaculado (UNANIAN et al., 2000). *D. hominis* promove interferência na função reprodutiva de touros infestados

naturalmente na bolsa escrotal (ALMEIDA et al., 2005). O objetivo do estudo foi avaliar o espermiograma, sobre a influência da infestação experimental de larvas de *D. hominis* na bolsa escrotal de touros da raça Nelore.

Material e Métodos

De 18 touros da raça Nelore comercial sem registro, foram avaliados quanto a produção espermática e classificados quanto ao potencial fertilidade através de exame andrológico (CBRA, 1998). Os animais possuíam em média 36 meses de idade, hígdos, e distribuídos ao acaso no G1: com infestação de larvas L1 de *D. hominis* e G2: controle. O sêmen obtido por eletro-ejaculação foi processado para análise macroscópico e microscópio do ejaculado. Os resultados dos dois grupos foram submetidos a análise do teste de *Student* a 5% de significância.

Resultados e Discussão

Os resultados da avaliação espermática pelos dias de coleta do sêmen estão demonstrados na tabela 1. Considerando que houve a fixação do berne em 4/9 (44,4%) touros do G1, constatou-se, que o perímetro escrotal diferiu entre grupos ($p < 0,05$) e houve decréscimo da concentração e motilidade, sugerindo que uma alta infestação de berne na bolsa escrotal pode desencadear um processo de degeneração testicular.

Tabela 1. Resultados do espermiograma de touros Nelore, após a fixação de *D. hominis* na bolsa escrotal

Dias coletas	PE (cm)		Turb.		Mot. (%)		VE		CE	
	G1	G2	G1	G2	G1	G2	G1	G2	G1	G2
D 0	32,5	30,1	4,0	4,3	94,0	96,4	4	4,1	51,6	77,2
D 35	33,7	32,1	2,0	2,4	73,0	89,3	3,6	4,4	28,8	50,6
D 45	33,4	32,1	1,2	1,6	56,0	80,0	1,8	3,1	31,6	34,0
D 61	32,7	31,1	1,75	2,8	69,0	81,4	2,4	2,7	19,6	52,8
Médias	32,3	31,3	2,2	2,7	73,0	86,7	3	3,5	32,9	53,6

PE: Perímetro Escrotal; Turb: Turbilhonamento; MOT: Motilidade; VE: Vigor Espermático; CE: Concentração Espermática

Referências Bibliográficas

Almeida et al., Lesões parasitárias como causas de descartes reprodutivos em touros de corte, na Região Sul do Estado do Rio de Janeiro. *Rev Bras. Rep. Anim.*, 2005, v. 16, CD-ROOM.

CBRA. *Manual para Exame Andrológico e Avaliação de Sêmen Animal*. 2 ed., n.21, BH, p.49, 1998.

Unanian, M. M. et al. Características biométricas testiculares para avaliação dos touros zebuínos da raça Nelore. *Rev. Bras. Zoot.*, v. 29, n.1, p.136-144, 2000.

Palavras-chave: berne, degeneração testicular, sêmen.

Keywords: berne, testicular degeneration, sêmen

066

Bluetongue virus in bovine semen samples from artificial insemination centers in Brazil (*Vírus da língua azul em amostras de sêmen bovino de centrais de inseminação artificial do Brasil*)

L.L.R. Venditti*, N.T.C. Galleti, A.H.C. Nogueira, L.H. Okuda, E. De Stefano, E.M. Pituco

Laboratório de Vírus de Bovídeos/Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Sanidade Animal/Instituto Biológico.*E-mail address: leandrovenditti@yahoo.com.br

Introduction

Bluetongue virus (BTV) is a non-enveloped, icosahedral virus belonging to the genus *Orbivirus*, one of six genera in the family *Reoviridae*. Brazil has a huge potential for producing and exporting meat, semen, and embryos. However, because of stringent sanitary requirements in international trade, actions that guarantee the confidence of importing partners and safety of commercial relationships must be reinforced. In this sense, studies on the occurrence of the disease in artificial insemination centers will supply information and support sanitary surveillance actions based on periodic monitoring. The objective of this study was to verify the presence of BTV in bovine semen samples obtained from endemically infected artificial insemination centers, using nested RT-PCR.

Material and Methods

Samples of processed semen from 404 bulls (2269 batches) at seven artificial insemination centers located in different states of southeastern Brazil were studied by nested RT-PCR to detect the presence of bluetongue virus. The bulls at these centers have been monitored at six month intervals, for the past 5 years, and this revealed and the bulls have presented a rate that c.70% were reactors to BTV (unpublished data). Sample batches were sent to the *Laboratório de Vírus de Bovídeos (LVB)* for sanitary certification.

Results and Discussion

The *LVB* analyzed 2269 batches of bovine semen using nested RT-PCR. The BTV was detected in a single semen batch showing an amplification product of 520 bp. This positive sample was re-tested twice with identical results, demonstrating the repeatability of the assay. The detection of BTV in a single semen sample indicated that, in bull seroreactors, reinfection with similar serotypes and resulting viremia is uncommon. The rare occurrence of the virus in bovine semen confirms that its elimination is restricted to active viremia, normally coincident with the highest titer of circulating virus,

and is present only in semen contaminated with blood (Afshar and Eaglesome, 1990; Kirkland et al. 2004; Wrathall et al., 2006). This is the first report of the detection of BTV in semen of naturally infected cattle in Brazil. The next step in this study will be the inoculation of this sample into embryonated chicken eggs to isolate the virus.

References

- Afshar, A, Eaglesome, MD. Viruses associated with bovine semen. *Vet. Bull.* 60, 93-109, 1990.
Kirkland, PD, Melville, LF, Hunt, NT, Williams, CF, Davis, RJ. Excretion of bluetongue virus in cattle semen: a feature of laboratory-adapted virus. *Vet. Ital.* 40, 497-501, 2004.
Wrathall, AE, Simmons, HA, Van Soom, A. Evaluation of risks of viral transmission to recipients of bovine embryos arising from fertilization with virus infected semen. *Theriogenology* 65, 247-274, 2006.
Keywords: cattle, semen, artificial insemination centers, nested RT-PCR, *Orbivirus*.
Palavras-chave: bovinos, sêmen, centrais de inseminação artificial, nested RT-PCR, orbivirus.

067

Sobrevivência de *T. foetus* no sêmen bovino criopreservado em duas frações (*Survival of the protozoan Tritrichomonas foetus in cryopreserved bovine semen*)

R.C.G. Pereira¹, M.P. Gomes², J.E. Trés¹, V.L.T. Jesus¹

¹Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica/RJ; ²Universidade Federal Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS

E-mail: jesus@ufrj.br

Introdução

A Tricomonose Genital Bovina é uma doença sexualmente transmissível e infecciosa causada pelo protozoário flagelado *Tritrichomonas foetus* (*T. foetus*), está associada à redução da produtividade dos rebanhos acometidos, ocasionando abortamentos, vaginite, endometrite, piometra, infertilidade, morte embrionária e maceração fetal. A transmissão pela inseminação artificial com sêmen sem controle sanitário, difunde o protozoário, expandindo o número de rebanhos infectados. O objetivo deste trabalho foi avaliar viabilidade de *T. foetus*, em sêmen bovino resfriado e congelado.

Material e Métodos

Para tal foi utilizada a amostra de *T. foetus* RS-04/06, mantida em meio de cultivo Diamond a 35°C ± 2°C. Foram realizadas cinco coletas de sêmen através do método de vagina artificial, procedendo aos protocolos de resfriamento e congelamento em cada um dos três grupos distintos (A – sêmen in natura (controle), B – sêmen + 10⁶ *T. foetus*/mL, C - 10⁶ *T. foetus*/mL) em duas etapas (resfriado e criopreservado), utilizando o diluidor tris-gema-glicerol, seguindo o protocolo de congelamento lento de sêmen (LORTON et al., 1988). Depois procedeu-se o descongelamento para avaliação espermática e a viabilidade do protozoário.

Resultados

O sêmen a fresco, apresentou em média, o volume de 4,0 mL, turbilhonamento 3, motilidade 83,0%, vigor 4, concentração de 941 x 10⁶ espermatozoides/mL e aspecto leitoso. O grupo A e B, resfriado e criopreservado, obtiveram, em média, vigor 3 e motilidade de 61,0% e 42,7%, e, 54,0% e 37,4%, respectivamente, houve uma perda de motilidade do sêmen, mas sem significância (p > 0,05). Quanto a viabilidade do protozoário dos grupos B e C, inoculados no meio Diamond, obtiveram, em média de 4,75 e 8,6 dias de sobrevivência, respectivamente. Conclui-se que o *T. foetus* resiste ao processo de resfriamento e criopreservação do sêmen constituindo um fator de risco para transmissão do protozoário, ressaltando a importância do controle sanitário dos touros destinados à coleta de sêmen no campo e em Centrais de Inseminação Artificial, como afirmam Rae & Crews (2006).

Referências bibliográficas

- Lorton, S.P. et al. A New Antibiotic Combination for Frozen Bovine Semen. Evaluation of Seminal Quality. *Theriog.*, v.29, n.3, p.593-607, 1988.
Rae, D.O; Crews, J.E. *Tritrichomonas foetus*. *Vet. Clin. Food Animal*, p. 595-611, 2006.

Palavras-chave: glicerol, congelamento, refrigeração, tricomonose.

Keywords: glycerol, freezing, refrigeration, trichomoniasis

068

Viabilidade de *T. foetus* no sêmen bovino criopreservado em fração única (*Viability of the protozoan Tritrichomonas foetus in cryopreserved bovine semen*)

V.L.T. Jesus¹, R.C.G. Pereira¹, M.P. Gomes², J.E. Trés¹

¹Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica/RJ; ²Universidade Federal Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS

E-mail: jesus@ufrj.br

Introdução

Tricomonose Genital Bovina (TGB) é uma doença sexualmente transmissível causada pelo protozoário *Tritrichomonas foetus* (*T. foetus*), assintomático nos touros e nas fêmeas a infecção persiste por 95 dias, causando perdas embrionárias ou

fetais (Cobo et al., 2007). TGB é prevalente em países onde adotam como rotina a monta natural, assim o controle envolve diagnóstico dos touros antes do início da estação de monta e como parte do programa sanitário da inseminação artificial. O objetivo deste trabalho foi avaliar a viabilidade de *T. foetus*, no sêmen bovino congelado pela técnica convencional.

Material e Métodos

Para tal foi utilizada a amostra de *T. foetus* RS-04/06, mantida em meio de cultivo Diamond a $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Foram realizadas cinco coletas de sêmen pela vagina artificial, seguido os protocolos de congelamento convencional em três grupos distintos (A – sêmen *in natura*, B – sêmen + $0,8 \times 10^6$ *T. foetus*/mL, C – $0,8 \times 10^6$ *T. foetus*/mL), utilizou o diluidor tris-gema-glicerol fração única. Após a diluição, realizou-se o envase em palhetas 0,5mL, mantidos em resfriamento por 90 minutos, até atingir a temperatura de 5 a 7°C , sendo levado ao vapor de nitrogênio durante 15 minutos, e posteriormente imerso em nitrogênio líquido, seguindo a técnica de congelamento convencional (Gonzalez, 2004). Descongelou-se as palhetas para avaliação espermática e a viabilidade do protozoário no meio de cultivo.

Resultados e Discussão

O sêmen a fresco apresentou em cinco coletas, os valores médios, do volume de 5,2 mL, turbilhonamento 4, motilidade 87,0%, vigor 4 e concentração de $1.027,5 \times 10^6$ espermatozoides/mL. O grupo A e B criopreservado, apresentaram em média, vigor 3 em ambos e motilidade de 45% e 40% ($p > 0,05$), respectivamente. Quanto a viabilidade do *T. foetus* dos grupos B e C criopreservados, obtiveram em média de 5,9 dias de sobrevivência. Conclui-se que *T. foetus* resiste ao processo de criopreservação pela técnica convencional, ressaltando a importância do controle sanitário de *T. foetus* nas Centrais de Inseminação Artificial.

Referências bibliográficas

Gonzalez, R. A. F. Efeito da criopreservação usando diferentes técnicas de congelamento e crioprotetores sobre parâmetros espermáticos e a integridade de membranas do espermatozoide bovino. Pirassununga. 92f. 2004. Tese (doutorado) - USP. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP. Departamento de Reprodução Animal, 2004.

Cobo et al. Sensitivity and specificity of culture and PCR of smegma samples of bulls experimentally infected with *Tritrichomonas foetus*. Theriogenology, v.68, p. 853–860, 2007.

Palavras-chave: sêmen, criopreservação, refrigeração, bovino, *T. foetus*.

Keywords: semen, cryopreservation, refrigeration, cattle, *T. foetus*.

069

Avaliação do placentomo e frequência da ocorrência de corpo lúteo nos ovários de vacas Nelore (*Placentome evaluation and frequency of occurrence of corpus luteum in the ovaries of Nelore cows*)

E.R. Machado, A.P. Marques Júnior

Dep. de Clínica e Cirurgia Veterinária da Escola de Veterinária da UFMG. E-mail: evandro21@hotmail.com

Introdução

A placenta dos mamíferos da subclasse Eutéria possui estrutura e características funcionais comuns. Entretanto, existem variações na aparência tanto macro quanto microscópica entre as espécies. Nos ruminantes, a placenta é classificada como cotiledonária, baseado em suas características anatômicas. Ela exibe áreas discretas de ligação materno-fetal, os placentomos, formados pela interação do corioalantóide com o endométrio, sendo a parte fetal do placentomo o cotilédone e a parte materna a carúncula. O corpo lúteo é considerado uma glândula endócrina transitória. Sua presença é obrigatória para a manutenção da gestação em bovinos. Estudos têm demonstrado que o ovário bovino, localizado do lado direito é mais funcional quando comparado ao esquerdo, o que sugere maior frequência de corpo lúteo neste ovário. O objetivo deste trabalho foi estudar aspectos macroscópicos do placentomo e avaliar a frequência de ocorrência do corpo lúteo nos ovários esquerdo e direito.

Material e Métodos

Os espécimes de genitais foram obtidos de 52 vacas da raça Nelore, gestantes e saudáveis, abatidas em frigorífico localizado no Triângulo Mineiro. Instantes após o abate dos animais foi realizada, de modo mais asséptico possível, uma incisão no corno uterino gestante, com posterior secção do cordão umbilical e exteriorização do feto. Este foi colocado em decúbito lateral com sua linha dorsal em posição retilínea, sendo a idade gestacional anotada, após aplicação da fórmula recomendada por Richardson (1996). O interior do corno uterino gestante foi exposto e o número de placentomos quantificado, foi coletado o ovário contendo o corpo lúteo e anotado o lado de sua ocorrência.

Resultados e Discussão

O número médio de placentomos encontrados no corno uterino gestante foi de $43,08 \pm 9,37$. Em trabalho realizado por Björkman (1954), foi encontrado número médio de 63 placentomos no corno uterino gestante e 41 no corno não gestante. Em outra pesquisa esse mesmo autor encontrou 52 e 23 placentomos, respectivamente. Estes dados indicam que o número de placentomos que se desenvolvem ao longo da gestação em vacas *Bos taurus taurus* é superior ao encontrado em vacas Nelore. Marques Júnior et al. (1993) descrevem que durante a gestação ocorre a formação de 70 a 120 placentomos, os quais aumentam diversas vezes seu tamanho original, com a estabilização do crescimento se dando entre os dias 180 e 210 da gestação. O corpo lúteo foi encontrado no ovário direito em 61,54% dos casos e no ovário esquerdo em 38,46%. Esta diferença a favor da ovulação no ovário direito, assemelhando-se aos achados de Viana et al. (1999), sugere a maior frequência de gestação no corno uterino direito e de corpo lúteo no ovário ipsilateral, o que poderia sinalizar uma maior funcionalidade desse ovário. Todas as gestações apresentaram-se localizadas no corno uterino ipsilateral ao ovário

contendo o corpo lúteo.

Referências bibliográficas

- Björkman, N. Morphological and histochemical studies on the bovine placenta. *Acta Anatomica Supplementum.*, v.22, n.2, p.1-91, 1954.
- Marques Júnior, A.P.; Barreto Filho, J.B.; Saturnino, H.M. Aspectos morfométricos da placenta de vacas zebu (*Bos taurus indicus*). *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, Belo Horizonte, v. 45, n. 2, p. 213-219, 1993.
- Richardson, C. Personal communication. In: Arthur, G.H.; Parkinson, T.J. Eds. *The development of the conceptus. Veterinary reproduction and obstetrics*, 7 ed. London: WB Saunders Company Ltda. p.51-62, 1996.
- Viana, J.H.M.; Ferreira, A.M.; Sa, W.F.; Camargo, L.S.A. Características morfológicas e funcionais do corpo lúteo durante o ciclo estral em vacas da raça Gir. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. v.51, n.3, p.251-256, 1999.

Palavras-chave: vaca Nelore, ovário, placentomo.

Keywords: Nelore cow, ovary, placentome.

070

Avaliação da eficiência da detecção do estro puberal em novilhas pela dosagem de progesterona plasmática (*Evaluation of estrous detection efficiency in pubertal heifers by plasma progesterone measurement*)

E.D. Souza^{1,2}, P.H.A. Campos Jr², E.L. Vargas², C.M. Assunção², A.P. Oliveira^{2,3}, M.A. Machado², C. Freitas², M.R. Luz¹, J.H.M. Viana²

¹PPGBiotec – UFES; ²Embrapa Gado de Leite; ³Epamig. E-mail: elizadds@gmail.com.

Introdução

Em rebanhos que utilizam a inseminação artificial, a observação de estros é um dos fatores limitantes para a eficiência reprodutiva. Falhas na observação de estros têm sido relatadas, particularmente em animais entrando em puberdade e reiniciando a atividade ovariana após o parto (Appleyard & Cook, 1976). Objetivou-se com o presente estudo analisar a eficiência da observação do estro puberal em novilhas, utilizando-se como parâmetro de validação a concentração plasmática de progesterona (P4).

Material e Métodos

Foram utilizadas 150 novilhas F₂, provenientes de cruzamentos entre animais F₁ (½ Holandês: ½ Gir), mantidas em condições semelhantes de alimentação e manejo. A observação do estro foi realizada duas vezes ao dia, por um período mínimo de 30 min. As amostras de sangue foram coletadas semanalmente, a partir do momento em que os animais atingiram 250 kg. As análises da P4 foram feitas por radioimunoensaio utilizando-se kits comerciais (Coat-a-Count, DPC Medlab). Foi utilizado como parâmetro para caracterização do início da atividade luteal uma concentração de P4 superior a 1,0 ng/mL. A eficiência da observação visual foi determinada pela coerência com os resultados da P4.

Resultados e Discussão

A eficiência na detecção do primeiro estro em novilhas foi de 45,33% (68/150), sendo que 40,67% dos animais ciclaram antes do primeiro cio observado, e 14,00% depois. Das 61 novilhas que apresentaram concentrações de P4 elevadas antes do primeiro estro observado, 33 (54,10%) estavam no segundo ciclo, e as demais 28 (45,90%) já haviam apresentado mais de dois ciclos completos antes da detecção. No primeiro caso, é possível que parte das falhas seja devido à ausência de estimulação prévia pela P4 (Yoshida & Nakao, 2005). Apesar da idade média à puberdade determinada pela observação visual ou pela dosagem de P4 não apresentarem diferenças (1095,73±16,57 vs. 1085,14±15,65 dias, respectivamente, P>0,05), a diferença absoluta (considerando-se os desvios para ambos os lados, ou seja, cio real antes ou depois do observado) foi de 25,42±5,12 dias. Os resultados demonstram a importância das falhas na observação de estro em novilhas púberes.

Referências bibliográficas

- Appleyard WT, Cook B. The detection of oestrus in dairy cattle. *Vet Rec*, 99, p.253–256, 1976.
- Yoshida C, Nakao T. Some characteristics of primary and secondary oestrous signs in high-producing dairy cows. *Reprod Domest Anim*, v.40, p.150–155, 2005.

Palavras-chave: Observação de estro, progesterona, bovinos.

Keywords: Bovine, estrous detection, progesterone.

071

Avaliação do intervalo entre parto e 1º cio em vacas mestiças no município de Irituia, Nordeste do Estado do Pará (*Evaluation of the interval between calving and 1st estrus in cows in the city of Irituia, northeastern state of Pará*)

A.R. Simões¹, C.C. Barbas¹, K.B. Nunes¹, H.F.L. Ribeiro, S.T. Rolim Filho¹, B.L.F. Rodrigues²

¹Alunos de pós-graduação em Ciência Animal da UFPA, ² Aluno de pós-graduação da UFV. E-mail: ar_reale@hotmail.com

Introdução

A pecuária leiteira no estado do Pará baseia-se no modelo extrativista, sem incrementos técnicos e genéticos e baixa

produtividade. Sendo o retorno da atividade ovariana pós-parto um dos pontos críticos da eficiência reprodutiva do rebanho. O objetivo deste trabalho foi avaliar qual a influência dos grupos genéticos no retorno da atividade ovariana pós-parto, através do intervalo do parto ao primeiro cio, e se o mesmo sofre influência das estações menos chuvosa e chuvosa.

Material e Métodos

Foram estudadas 174 vacas mestiças, idade entre 32 a 234 meses no período de abril 2007 a abril de 2008, em três fazendas localizadas no município de Irituia, as vacas eram, ordenhadas uma vez ao dia com bezerro ao pé, alimentadas em pastos de *Brachiaria brizanta* e *Brachiaria humidicula* com suplementação mineral o ano todo, o clima da região é tropical úmido com temperatura entre 17° a 38°C. Foram analisados o intervalo do parto ao primeiro cio pós-parto e a influência dos grupos genéticos (Guzerá; Guzerá x Holandesa; Guzerá x Pardo Suíço e Girolando) e a variável estação do ano. Análise estatísticas para as variáveis descritas foi utilizado o teste de Qui-quadrado com nível de significância de 5% ($P < 0,05$).

Resultados e Discussão

O intervalo do primeiro cio pós-parto, encontrado foi $82,35 \pm 44,97$ dias. A menor média ($70,57 \pm 63,01$) de intervalo ao primeiro cio pós-parto foi no grau de sangue (Guz x P.Suíça). Seguida pelo (Guz x Hol), (Girolando) e (Guzerá) com ($73,5 \pm 43,19$), ($83,57 \pm 48,57$), ($101,76 \pm 25,13$) respectivamente. Os grupos genéticos (Guz x P.Suíça) e (Guz x Hol) apresentaram menores intervalos ($P < 0,05$) comparados ao grupo (Guzerá). Com relação a estação do ano, o intervalo do primeiro cio pós-parto, encontrado foi $81,26 \pm 39,7$ dias na estação mais chuvosa e de $105,41 \pm 64,3$ para a menos chuvosa, sendo diferente significativamente ($P < 0,05$). Os dados para mestiços europeus estão de acordo com os de Silva et al., (1992) que citaram de 70 a 90 dias. Já Santos; Fraga (2007) citaram maiores intervalos de 129 dias para raça mestiças holandesas e de 109 dias para vacas holandesas. Silva et al., (2006) citam que a estação do ano influencia na eficiência reprodutiva.

Referências bibliográficas

Santos, R. M.; Fraga, M. A. Avaliação da eficiência reprodutiva de três rebanhos leiteiros (2007) disponível em: <http://www.milkpoint.com.br/>. acessado em: 15/12/2009.

Silva, H.M.; Wilcox, C.J.; Thatcher, W.W. et al. Factors affecting days open, gestation length, and calving interval in Florida dairy cattle. *Jour of Dairy Scie*, v.75, p.288-293, 1992.

Silva, M.V.G.B; Cobuci, J.A; Ferreira, W.J; Oliveira P.R.P. Efeitos genéticos e de ambiente em um rebanho do ecótipo Mantiqueira. *Ciênc. agrotec.* vol.30 no.3 Lavras May/June 2006.

Palavras-chave: Intervalo entre parto e 1º cio, vacas mestiças.

Keywords: Interval between calving and 1st estrus, crossbred cows.

072

Efeito da picrotoxina na frequência pulsátil de LH em novilhas da raça Nelore (*LH pulsatile after picrotoxin in pré-pubertal Nelore heifers*)

D. Cardoso¹, G.P. Nogueira²

APTA – Pólo Extremo Oeste, Araçatuba, SP. E-mail: danielcardoso@apta.sp.gov.br

Introdução

A idade a puberdade, raça e composição genética são características importantes que irão influenciar a produtividade. Após o nascimento das bezerras, as concentrações séricas do hormônio luteinizante (LH) diminuem, porém a partir da 10ª semana de vida, estendendo-se até a 22ª semana, observa-se um aumento gradativo, sucedido por um decréscimo na secreção de LH, caracterizando-se uma segunda fase de contenção da atividade gonadal. O objetivo do presente projeto foi estudar a pulsatilidade de LH aos 180 minutos pós-administração de um antagonista gabaérgico (picrotoxina) em novilhas da raça Nelore.

Material e Métodos

Foram utilizadas 10 novilhas da raça Nelore divididas em dois grupos, com cinco animais cada: controle e picrotoxina (inibidor de receptor GABA_A, na dosagem de 0,18 mg/kg, por via intravenosa, com intervalo entre coletas das amostras de plasma de 15 minutos por 10 horas aos 8, 10, 14 e 17 meses de idade. As dosagens hormonais de LH foram quantificadas por radioimunoensaio (sensibilidade: 0,04 ng/mL e CV: 14%), realizadas no laboratório de Endocrinologia Animal, da Unesp de Araçatuba. A pulsatilidade de LH foi identificada como o aumento maior que 2 vezes o coeficiente de variação intra-ensaio. Os dados foram submetidos à análise de variância. As médias foram comparadas pelo teste-T não pareado e pareado (dentro de cada grupo). Para descrição dos resultados, foram empregados as médias e seus respectivos erros padrões (média ± erro padrão da média) dos dados originais.

Resultados e Discussão

A ação da picrotoxina quando comparada ao grupo controle aumentou ($P \leq 0,05$) a frequência de pulsos de secreção de LH, aos 180 min ($0,5 \pm 0,29$ vs $1,40 \pm 0,24$; $1,0 \text{ vs } 1,60$), respectivamente aos 8 e 14 meses de idade e aos 360 min ($1,0$ vs $2,40 \pm 0,24$; $1,33 \pm 0,33$ vs $2,40 \pm 0,24$; $1,50 \pm 0,29$ vs $2,60 \pm 0,24$; $2,0$ vs $2,40 \pm 0,24$), respectivamente aos 8, 10, 14 e 17 meses de idade. O aumento da frequência de pulsos de secreção é um indicador da proximidade da maturidade sexual (Day et al., 1984). A ação gabaérgica sobre a pulsatilidade de LH pode estar associada a outros neurotransmissores como o óxido nítrico e norepinefrina (Zaremba et al., 2003). Com base nos presentes resultados pressupõe-se que a supressão de GnRH através de receptores GABA_A pode ser direta em neurônios produtores de GnRH ou uma supressão indireta na liberação

de LH pela ativação de outros neurotransmissores. Com a maturação sexual e próximo a puberdade (diminuição no número de receptores de estradiol no hipotálamo) pode ser uma sinalização para que receptores gabaérgicos não sejam ativados ou até mesmo a ativação de neurotransmissores que irão antagonizar o efeito gabaérgico, com isso a pulsatilidade da secreção de LH será estimulada. Os dados do presente experimento mostraram que, durante a fase pré-púbere em novilhas da raça Nelore, o GABA atua inibindo a pulsatilidade de LH.

Referências bibliográficas

Day, M. L.; Imakawa, K.; Garcia-winder, M.; Zalesky, D. D.; Schanbacher, B. D.; Kittock, R. J.; Kinder, J. E. Endocrine mechanisms of puberty in heifers: oestradiol negative feedback regulation of luteinizing hormone secretion. *Biology of Reproduction*, v.31, p.332-341, 1984.

Zaremba, D. T.; Mateusiak, K.; Przekop, F. The role of GABAA receptors in the neural systems of the medial preoptic area in the control of GnRH release in ewes during follicular phase. *Animal Reproduction Science*, v. 77, p. 71-83, 2003.

Palavras-chave: Puberdade, Antagonista gabaérgico, Pulsatilidade, Nelore

Keywords: Puberty, gabaergic antagonist, Pulsatile, Nelore

073

Perfil de variação dos escores de condição corporal durante o pós-parto de vacas de corte criadas sob condições extensivas (*Profile of the body condition scores during post-partum in beef cattle in extensive conditions*)

J.C.F. Moraes, C.J.H. Souza

Embrapa Pecuária Sul, CP 242, 96401-970, Bagé, RS. E-mail: ferrugem@cppsul.embrapa.br

Introdução

O balanço energético negativo pós-parto determina baixa fertilidade em vacas de leite pelo aumento da produção de leite no primeiro mês pós-parto e em vacas de corte pela assincronia entre os partos e períodos de abundância natural de forragem (Butler, 2003; Moraes et al., 2007). É interessante a hipótese de que a otimização da fertilidade pós-parto pode ser obtida pelo atendimento de um perfil ideal de variação da condição corporal (CC) durante o pós-parto (Chagas et al., 2007). O objetivo desse ensaio foi o de verificar o perfil de variação em vacas de corte prenhas e não prenhas em dois sistemas extensivos de criação distintos.

Material e Métodos

Foram anotados 703 escores de CC provenientes de 431 vacas de corte, mantidas sob condições extensivas em duas propriedades nos municípios de Jaguarão e Dom Pedrito no Rio Grande do Sul. O sistema de escores empregado foi o de cinco classes e os dados submetidos a análise de regressão, tendo como variável independente o dia pós-parto da avaliação (DPP), os betas foram comparados pelo procedimento de randomização do pacote NCSS 2007.

Resultados e Discussão

A distribuição dos escores de CC foi distinta entre as duas propriedades ($\chi^2=48,318; 2GL; P<0,001$), evidenciando as distintas condições de oferta de alimento e demais componentes do ambiente. No geral a associação entre a CC e o DPP pode ser explicada por uma relação quadrática: $CC=4,08335 - 0,02244 DPP + 0,00013 DPP^2$; $R^2=0,14$. As relações também quadráticas foram distintas nas duas propriedades ($P<0,001$), mas semelhantes quanto a prenhez ($P=0,28$). A mediana do momento de avaliação da CC no pós-parto foi de 72 dias, a partir do qual se observa diferença entre as regressões dos escores de CC sobre o DPP, empregando modelos mais complexos. A baixa associação entre as duas variáveis e as diferenças evidentes entre propriedades evidenciam a dificuldade em assumir um padrão peculiar para a variação da CC durante o pós-parto em vacas amamentando suas crias.

Referências bibliográficas

Butler WR. 2003. Energy balance relationships with follicular development, ovulation and fertility in postpartum dairy cows. *Livestock Production Science*, 83:211-218.

Chagas LM, Bass JJ, Blache D, Burke CR, Kay JK, Lindsay DR, Lucy MC, Martin GB, Meier S, Rhodes FM, Roche JR, Thatcher WW, Webb R. 2007. New perspectives on the roles of nutrition and metabolic priorities in the subfertility of high producing dairy cows. *J Dairy Sci*, 90:4022-4032.

Moraes JCF, Jaume CM, Souza CJH. 2007. Body condition score to predict the postpartum fertility of crossbred beef cows. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 42: 741-746.

Palavras-chave: vacas com cria ao pé, fertilidade pós-parto.

Keywords: suckling cows, post-partum fertility.

074

Uso da IATF na diminuição do intervalo entre partos em rebanhos bovinos na Bacia Leiteira de Teresina – PI (*Use of the IATF for reduction of the bovine calving interval in flocks in the Milk Basin of Teresina – PI*)

H.S. Correia¹, F.J. Moraes Junior², J.A.T. Souza², J.M. Frazão Sobrinho², A. Sousa Junior²

¹Méd. Vet. Autônomo; ²Universidade Federal Piauí. E-mail: helcioscorreia@hotmail.com

Introdução

Nos últimos anos, algumas biotécnicas como a tradicional Inseminação Artificial (IA) e, mais recente a Inseminação

Artificial em Tempo Fixo (IATF), vêm incrementando tanto a pecuária de corte como de leite. O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência dessas biotécnicas na redução do intervalo entre partos de vacas em produção, na Bacia Leiteira de Teresina – PI, no período de 2005 a 2008.

Material e Métodos

O trabalho foi conduzido na Bacia Leiteira de Teresina, região Norte do estado do Piauí. Foram avaliadas 12 fazendas produtoras de leite, no período de 2006 a 2008, através dos registros de informações lançadas no Programa Reiser 8.0 e de Fichas de Controle Zootécnico adotados pelas Fazendas. Os dados foram agrupados em três faixas de Intervalos entre Partos (IP): ≤ 14 , de 14,1 a 16 e > 16 meses, envolvendo três tipos de cobertura: Monta Natural (MN), IA e IATF.

Resultados e Discussão

Nas 12 fazendas analisadas (584 vacas), o IP variou de 12,1 a 20,1 meses, com média de 15,0 meses. Destas, cinco (154 vacas) que utilizavam MN, duas (76 vacas) apresentaram IP entre 14,1 e 16,0 meses e três (78 vacas) IP > 16 meses. Das três fazendas (308 vacas) que adotavam a IA convencional, uma (69 vacas) tinha IP < 14 meses e duas (239 vacas) IP > 16 meses. Já as quatro fazendas que adotavam a IATF (82 vacas), duas (52 vacas) apresentaram IP ≤ 14 meses e duas (30 vacas) IP entre 14,1 e 16 meses. Nenhuma propriedade que adotava a MN atingiu IP ≤ 14 meses, faixa considerada ideal para manter cerca de 80% de vacas em lactação (FERREIRA e TEIXEIRA, 2000). Deficiências no manejo, nutrição e sanidade, por certo contribuem para o aumento do período de serviço (FERREIRA, 1991), refletindo sobre o intervalo entre partos. Com a IA tradicional, uma das três fazendas situou-se na faixa ideal (IP ≤ 14 meses) e duas na faixa crítica (IP > 16 meses). Esta condição negativa pode decorrer da dificuldade em se detectar, com precisão, o início do estro, interferindo, conseqüentemente, no momento ideal para inseminação. Na adoção da IATF, duas das fazendas enquadraram-se na faixa ideal de intervalo entre partos e duas na faixa intermediária (IP de 14,1 a 16 meses). Possivelmente, fatores de manejo, nutrição e sanitário, deficitários, tenham contribuído para resultados negativos, nas três condições de manejo. Conclui-se que, para a técnica de IATF assegurar melhores índices zootécnicos, como o IP, induzindo a ciclicidade e a sincronização dos animais, faz-se necessário uma boa condição nutricional e sanitária, garantindo assim a manutenção de elevado percentual de vacas em lactação no decorrer do ano.

Referências bibliográficas

Ferreira, A. M.; Teixeira, N.M. Estimativas de mudanças na produção de leite com a variação do intervalo de partos em rebanhos bovinos. Rev. Bras. Reprod. Anim. v.24, n.4, p.177-181, 2000.

Ferreira, A.M. Manejo Reprodutivo e sua importância na eficiência da atividade leiteira, Coronel Pacheco - MG, Embrapa - CNPGL, Documento 46, p.47, 1991.

Palavras-chave: bovinos, intervalo de partos, produção.

Keywords: bovine, calving interval, production.

075

Estudo da angioarquitetura venosa dos órgãos genitais de fêmeas bovinas não gestantes (*Study of venous angioarchitecture of the non-pregnant bovine genital organs*)

W.S. Paganini Filho, F.C.Gonçalves, D.R.Nunes, M.M.Gioso, M.C.C. Resck, C.A.C.Fernandes

Universidade José do Rosário Vellano, Setor de Reprodução Animal. E-mail: wandypaganini@hotmail.com

Introdução

Existem pesquisas que fazem referência ao uso de agentes luteolíticos pela via intravulvosubmucosa (IVSM), em doses reduzidas da convencional, com resultados satisfatórios (GIOSO, et al. 2005a). Entretanto, a real via de transporte da droga ao ovário e, por conseguinte, ao corpo lúteo, não é claramente conhecida (GIOSO, et al. 2005b). Deste modo o estudo da angioarquitetura dos órgãos genitais de fêmeas bovinas pode contribuir para o esclarecimento esta questão. Este trabalho objetivou estudar a angioarquitetura venosa dos órgãos genitais de fêmeas bovinas não gestantes “in vitro”, principalmente os ramos existentes na porção caudal da vagina e vulva, e possíveis anastomoses aos vasos cervicais, uterinos e ovarianos, na tentativa de elucidar o real mecanismo de transporte de luteolíticos quando administrados via IVSM.

Material e Métodos

Órgãos genitais de novilhas ou vacas (n= 40), não prenhes e sem doenças aparentes, foram coletados em matadouro localizado no município de Alfenas-MG e transportados para o Centro Anatômico da Faculdade de Medicina Veterinária - Universidade de Alfenas. As peças foram lavadas externamente, na região ventral, e localizou-se um ramo da veia vaginal próximo a região da vulva. Este ramo foi dissecado, canulado e posteriormente injetado com uma solução de soro fisiológico aquecido (100 mL) para completa retirada do sangue. Após tal procedimento, em 10 órgãos genitais foi infundido pelo mesmo ramo, no sentido cranial ao órgão, solução de Látex-Neoprene 650 (50-70mL), para posterior dissecação dos vasos. Adicionalmente, outros 10 órgãos genitais foram submetidos à injeção intravascular de Vinilite (Acetato de Vinil na diluição de 14% peso/volume), corado com azul.. Estes órgãos foram corroídos em ácido clorídrico a 10% para que apenas a angioarquitetura venosa fosse preservada objetivando o estudo das ramificações vasculares. Para conclusão e certificação das anastomoses, foi injetado contraste radiográfico intravascular (Sulfato de Bário – concentração de 80%, volume de 50-70 mL) em outros 20 sistemas genitais bovinos, que foram secados externamente e radiografados para possibilitar assim o estudo das anastomoses venosas existentes entre a região vulvar e vaginal com as regiões da cérvix, útero e ovário.

Resultado e Discussões

Este trabalho demonstrou, em órgãos genitais de fêmeas bovinas não gestantes, a existência de comunicações da drenagem da vulva e vagina com o útero e ovário, via ramos presentes na região vulvar, que desembocam em outros que drenam a vagina, região cervical, corpo do útero e cornos uterinos. Adicionalmente as substâncias injetadas nos vasos da região vulvar encontraram o corno uterino e alcançaram o ovário corroborando com a hipótese que luteolíticos administrados pela IVSM podem se dirigir ao ovário por esta via local, sem atingir a circulação sistêmica.

Referência Bibliográfica

Gioso, M.M.; Costa, E.P.; Fernandes, C.A. C.; Torres, C.A.A.; Carvalho, G.R. Perfil de progesterona e intervalo ao estro de receptoras bovinas sincronizadas com doses reduzidas de cloprostenol. *R. Bras. Zootec.*, v.34, n.4, p.1181-1187, 2005a. Gioso, M.M.; Costa, E.P.; Fernandes, C.A.C; Paula,T.A.R ; Guimarães, J.D. Venous Angioarchitecture of the bovine female genital organ. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.57, n.6, p.715-719, 2005b.

Palavras-chave: Útero, Prostaglandina, Vacas.

Keywords: Uterus, Prostaglandin, Cattle.

076

As atividades de MEK e ERK em folículos ovarianos in vivo são dependentes da fase do ciclo estral em bovinos (*MEK and ERK activities in ovarian follicles in vivo depend on the estrous cycle phase in cattle*)

M.R. Ferreira, P.A. Machado, E.G. Araújo

Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás. E-mail: monicavet_2@hotmail.com

Introdução

A família MAPK, que inclui a MEK1/2 e a ERK1/2, é constituída por enzimas que apresentam a capacidade de fosforilar e ativar fatores de transcrição, sendo responsáveis pela proliferação e diferenciação celular durante o desenvolvimento folicular (Pradeep et al., 2004). O objetivo deste trabalho foi determinar a frequência de expressão da forma ativa (fosforilada) de MEK e ERK1/2 em todos os tipos foliculares ovarianos em diferentes fases do ciclo estral de bovinos.

Material e Métodos

Foram coletados em abatedouros locais úteros e ovários de bovinos e caracterizadas, com base em critérios morfológicos, sete fases do ciclo estral, que foram designadas como grupos experimentais: dias 1-3 (n=2), 4-6 (n=5), 7-9 (n=5), 10-12 (n=3), 13-15 (n=5), 16-18 (n=5) e 19-21 (n=5). Cortes histológicos dos ovários foram submetidos à imunohistoquímica utilizando-se anticorpos específicos para as formas fosforiladas da MEK 1/2 e ERK 1/2.

Resultados e Discussão

Em folículos pré-antrais, as duas enzimas apresentam seus níveis elevados entre os dias 16 a 18 do ciclo estral, momento no qual ocorre luteólise. Folículos primordiais ativados e primários são os tipos foliculares que apresentaram maior frequência de fosforilação para estas duas enzimas, sendo que MEK mostraram maior ativação entre os dias 7 a 9 ($p<0,05$). Em folículos secundários a MEK permaneceu elevada, com exceção dos dias 4-6; porém, a frequência de ERK mostrou-se alta apenas entre os dias 13 a 15 ($p<0,05$), diminuindo posteriormente. Folículos antrais são os tipos foliculares que apresentaram maior variação de frequência de marcação para estas enzimas, existindo diferença ($p<0,0001$) quando comparadas as frequências de MEK e ERK nas diferentes fases do ciclo estral. A MEK apresentou aumento da fosforilação entre os dias 16 a 18 e 19 a 21. Comparando-se os dias 13 a 15 com 16 a 18, percebe-se que os níveis de marcação da MEK e ERK aumentaram na primeira fase, diminuindo posteriormente. Concluiu-se que para cada tipo de folículo existe uma variação específica destas enzimas, e a fase do ciclo estral em que este tipo folicular se encontra também influencia na expressão da MEK/ERK.

Referências bibliográficas

1) Pradeep PK, Menon KMJ. Inhibition of extracellular signal-regulated protein kinase-2 phosphorylation by dihydrotestosterone reduces follicle-stimulating hormone-mediated cyclin d2 messenger ribonucleic acid expression in rat granulosa cells. *Endocrinology*, v.145, p.1786–1793, 2004.

Palavras-chave: MAPK, foliculogênese.

Keywords: MAPK, folliculogenesis.

077

Efeito da semente de girassol nas concentrações plasmáticas de colesterol total, progesterona e taxa de concepção em vacas Nelore (*Effect of sunflower seed in plasma concentrations of total cholesterol, progesterone and conception rate in cows Nelore*)

C.M. Bertan¹, M.S. Peres¹, R.N. Dinardi¹, R. Fonseca¹, F.T.P. Verechia¹, V.C. Cruz¹, G.P. Nogueira², R. Machado³, M. Binelli⁴

¹Faculdade de Zootecnia, UNESP, Dracena, SP, Brasil. ²FOA, UNESP, Araçatuba, SP, Brasil. ³Embrapa Sudeste, São Carlos, SP, Brasil. ⁴FMVZ, USP, São Paulo, SP, Brasil. E-mail: cbertan@dracena.unesp.br

Introdução

A secreção de prostaglandina F2 α (PGF2 α) endometrial, entre os dias 15 e 19 do ciclo estral, período denominado de

“crítico”, determina a luteólise. O fornecimento de compostos ricos em ácido linoléico, como a semente de girassol, reduz a síntese de PGF_{2α}. O colesterol (CO) é o precursor da síntese de progesterona (P₄) nas células esteroidogênicas luteais (1). A adição de gorduras nas dietas promove um aumento das concentrações de CO no plasma, foliculo e corpo lúteo (2). Objetivou-se avaliar em vacas Nelore o efeito da suplementação com semente de girassol nas concentrações plasmáticas de CO total e P₄ no dia da IATF e 22 dias após a IATF, assim como as taxas de concepção aos 30 dias de gestação. A hipótese é que a semente de girassol aumenta as concentrações plasmáticas de CO e P₄, incrementando a taxa de concepção.

Material e Métodos

Vacas Nelore (n=133), pluríparas, entre 40 e 130 dias pós-parto, receberam um dispositivo intravaginal (Cronipres®) e 2mg de Benzoato de Estradiol (Estrogin®), via i.m. (D0). No D8 o dispositivo foi retirado e injetou-se uma injeção de 150µg de D-Cloprostenol (Preloban®) e 400UI de eCG (Folligon®), ambos i.m.. Depois de 24 horas da retirada do implante (D9) administraram-se 1mg de Benzoato de Estradiol (Estrogin®), via i.m. Após 30 horas da última injeção (D10), as vacas foram submetidas à IATF. Após IATF, as fêmeas foram divididas aleatoriamente em dois grupos para receberem 1,7Kg/dia de um suplemento alimentar contendo 40% de farelo de soja (44% PB) e 60% de semente de girassol (Grupo A; n=66) ou 1,7 kg/dia de suplemento igualmente balanceado em energia e proteína, contendo 53% de farelo de soja (44% PB) e 47% de milho, porém não acrescido de semente de girassol (Grupo B; n=67), ambos constituídos de 72% NDT e 24% de PB. O suplemento do Grupo A continha 400g de gordura, sendo 170g de ácido linoléico. As fêmeas foram suplementadas durante 22 dias, após a IATF. Amostras de sangue foram coletadas no dia da IATF (DIATF) e 22 dias após (D22). O CO total foi mensurado pelo método enzimático colorimétrico e a P₄ por radioimunoensaio. O diagnóstico de gestação foi realizado por ultra-sonografia 30 dias após a IATF. Os dados foram analisados por análise de variância empregando-se o programa computacional R versão 2.7. Foi considerado um nível de significância de 5%.

Resultados e Discussão

As concentrações estão representadas pelas médias e erro padrão. As concentrações de CO no DIATF não diferiram entre o Grupo A e B (120, 7103 ± 28,77mg/dL vs. 149,61 ± 58,29, respectivamente; P≥0,05). A concentração de CO no D22 foi maior no Grupo A comparado ao B (150,67 ± 35,08mg/dL vs. 118,47 ± 25,90, respectivamente; P≤0,01). No DIATF a concentração de P₄ não diferiu entre os grupos A e B (0,89 ± 1,00 ng/mL vs. 0,77 ± 0,79 ng/mL, respectivamente; P≥0,05). Foi observada uma tendência da concentração de P₄ no D22 ser maior no Grupo A comparado ao B (5,67 ± 5,29 ng/mL vs. 3,87 ± 3,85 ng/mL, respectivamente; P=0,07). Verificou-se uma maior taxa de concepção no Grupo A quando comparado ao Grupo B (66,7% vs. 46,3%; P=0,02). Conclui-se que a semente de girassol aumenta as concentrações plasmáticas de CO, incrementando a taxa de concepção aos 30 dias de gestação.

Referências bibliográficas

1. Grummer, R. R. et al. Effects of dietary fat on metabolic disorders and reproductive performance of dairy cattle. J anim sci. v. 69, p. 3838-3852. 1991.
2. Hawkins, D. E. et al. An increase in serum lipids increase luteal lipid content and alters the disappearance rate of progesterone in cows. J anim Sci. v. 73, p. 541-545. 1995.
3. Lammoglia, M. A. et al. Effects of dietary fat and season on steroid hormonal profiles before parturition and and hormonal, cholesterol, triglycerides, follicular pattern pattern, and postpartum reproduction in Brahman cows. J Anim Sci. v. 74, p. 2253-2262. 1996.

Palavras-chave: ácido linoléico, mortalidade embrionária, PGF_{2α}, semente de girassol.

Keywords: linoleic acid, embryonic mortality, PF_{2α}, sunflower seed.

078

Avaliação da expressão de receptores de estrógeno e progesterona no endométrio de vacas Nelore (*Bos taurus indicus*) durante o anestro pós-parto (Evaluation of the expression of estrogen and progesterone receptor in the endometrium of Nelore cows (*Bos taurus indicus*) during postpartum anestrus)

R.S. Lima, I. Martin, W.C. Marques Filho, J.C.P. Ferreira

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ)- UNESP Botucatu. E-mail: rafinha_sanchez@hotmail.com

Introdução

Em bovinos, durante o ciclo estral, a expressão dos receptores de estrógeno (ER) e progesterona (PR) é controlada pelas concentrações desses hormônios, sendo que o E₂ estimula e P₄ diminui a expressão (Robinson et al., 2001; Martin et al., 2005). Contudo, durante o anestro puerperal, quando as concentrações de P₄ são insignificantes e as de E₂ são variáveis, na dependência do desenvolvimento folicular não se conhece o padrão de expressão desses receptores. O objetivo do presente trabalho foi estudar a expressão de ER e PR, de acordo com o desenvolvimento folicular.

Material e Métodos

Foram utilizadas 14 vacas Nelore P.O., em anestro pós-parto, diagnosticado pelo histórico reprodutivo, por avaliações por palpação e ultra-sonografia trans-retais, e por dosagem de P₄ plasmática, que foram submetidos a colheita de fragmento uterino, via trans-cervical. Os animais foram divididos em 3 grupos conforme o tamanho do maior foliculo: Grupo 1: foliculos < 4 mm (n=2); Grupo 2: foliculos > 4 e < 6 mm (n=5) e Grupo 3: foliculos > 6 mm (n=7). Para a determinação da expressão protéica de ER e PR foi utilizada a técnica de imunistoquímica.

Resultados e Discussão

Em todos os animais a expressão de ER e PR foi elevada. Não houve diferença entre os grupos estudados, exceto para o número de PR no epitélio glandular, que foi menor no grupo 1 quando comparado ao grupo 3 e para a contagem de ER no estroma que foi menor no grupo 1.

Os resultados sugerem que os mecanismos que controlam a expressão de receptores no anestro são semelhantes aos observados durante o ciclo estral, pois os animais do grupo 1, que apresentavam os menores diâmetros foliculares foram os que apresentavam a menor expressão de receptores para os esteróides sexuais. Imediatamente após o parto, devido as elevadas concentrações de E₂ e P₄ observadas no fim da gestação (Jainudeen & Hafez, 1982) a expressão de ER e PR encontra-se diminuída. A partir do 4º dia pós-parto, com o restabelecimento da secreção do FSH (revisado por Yavas, 2000) emerge a primeira onda folicular pós-parto e a elevação das concentrações plasmáticas de E₂ induz a expressão de ER e PR.

Referências bibliográficas

Jainudeen, M.R., Hafez, E.S.E. Gestação, Fisiologia pré-natal e parto. In: Hafez, E. S. E. Reprodução animal. 4 ed. São Paulo: Editora Manole, 1982. p.280-321.

Martin, I. *Avaliação ultra-sonográfica. perfil hormonal, e imunoistoquímica de receptores de estrógeno e progesterona durante o ciclo estral em vacas Nelore (Bos taurus indicus)*. Botucatu, 2005, 116p. Monografia (Mestrado em Medicina Veterinária, Área de Concentração em Reprodução Animal). FMVZ –Unesp.

Robinson, R.S., Mann, G.E., Lamming, G.E., Wathes, D.C. Expression of oxytocin, oestrogen and progesterone receptors in uterine biopsy samples throughout the oestrous cycle and early pregnancy in cows. *Journal of Reproduction and Fertility*, v.122, p.965-979, 2001.

Yavas, Y., Walton, J. S. Postpartum acyclicity in suckled beef cows: a review.

Theriogenology, v.54, p.25-55, 2000.

Palavras-chave: Imunoistoquímica, anestro, Nelore, receptor estrógeno, receptor progesterona.

Keywords: Immunohistochemistry, anestrus, Nelore, estrogen receptor, progesterone receptor.

079

Perfil citológico dos líquidos amniótico e alantoidiano durante a gestação na vaca (*Cytology of the amniotic and allantoic fluids during pregnancy in the cow*)

M.R.P. Moura, L.L. Lanna, A.P. Marques Júnior

Escola de Veterinária da UFMG, Departamento de Clínica e Cirurgia, Laboratório de Reprodução Animal. E-mail: mariaaraquel.moura@gmail.com, leonardollanna@gmail.com, ampinhojr@gmail.com

Introdução

A produção e absorção dos fluidos amniótico e alantoidiano dependem de uma série de fatores que interferem na interação entre a mãe e o feto via placenta. Bongso & Basrur (1975) verificaram que o estágio gestacional não está correlacionado com a característica morfológica das células do líquido amniótico, mas com o número de células presentes no mesmo. Com o advento de novas tecnologias, como transferência de embriões (TE), fertilização *in vitro* (FIV) e transferência nuclear (TN), a acumulação anormal de líquidos fetais tem sua ocorrência aumentada. Vacas gestantes de fetos de TN mostram incidência de acumulação anormal de líquidos fetais, principalmente hidroalantóide, com aumento da mortalidade fetal no terço médio da gestação e fetos de TN apresentam alta incidência da síndrome do feto grande, hidroalantóide e placentomegalia no terço final da gestação (Li *et al.*, 2005). O objetivo deste trabalho foi descrever o perfil citológico dos líquidos amniótico e alantoidiano como uma contribuição na geração de conhecimento e informação para a abordagem acadêmica, científica e técnica de problemas gestacionais que podem ocorrer no bovino com o uso de biotecnias reprodutivas.

Material e Métodos

Foram utilizados trinta úteros gestantes de vacas mestiças Holandês/Zebu, com dez animais em cada grupo: G1 - terço inicial (0 a 90 dias), G2 - terço médio (90 a 180 dias) e G3 - terço final (180 a 280 dias) de gestação. Para cálculo da idade gestacional foi medido o comprimento ápico-caudal segundo Richardson (1989). Foram coletados 10 ml de líquido alantoidiano e amniótico, que foram centrifugados por 10 minutos a 200 g. Do sedimento de cada alíquota foram feitos esfregaços corados pelo método Panótico Rápido. Foram contados 40 campos aleatórios por lâmina e consideradas as seguintes características celulares: células Eosinofílicas nucleadas e anucleadas, células Cianofílicas nucleadas e anucleadas e células Orangeofílicas.

Resultados e Discussão

Nos achados macroscópicos, o líquido amniótico caracterizou-se fisicamente como claro, incolor e mucóide, porém mais viscoso com o adiantamento da gestação, enquanto o alantoidiano caracterizou-se fisicamente como aquoso e de cor âmbar, com volume maior que o do amniótico, nos três terços gestacionais, aumentando essa relação com o adiantado da gestação. Verificou-se que com a metodologia utilizada não foi possível identificar células no líquido alantoidiano. Os resultados obtidos neste trabalho (Tab. 1) mostram variações significativas entre o terço inicial, médio e final da gestação da vaca, nas médias das células eosinofílicas nucleadas e nas células cianofílicas anucleadas. Estas diferenças foram evidenciadas entre o terço inicial e final da gestação, nas células totais e nas células cianofílicas nucleadas. Nas células eosinofílicas anucleadas e orangeofílicas não houve diferença estatística. A coloração utilizando o Panótico Rápido mostrou-se eficiente para se identificar as células do líquido amniótico com base nas suas características morfológicas,

exceto as células orangeofílicas. Em conclusão, a coloração com Panótico Rápido mostrou-se eficiente para o acompanhamento da citologia do líquido amniótico na vaca mestiça Holandês/Zebu.

Tabela 1: Média do número de células totais, eosinofílicas com e sem núcleo, cianofílicas com e sem núcleo e orangeofílicas, do líquido amniótico dos terços inicial (G1), médio (G2) e final (G3) da gestação da vaca.

G	Cel Totais	EosinCN	EosinSN	CianofCN	CianofSN	Orangeof
1	16,38 ± 4,17a	7,25 ± 5,47a	3,13 ± 4,09a	1,13 ± 1,55a	1,00 ± 1,07a	4,25 ± 3,49a
2	94,13 ± 55,15b	25,63 ± 11,20b	8,25 ± 8,66a	43,50 ± 57,14b	11,38 ± 10,23b	5,38 ± 4,27a
3	125,1 ± 52,45b	48,78 ± 23,71c	8,67 ± 8,69a	32,11 ± 16,06b	31,78 ± 22,48c	2,22 ± 6,67a

abcLetras designuais, na mesma coluna, indicam diferença estatisticamente significativa ($P < 0,05$).

Referências bibliográficas

Bongso, T.A.; Basrur, P.K. Prenatal diagnosis of sex in cattle by amniocentesis. *Vet. Rec.*, v.96, p.124-26, 1975.
Li, N.; et al. Perturbations in the biochemical composition of fetal fluids are apparent in surviving bovine somatic cell nuclear transfer pregnancies in the first half of gestation. *Biology of Reproduction*, v.73, n.1, p.139-48, 2005.
Richardson, C. Personal communication In: ARTHUR, G.H.; NOAKES, D.E.; PEARSON, H. *Veterinary reproduction and obstetrics*. 6.ed. Londres: Baillière Tindall, 1989. p.49-59.

Palavras Chaves: vaca, citologia, placenta, fluidos fetais.

Keywords: cow, cytology, placenta, fetal fluids.

080

Zearalenona como causa de cistos foliculares em novilhas mestiças - relato de caso (*Zearalenone as a cause of follicular cysts in heifers – A case report*)

J.E. Três, R.C.G. Pereira, J.P. Oliveira, G.M. Direito, V.L.T. Jesus, J.C.F. Jacob

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica/RJ. E-mail: jesus@ufrj.br

Introdução

Cisto folicular caracteriza-se pela persistência de estrutura folicular anovulatória. Vacas leiteiras são predispostas a ocorrência de cistos devido a ação de micotoxinas, como Zearalenona (ZEN), produzido por fungos do gênero *Fusarium*, encontrados em concentrados e volumosos, que constitui a base da alimentação dos bovinos. A presença de ZEN na alimentação ocasiona hiperestrogenismo, caracterizado por repetição de cio, o qual ocasiona diminuição da taxa de concepção. Weaver et al. (1986), relataram que novilhas leiteiras que consumiram ZEN, por mais de três ciclos estrais consecutivos, tiveram uma diminuição da taxa de concepção de 87,0 a 62,0%. O objetivo deste trabalho foi de investigar a ocorrência de cistos foliculares em novilhas alimentadas diariamente com cevada na qual foi detectado ZEN.

Material e Métodos

No período chuvoso de 2007/2008, no município de Seropédica – RJ foram avaliadas 14 novilhas mestiças (holandês x zebu), com a idade variando entre 24 e 36 meses, híginas, com alimentação a base de volumoso e suplementadas com cevada (mosto de cervejaria), sal e água *ad libitum*. Esses animais apresentaram um quadro clínico de repetição de cio, com intervalos irregulares e perdas de inseminação artificial (IA). Estas fêmeas foram avaliadas através de palpação retal e ultrassonografia. Quanto a suspeita da ZEN na cevada, foram coletadas amostras da cevada armazenadas em silo sem cobertura. No laboratório de Micotoxinas, foi realizada a análise para multitoxinas e analisado cromatografia em camada delgada (Soares; Rodriguez-Amaya, 1989).

Resultados e Discussão

Das 14 novilhas detectou-se 9/14 (64,3%) com cisto folicular, com variação de tamanho de 18,5 mm a 26,0 mm de diâmetro. Uma das novilhas com cisto folicular de 20,0 mm também apresentava agenesia de um corno uterino. Na análise micotoxológica da cevada foi detectada a ZEN com dosagem 327,01µg/Kg. Após um mês da retirada da cevada da alimentação destes animais, observou-se o desaparecimento ou a diminuição do cisto folicular, o decréscimo da repetição de cio e das perdas com a IA e monta natural. Concluindo que a ingestão crônica de cevada contaminada por ZEN em novilhas afetou a reprodução, causando perdas econômicas para o rebanho.

Referências bibliográficas

Soares, L. M. V.; Rodriguez-Amaya, D. B. Survey of aflatoxins, ochratoxins A, zearalenone and sterigmatocystin in some Brazilian foods by multitoxin thin layer chromatographic method. *J. Assoc. Anal. Chem.*, v. 72, p. 22-26, 1989.
Weaver et al. Effect of zearalenone on the fertility of virgin dairy heifers. *Am. J. Vet. Res.*, v. 47, p.1395-1397, 1986.

Palavras-chave: hiperestrogenismo, micotoxina, reprodução.

Keywords: hiperestrogenism, micotoxin, reproduction.

081

Efeito da massagem clitoriana nas taxas de concepção em fêmeas Nelore submetidas à inseminação artificial em tempo fixo (*Effect of clitoral massage on conception rates in the Nelore females submitted to artificial*

insemination in fixed time)

R.N. Dinardi¹, C.M. Bertan¹, M. Sá Filho², P.S. Baruselli²

¹Faculdade de Zootecnia, UNESP, Dracena, SP, Brasil. ²FMVZ, USP, São Paulo, SP, Brasil. E-mail: robsondinardi@yahoo.com.br

Introdução

O emprego da inseminação artificial em tempo fixo (IATF) tem se intensificado em rebanhos de corte. Uma prática comum consiste na massagem clitoriana após o ato da inseminação. Alguns autores (1, 2) relataram que a massagem clitoriana aumenta as taxas de concepção em vacas de corte, embora o mesmo efeito não tenha sido observado em novilhas. Em vacas de corte, a estimulação clitoriana após a inseminação convencional reduziu o intervalo entre o final do estro e a ovulação em 4,3 horas (3). Considerando que em protocolos de IATF a ovulação é sincronizada, possivelmente a ausência de tal procedimento não promoveria decréscimo nas taxas de concepção. O presente estudo objetiva comparar as taxas de concepção em vacas de corte submetidas ou não a massagem clitoriana. A hipótese é que a massagem clitoriana após a inseminação artificial não aumenta as taxas de concepção em vacas de corte submetidas à IATF.

Material e Métodos

Foram utilizadas 809 vacas Nelore múltiparas, entre 30 e 60 dias pós-parto, com valor médio e erro padrão de escore corporal de $2,8 \pm 0,38$, respectivamente (escala de 1 a 5). O experimento foi realizado em quatro fazendas no Mato Grosso do Sul e uma no Paraná. Todas as fêmeas receberam um dispositivo intravaginal de progesterona (CIDR®) e 2mg de Benzoato de Estradiol (Estrogin®) no dia 0. Na retirada do dispositivo (D8) as fêmeas receberam i.m. 2,5mL de Lutalyse, 0,6mg de cipionato de estradiol (ECP®) e 300UI de Gonadotrofina Coriônica Eqüina (Novormon®). A IATF foi realizada 54 horas após a retirada do dispositivo. Após a IATF as fêmeas foram divididas aleatoriamente em dois grupos de tratamento: sem massagem clitoriana (Grupo Controle; n= 415) e com massagem clitoriana durante cinco segundos (Grupo Massagem; n= 394). A taxa de concepção foi determinada por ultra-sonografia 40 dias após a IATF. Os dados foram analisados pelo procedimento GLIMMIX, sendo a variável dependente a taxa de concepção e as variáveis independentes, fazenda e tratamento.

Resultados e Discussão

Foi observado efeito de fazenda ($P= 0,02$), mas não houve interação fazenda x tratamento ($P \geq 0,05$). A taxa de concepção não diferiu entre o grupo controle e massagem [49,16% (204/415) vs. 51,02% (201/394); $P= 0,6$]. A hipótese assumida foi confirmada. Conclui-se que a massagem clitoriana não aumenta as taxas de concepção. Sugere-se ser dispensável este procedimento durante a realização das inseminações em programas de IATF em vacas de corte.

Referências bibliográficas

1. Short RE, et al. Effects of clitoral stimulation and length of time to complete AI on pregnancy rates in beef cattle. J. Anim. Sci, n. 49, p. 647, 1979.
2. Lunstra DD, et al. Clitoral stimulation and the effect of age, breed, technician and postpartum interval on pregnancy rate to artificial insemination in beef cattle. Theriogenology, n.19, p. 555, 1983.
3. Randel RD, et al. Effect of clitoral massage after artificial insemination on conception in the bovine. J. Anim. Sci, n.40, p.1119, 1975.

Palavras chaves: comportamento animal, bioestimulo, concepção.

Keywords: animal behavior, biostimulus, conception.

082

Dinâmica ovariana e taxa de gestação em vacas inseminadas artificialmente em tempo fixo sob diferentes metodologias (*Ovarian dynamics and pregnancy rate in cows inseminated artificially fixed in time under different methodologies*)

A. Pinto-Neto¹, S. Thomazi², R.Z. Silva³, H.A.G. Gregianini⁴, E.F. Faria⁴, M.F. Mota⁵, N.M. Melo², E. Demczuk⁶, F.Z. Brandão⁷, J.F. Fonseca⁸

¹Mestrado Ciência Animal (MECA). UNIPAR. Umuarama-PR.; ²Mestranda. MECA-UNIPAR; ³Bolsista IC. CNPq-UNIPAR; ⁴Bolsista PIBIC-UNIPAR; ⁵Medicina Veterinária-UNIPAR; ⁶Estro Forte Fertilidade Animal Ltda.; ⁷Medicina Veterinária-UFF; ⁸EMBRAPA Caprinos Núcleo Sudeste.E-mail: adalgiza@unipar.br

Introdução

Na tentativa de maximizar a eficiência de rebanhos bovinos, a sincronização de estros e ovulação, associados à IATF, tem sido estudada pelas vantagens que oferece. Estudos com IATF são muitos, atuais, com protocolos e resultados variáveis (Baruselli e Seneda, 2004). Pretende-se então com esse trabalho, avaliar a dinâmica folicular e a taxa de gestação de vacas inseminadas artificialmente em tempo fixo sob diferentes metodologias.

Material e Métodos

Para tanto, 86 vacas Nelore, de diferentes categorias sob pastejo, suplementadas com sal e água *ad libitum*, foram submetidas à IATF, sob o protocolo: implante intravaginal de progesterona (CIDR^R) no D0 e aplicação de estradiol. No D7 o implante foi retirado e aplicou-se PGF_{2alfa} (Veteglan^R). No D8 administrou-se 1000UI de hCG (Vetecor^R) e no D9 a IATF, onde as fêmeas foram divididas aleatoriamente em três grupos experimentais. Desses, escolheram-se aleatoriamente sete animais para avaliação ultrassonográfica transretal, duas vezes ao dia, do número de folículos em cada

ovário e diâmetro do maior folículo. Para a IATF, os animais do Grupo 1 (35) foram inseminados 48 h da retirada do implante, com uma única dose de sêmen comercial, de touro testado e qualidade comprovada. Os do Grupo 2 (26) foram inseminados no mesmo momento e condições dos animais do grupo 1, mas utilizaram-se duas doses de sêmen aplicadas juntas; enquanto que os do Grupo 3 (25) inseminados duas vezes, com intervalo de 12 horas a cada aplicação. Após 60 dias realizou-se o diagnóstico de gestação pela palpação transretal. O número de folículos e diâmetro do maior folículo foi submetido à análise de variância e comparado pelo Teste F. A taxa de gestação comparada entre grupos pelo Qui-quadrado, e a influência da categoria animal pelo Teste F. Todos com 5% de significância.

Resultados e Discussão

A dinâmica de crescimento folicular durante o período estudado foi semelhante entre os ovários ($p>0,05$). Observou-se queda no número médio de folículos do dia da retirada do implante a IATF ($p<0,05$), possivelmente devido à dominância folicular ocorrida próxima a ovulação (Lucy et al., 1992). O diâmetro médio total do maior folículo foi superior no ovário direito ($p<0,05$), embora esse mesmo ovário tenha apresentado diâmetro médio diário semelhante aquele observado no maior folículo do ovário esquerdo. No entanto, no dia da IATF à tarde o diâmetro médio do maior folículo diminuiu ($p<0,05$), possivelmente decorrente da ovulação. A taxa de gestação foi semelhante entre os grupos experimentais ($p>0,05$), sendo de 31,43%, 34,62% e 20,00% para os grupos 1, 2 e 3 respectivamente. A presença do bezerro também não influenciou a taxa de gestação ($p>0,05$). Dessa forma, conclui-se que nas condições desse estudo, a dose de sêmen convencional utilizada tradicionalmente em programas de IA não interfere na fertilidade de vacas submetidas à IATF.

Referências bibliográficas

Baruselli, P.S. *et al.* The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrus beef cattle in tropical climates. *An.Reprod. Sc.*, v.82-83, p.479-486, 2004.

Lucy, M.C.; Savio, J.D.; Badinga, L.; De La Sota, R.L.; Thatcher, W.W. Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. *J. Anim. Sci.*, v.70, p.3615-3626, 1992.

Palavras-chave: bovino, IATF, concentração espermática.

Keywords: bovine, timing-fixed insemination, concentration sperm.

083

Eficiência da inseminação intracornual profunda (IAIP) com sêmen sexado em bovinos (*Efficiency of deep intracornual insemination with sexed semen in cattle*)

C. Meirelles^{1*}, R.R. Weiss¹, A.B. Souza², M.S. Segui³, L.E. Kozicki³, I.W. Santos¹

¹ Pós-Graduação – Ciências Veterinárias – UFPR; ² Médico Veterinário, ³ Docente Medicina Veterinária da PUCPR. *E-mail: ciromeirelles@bol.com.br

Introdução

A aplicação da sexagem espermática na produção de bovinos depende da sua eficiência econômica, pesando na decisão de sua implantação (Meirelles et al., 2008). O objetivo do presente experimento foi avaliar a taxa de prenhez, mediante sêmen sexado, pela técnica da inseminação artificial convencional (IA) comparando-se à técnica da IAIP *ipsilateral* ao folículo ovulatório.

Material e Métodos

O experimento foi realizado em uma fazenda de bovinos de corte, com 50 fêmeas Nelore de um lote de vacas primíparas solteiras, com boa condição corporal. A inseminação foi realizada 12 horas após a observação de estro. O sêmen sexado para fêmeas era proveniente de uma Central comercial de coleta e congelamento. No grupo IA (n=25), o sêmen foi depositado no corpo do útero. No grupo IAIP (n=25), foi utilizada a IAIP após a identificação do folículo ovulatório por palpação retal dos ovários.

Resultados e Discussão

Tabela 1. Resultado da taxa de prenhez no grupo IAIP e IA após a utilização de sêmen sexado (Guaraniaçu-PR, 2007; n=50)

Grupo Animal	Total Animais (n)	Total Fêmeas Prenhes (n)	Total Fêmeas Não Prenhes (n)	Taxa de Prenhez (%)
Grupo IAIP	25	9	16	36,0 ^a
Grupo IA	25	12	13	48,0 ^b
Total	50	21	29	42,0

a:b $p>0,05$

Pela Tab. 1 observa-se que a IAIP não apresentou vantagens em relação a IA com sêmen sexado, resultados esses corroborados por Seidel e Schenk (2008).

Referências bibliográficas

Seidel Jr GE e Schenk JL Pregnancy rates in cattle with cryopreserved sexed sperm: Effects of sperm numbers per inseminate and site of sperm deposition. *Animal Reproduction Science*, v. 105, p.129–138, 2008.

Meirelles C, Faria VR, Souza AB, Weiss RR, Segui M S, Kozicki L E. Eficiência da inseminação artificial com sêmen

sexado bovino: aspectos de viabilidade reprodutiva e econômica. *Archives of Veterinary Science*, v.13, n.2, p.98-103, 2008.

Palavras-chave: Inseminação intracornual profunda; sêmen sexado; bovinos.

Keywords: Deep intracornual insemination; sexed semen; bovine.

084

Eficiência de D(+) Cloprostenol na sincronização de cio em vacas de corte x leite e submucosa vulvar x intramuscular (Resultados preliminares) (*Efficiency of D(+) Cloprostenol on rut synchronization in compare with cows of slaughter x dairy and vulvar submucosa x intramuscular (preliminary results)*)

M.N. Soares, V.R.B. Rosa, E.G. Basílio, F.A.N. Liska, O.A. Carrijo Junior

Faculdades Integradas da Terra de Brasília (FTB). E-mail: Celonovais@hotmail.com

Introdução

Tratamentos com prostaglandina (PGF₂α) tem tido resultados na melhora do desempenho reprodutivo pela redução no intervalo parto/concepção (Oliveira et al., 1998). O objetivo desta pesquisa foi verificar a eficiência do uso de D(+) Cloprostenol (7,50 mg), na sincronização de cio, comparando vacas de leite, de corte e via de administração, 2ml (150μg) intramuscular (IM) ou 1ml (75μg) submucosa vulvar (SV).

Material e Métodos

O experimento foi conduzido na fazenda Juca Maria, município de Paracatu-MG, jan-fev, 2009. Submetidas à aplicação de D(+) Cloprostenol, 49 vacas de corte e 37 de leite, divididas em 4 lotes, com escore corporal de 3,5 na escala de 1 a 5. Os animais foram submetidos à avaliação ginecológica via palpação trans-retal e identificado a presença de corpo lúteo. A sincronização foi aleatória e a via de aplicação alternada (Azeredo et al., 2007). No lote 1(corte), foram sincronizadas 38 vacas sendo 18 SV e 20 IM. No lote 1 (leite) 15 vacas sendo 08 SV e 07 IM. No lote 2 (corte) 11 vacas sendo 05 SV e 06 IM, no lote 2 (leite) 22 vacas sendo 12 SV e 10 IM.

Resultados e Discussão

O percentual de cio geral dos lotes 1 e 2 (corte) foi de 55,10% (n=27/49) e dos lotes 1 e 2 (leite) foi de 40,54% (n=15/37). Os resultados obtidos comparando a via de administração do Cloprostenol foram insignificantes (P < 0,05), pois, nos lotes de corte a via SV deu um resultado de cio de 52,17% (n=12/23) e a IM de 57,69% (n=15/26) e nos lotes de leite a via SV foi de 35% (n=7/20) e a IM de 47,05% (n=8/17). Os dados obtidos no experimento foram satisfatórios em relação à via de administração, pois a variância não foi significativa. A aplicação na submucosa vulvar (SV) pode ser considerada melhor, pois, utiliza-se apenas metade da dose. No entanto, os resultados obtidos entre as vacas de corte e leite foram significantes (P > 0,05), por causa da diferença de um para o outro que foi de 14,56%, ou seja, a sincronização de cio com o Cloprostenol em vacas de leite não teve o resultado esperado.

Referências bibliográficas

Azeredo, D.M., et al., Efeito da sincronização e da indução de estros em novilhas sobre a prenhez e o índice de repetição de crias na segunda estação reprodutiva. *Ciência rural*, Santa Maria, v. 37, n. 1, p. 201-205, jan-fev, 2007.

Oliveira, M. M. N. F., et al., Características reprodutivas de vacas leiteiras no pós-parto após tratamentos com buserelina (GnRH) e cloprosterol (PGF₂α). XXXV Reunião Anual da S. B. Z, anais. Vol. III manejo e reprodução. Botucatu – SP, 1998, p.67 – 69.

Palavras-chave: D(+) Cloprostenol, sincronização de cio, intramuscular, submucosa vulvar.

Keywords: D(+) Cloprostenol, rut synchronization, intramuscular, vulvar submucosa.

085

Efeito do número de utilizações do dispositivo intravaginal de progesterona (DIB®) na IATF de vacas Nelore (*Bos indicus*) (*Effect of used DIB® device for fixed-timed artificial insemination in Nelore cows (Bos indicus)*)

A.G. Medalha¹, M.F. Sá Filho², R. Ferreira², L. Penteadó³, C.R. Rezende³, R. Pereira Júnior³,

L.F. Nasser³, G. Crepaldi², J.N. Sales², M.I.L. Souza¹, P.S. Baruselli²

¹UFMS, Campo Grande-MS; ²FMVZ/USP, São Paulo-SP; ³ FIRMASA-IATF, Campo Grande-MS. E-mail: barusell@usp.br ou adrianagm_vet@hotmail.com

Introdução

A utilização em larga escala dos protocolos de sincronização da ovulação para inseminação artificial em tempo fixo (IATF) no Brasil tem causado forte apelo científico e comercial para o desenvolvimento de protocolos que apresentem baixo custo e fácil execução. Neste sentido, o presente estudo procurou avaliar o número de utilizações do dispositivo intravaginal de progesterona (DIB®, Schering-Plough, Brasil) no protocolo que utiliza cipionato de estradiol como indutor de ovulação e possibilita a IATF com somente três manejos.

Material e Métodos

Foram utilizadas 994 vacas de corte lactantes paridas de 30 a 60 dias em quatro fazendas comerciais localizadas nos estados do Mato Grosso do Sul e do Paraná. As fêmeas no início do protocolo de IATF (Dia 0) foram categorizadas e homogeneamente distribuídas de acordo com a paridade (múltipara ou primípara) e o escore de condição corporal (ECC,

escala de 1 a 5) em três grupos experimentais (DIB-1uso, DIB-2uso ou DIB-3uso). As fêmeas do grupo DIB-1uso receberam um DIB® novo adicionado a aplicação de 2mg de benzoato de estradiol (i.m., Gonadiol®, Intervet-Shering). Após oito dias, o dispositivo foi removido e 500µg de Cloprostenol (Ciosin®, Schering-Plough, Brasil), 300UI de eCG (Novormon®, Syntex, Argentina) e 0.6mg de cipionato de estradiol (ECP®, Pfizer Saúde Animal, Brasil) foram administrados i.m. em todos os animais. A IATF foi realizada 48 horas após a retirada do dispositivo. As fêmeas dos grupos DIB-2uso e DIB-3uso receberam o mesmo tratamento do que realizado no grupo DIB-1uso com exceção de que os dispositivos inseridos haviam sido previamente utilizados por oito ou desesseis dias, respectivamente. O diagnóstico de gestação foi realizado 30 a 35 dias após a IATF e os dados analisados pelo PROC GLMIX considerando no modelo estatístico o efeito fazenda, paridade, tratamento e ECC, bem como as interações de fazenda, paridade e ECC nos tratamentos.

Resultados e Discussão

Não foram observadas interações entre fazenda (P=0.46), paridade (P=0.16) e ECC (P=0.66) e os tratamentos. O número de utilizações não alterou a taxa de prenhez após a IATF [DIB-1uso=56.7% (174/307); DIB-2uso=55.2% (196/355) e DIB-3uso=51.2% (170/332); P=0.93]. Fêmeas múltiparas apresentaram maior taxa de prenhez em relação às primíparas [55.8% (471/844) vs. 46.0% (69/150); P=0.02]. O ECC alterou a taxa de prenhez, sendo que vacas com ECC ≤ 2.5 apresentaram menor taxa de prenhez (43.3%; 93/215) em relação às fêmeas com maior ECC [3=56.6% (286/505) e ≥3.5=58.8% (161/274); P=0.004]. Conclui-se que, a taxa de prenhez à IATF é influenciada pela paridade e pelo ECC da fêmea tratada. Além disso, é possível utilizar o DIB® por até três vezes sem queda na taxa de concepção após IATF em protocolos que utilizam cipionato de estradiol como indutor de ovulação em vacas Nelore.

Palavras-chave: progesterona, intravaginal, IATF e re-utilização.

Keywords: progesterone, intravaginal, IATF and re-used.

086

Dinâmica folicular de vacas de corte tratadas com três protocolos para a sincronização da ovulação (Ovarian follicular dynamics of beef cattle treated with three oestrus synchronization protocols)

L.C. Melo, A. Beskow, J.W. Gregory, R.C. Mattos, M.I.M. Jobim, R.M. Gregory

Laboratório de Reprodução Animal, Faculdade de Veterinária, UFRGS, RS, Brasil. E-mail: ricardo.gregory@ufrgs.br

Introdução

Métodos de sincronização da ovulação associando progestágenos, estradiol e prostaglandina têm possibilitado um avanço no uso da IATF. O objetivo deste experimento foi determinar a dinâmica folicular de três distintos protocolos em vacas de corte.

Material e Métodos

Foram utilizadas vacas Braford, múltiparas, não-lactantes, ciclando e com condição corporal (CC) ≥ 3 (escala 1-5). No grupo acetato de medroxi-progesterona (MAP, n=7), os animais receberam, no dia 0, uma esponja intravaginal impregnada com 250mg de MAP e uma aplicação i.m. de 2mg de benzoato de estradiol (BE); no dia 8, a esponja foi retirada e aplicou-se 150mcg i.m. de cloprostenol sódico (Sincrocio®). No dia 9 foi aplicado 1mg de BE i.m. O grupo PRIMER (n=7), recebeu o mesmo tratamento do grupo MAP, sendo a esponja substituída pelo implante intravaginal PRIMER®, impregnado com 1g de progesterona. No grupo CRESTAR (n=8), os animais receberam no dia 0, um implante auricular com 3mg de Norgestomet e uma aplicação i.m. de 3mg de Norgestomet+5mg de Valerato de Estradiol (VE); no dia 9 o implante auricular foi retirado. As avaliações ultrassonográficas do trato reprodutivo eram feitas de 12 em 12 horas, a partir do dia 0 até a ovulação de todos os animais.

Resultados e Discussão

A emergência da onda folicular para os grupos MAP, PRIMER e CRESTAR ocorreu, respectivamente, em 3,7±1,1, 3,7±0,7 e 4,9±1,1 dias, havendo uma tendência (P=0,06) de ocorrer mais precocemente nos grupos MAP e PRIMER. MORENO et al. (2001) observaram a emergência da onda em 4,0±0,2 dias utilizando 2mg de BE e MAPLETOFT et al. (1999) em 5,7±0,2 dias usando 5mg de VE. Não houve diferença para os grupos MAP, PRIMER e CRESTAR no tempo entre emergência da onda e ovulação, 7,4±0,9, 7,3±0,7 e 7,6±1,3 dias (P=0,82); no tempo entre a retirada do implante e ovulação, 66±12, 66±0 e 70,5±12,7 horas (P=0,62); no diâmetro do folículo dominante (FD) na retirada do implante, 10,9±2,6, 12,7±2,1 e 10,3±2,1 mm (P=0,13); no maior diâmetro do FD, 15,3±2,9, 16,6±1,3 e 15,9±1,5 mm (P=0,49); no diâmetro do corpo lúteo (CL) no dia 0, 22,4±4,9, 19,3±9,1 e 21,1±3,1 mm (P=0,66); e no diâmetro do CL no dia da retirada do implante, 12,9±6,6, 12,9±7,8 e 10,8±6,8 mm (P=0,22), respectivamente. Os três protocolos foram efetivos em sincronizar a emergência da onda folicular, em garantir a presença de um novo FD de diâmetro satisfatório, e, principalmente, em promover a ovulação sincronizada dos animais.

Referências bibliográficas

Moreno D., Cutaia L., Villata L., Bo G. Follicle wave emergence in beef cows treated with progesterone releasing devices, estradiol and progesterone. *Theriogenology*, v.55, p.408, 2001.

Palavras-chave: dinâmica folicular; sincronização da ovulação; progesterona; estradiol.

Keywords: ovarian follicular dynamics; estrus synchronization; progesterone; estradiol.

087

Efeitos do desmame precoce e da amamentação controlada de bezerros, sobre a dinâmica folicular ovariana e a fertilidade de bovinos de corte (*Effects of early weaning and controlled feeding of calves, on ovarian follicular dynamics and fertility in beef cattle*)

F.W. Pencai¹, C.E.M.P. Costa², J.L. Molleta³, N.L. Silva³, L.E. Kozicki⁴

¹Mestrando da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR); ² graduando de Medicina Veterinária -PUCPR; ³ Pesquisadores do Instituto Agronômico do Paraná (IAPAR); ⁴ Mestrado em Ciência Animal da Pontifícia Universidade Católica do Paraná. E-mail: fwpencai@terra.com.br

Introdução

O Brasil possui o maior rebanho bovino comercial do mundo, sendo a pecuária de corte uma atividade extremamente importante para a economia do país. Mesmo assim enfrenta uma série de obstáculos, sendo o desempenho reprodutivo um dos principais fatores dos baixos índices produtivos. O anestro pós-parto configura-se como um dos fatores que prejudicam o aspecto reprodutivo das fêmeas bovinas de corte, devido à amamentação contínua, retardando o início da atividade cíclica ovariana e o aparecimento do estro. Segundo Almeida et al. (2002) a intervenção sobre o manejo da amamentação é um dos pontos fundamentais em relação à obtenção de uma nova gestação no período do pós-parto. O objetivo desta pesquisa foi o de avaliar a aplicação de diferentes manejos em relação à amamentação sobre o desempenho reprodutivo em vacas de corte.

Material e Métodos

Foram utilizadas 37 (trinta e sete) vacas vacas primíparas e pluríparas, recém saídas da fase do puerpério tardio, com genética predominante européia, da Fazenda Experimental do Instituto Agronômico do Paraná (IAPAR) na região de Ponta Grossa – Paraná. Foram constituídos três grupos (G) correspondentes a três diferentes manejos relativos à amamentação: G1(=10 animais)-desmame precoce (definitivo) ocorrido no 70º dia pós parto (p.p.); G2(=14) - amamentação controlada iniciada no 70º dia p.p.(uma hora de amamentação/dia) e G3(=13)- bezerro ao pé. A estação de monta iniciou-se em setembro de 2008 e estendeu-se até novembro de 2008 (=90 dias). Todos os animais foram submetidos ao escaneamento ultrassonográfico semanal ovariano, para verificação das modificações das estruturas gonadais, frente aos tratamentos. Os dados foram calculados com base no teste do Qui-Quadrado.

Resultados e Discussão

No confronto entre os três grupos, observou-se diferenças entre os grupos. As respostas de recrutamento e de desenvolvimento folicular foram mais precoces no G2 do que no G1 e G3, muito embora o G1 tenha evidenciado boas características de desenvolvimento folicular, porém aquém ao G2. No G3 aspectos de inatividade ovariana persistiram, e 38,0% dos animais deste grupo, não apresentou estro durante a estação de monta, ao passo que nos G1 e G2 todos os animais manifestaram o estro. Estes dados são corroborados por Almeida et. al. (2002), os quais comprovaram que o ato da amamentação contínua, influencia diretamente o recrutamento e o desenvolvimento folicular ovariano, postergando as alterações. Concluiu-se que os G2 e o G1 foram influenciados pelo tratamento aplicado, recomendando-se sua aplicabilidade.

Referencias bibliográficas

Almeida, L.S.P.de; Lobato, J.F.P.; Schenkel, F.S. Data de desmame e desempenho reprodutivo de vacas de corte. Revista Brasileira de Zootecnia, v.31, n.3, p.1223-1229, 2002.

Palavras chave: amamentação controlada; desmame precoce; bezerro ao pé; dinâmica folicular ovariana.

Key words: controlled suckling; early weaning; calf together cow; ovarian follicular dynamics.

088

Desempenho reprodutivo de rebanhos leiteiros submetidos à IATF sob diversas condições de manejo (*Reproductive performance of dairy cattle herds submitted to FTAI in different management conditions*)

R.H. Alvarez¹, A.J.F. Melo, V.A.P. Poncio, J. De Sordi Neto²

¹Polo de Desenvolvimento Regional Centro-Sul -APTA, Piracicaba-SP, 13400-970, Brasil; ²CATI, Nova Odessa,SP, Brasil. E-mail: rherrera@apta.sp.gov.br

Introdução

Em adição ao ganho genético, a implantação de um programa de inseminação artificial (IA) em rebanhos leiteiros resulta em melhoras na eficiência reprodutiva e produtiva dos animais, uma vez que os requerimentos para sua implantação exigem do produtor a adoção de práticas zootécnicas minimamente aceitáveis na criação dos animais. Por outro lado, o sucesso na implantação de um programa de IA estaria condicionado ao grau de eficiência com que essas práticas de manejo são assimiladas pelos produtores e incorporadas nas propriedades. O presente estudo teve como objetivo quantificar o desempenho reprodutivo (taxa de concepção) de rebanhos leiteiros submetidos a um programa de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) em diferentes situações de manejo zootécnico.

Material e Métodos

Vinte rebanhos destinados à produção de leite (formados de 10 a 30 animais em idade reprodutiva), localizados em 5 municípios da região de Piracicaba, SP, foram selecionados para participar de um programa de melhoramento genético, por meio da IA. Durante seis meses foram realizadas visitas quinzenais às propriedades no intuito de auxiliar o produtor

na adoção de medidas corretivas (estruturais e de manejo) específicas para cada propriedade. Ao término desse período, as propriedades foram classificadas como adequadas (n=6), adequadas com pequenas restrições (n=7) e adequadas com restrições maiores (n=7), considerando-se critérios tais como condição corporal dos animais, escrituração zootécnica, disponibilidade de alimentos e condições de infra-estrutura para realizar a IA. Em seguida, os animais foram preparados para receber a IATF. Em dia aleatório do ciclo estral (D0), grupos de animais de cada propriedade receberam uma injeção im de 2 mg de benzoato de estradiol (Estrogin[®] Farmavet) e colocado um dispositivo intravaginal contendo 1 g de progesterona (Primer[®], Tecnopec) durante 8 dias. No momento da remoção do Primer[®] foram injetados im 150 µg de d-cloprostenol (Prolise[®], Arsa). No dia seguinte (D9) administrou-se uma segunda injeção (1 mg) de benzoato de estradiol e a IATF foi realizada aproximadamente 28 horas após. O diagnóstico de prenhez foi realizado, por ultrasonografia, entre os dias 40 e 50 após a IA e os dados submetidos ao teste de χ^2 com a correção de Yates.

Resultados e Discussão

A taxa média de concepção de todos os rebanhos foi de 46,6%, sendo que os considerados “sem restrições” tiveram uma taxa de concepção de 49,3%, contra 47,2% e 43,0% dos que apresentaram restrições em menor ou maior grau, respectivamente ($P > 0,05$). Esses resultados são indicativos de que, além de programar o momento da IA, o tratamento hormonal para a indução da ovulação pode ser capaz de superar pequenas deficiências relacionadas ao animal (condição corporal abaixo da média), ao produtor (elimina erros na detecção do cio) e (até um certo grau) ao manejo alimentar, resultando em taxas de concepção aceitáveis. Conclui-se que o uso da IATF constitui uma ferramenta eficaz para a implantação de programas de melhoramento genético em rebanhos leiteiros com diferentes condições de manejo, uma vez que é possível obter taxas de concepção pouco divergentes entre eles.

Palavras-chave: IATF, bovinos, Melhoramento genético.

Keywords: FTAI, bovine, genetic improvement.

Apoio financeiro: Fapesp

089

Uso da Inseminação Artificial em Tempo Fixo em Fêmeas 5/8 Girolando (*Artificial Insemination in fixed time in 5/8 Girolando heifers and cows*)

A.S.Santos Filho¹, S.I. Guido, C.F. Queiroz

Instituto Agrônomo de Pernambuco¹. E-mail: antoniosantana@ipa.br

Introdução

A baixa produtividade na pecuária brasileira pode ser atribuída pelo menos em parte ao longo intervalo entre partos e a elevada idade em que ocorre o primeiro parto. Sabe-se que o ganho potencial resultante do incremento na taxa reprodutiva é maior que o esperado pelo aumento da qualidade do leite e pelo melhoramento genético, sendo apenas inferior aos ganhos que podem ser obtidos com a melhoria na nutrição. Atualmente a utilização da inseminação artificial sem a necessidade da observação do estro vem sendo muito difundida tanto em gado de corte como em gado de leite. O objetivo desta pesquisa foi avaliar taxa de gestação em novilhas e vacas 5/8 girolando inseminadas artificialmente sem a observação do estro.

Material e Métodos

Esta pesquisa foi conduzida na Estação Experimental de Arcoverde, pertencente ao Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA). Dez vacas em lactação, em média $68 \pm 11,6$ dias pós-parto, tiveram o estro sincronizado com implante intravaginal de dispositivo liberador de progesterona (1,9g) e aplicação intramuscular (IM) de 5 mg de Benzoato de Estradiol (dia = 0), nove dias após foi retirado o dispositivo e aplicado por via IM, 0,5 mg de Cloprostenol sódico e 300 UI de eCG no dia seguinte receberam por via IM 100 µg de Acetato de Fertirelina. Em outro tratamento, dez novilhas com idade média de 24 meses foram sincronizadas com o mesmo protocolo com exceção do implante utilizado, que foi o implante auricular de três mg de Norgestomet. 56 horas após a retirada dos implantes todas as fêmeas foram inseminadas independente da observação de cio. 60 dias após as inseminações foram realizados os diagnósticos de gestação através de palpação retal.

Resultados e Discussão.

Os resultados não mostraram diferença estatística entre os tratamentos ($P < 0,05$), pois seis das dez vacas inseminadas ficaram prenhes, enquanto sete das dez novilhas tiveram a prenhes confirmada 60 dias após as inseminações. Sabe-se que a falha na observação do estro é um problema que reduz a eficiência dos rebanhos bovinos, neste trabalho ficou evidente que a IATF é uma ferramenta que pode ser utilizada para incrementar a eficiência dos rebanhos de leite seja pela redução no intervalo entre partos de vacas ou pela redução da idade a primeira cria de novilhas. Os resultados deste trabalho são semelhantes a os encontrados por Pfeifer et al(2005) em vacas de leite e superiores aos obtidos por Siqueira et al(2008) em vacas de corte. Neste estudo ficou evidente que, a manipulação do ciclo estral através de hormônios exógenos para incrementar a eficiência reprodutiva é uma ferramenta, que pode ser utilizada com sucesso em vacas no pós-parto e novilhas 5/8 Girolando.

Referências bibliográficas

PFEIFER, Luiz F. M.; CORRÊA, Marcio N.; SCHMMIT, Eduardo et all. Uso de de PGF2 α associado ao Benzoato de Estradiol para Inseminação Artificial em Tempo Fixo em Vacas leiteiras. R. bras. Agrociência, Pelotas, v. 11, n. 3, p. 347-350, jul-set, 2005.

Siqueira, L.C; Oliveira, J.F.C; Loguércio, R.S. Sistemas de inseminação artificial em dois dias com observação de

estro ou em tempo fixo para vacas de corte amamentando.

Ciência Rural v.38 n.2 SantaMaria mar./abr. 2008

Palavras-chave: Progesterona, estro, IATF.

Keywords: progesteron, Estrus, AIFT.

090

Taxa de concepção de vacas de corte tratadas com cipionato ou benzoato de estradiol para induzir a ovulação em protocolos de IATF (*Conception rate of beef cows treated with estradiol cypionate or estradiol benzoate to induce the ovulation in FTAI protocols*)

G.A. Crepaldi¹, J.N.S. Sales¹, R.W. Girotto², P.S. Baruselli¹

¹FMVZ/USP. ²Veterinário autônomo. ³Intervet/Schering-Plough Saúde Animal. E-mail: gabrielcrepaldi@gmail.com, baruselli@usp.br

Introdução

Em protocolos convencionais que utilizam o benzoato de estradiol como indutor de ovulação (24 horas após a retirada do dispositivo) são necessários 4 manejos para administração de fármacos e inseminação artificial em tempo fixo (IATF). Assim, esse estudo foi desenvolvido com o objetivo de diminuir o número de manejos em protocolos para IATF, foi realizado um estudo para avaliar a taxa de prenhez em vacas Nelore (*Bos indicus*) tratadas com cipionato (CE) ou benzoato (BE) de estradiol como indutores da ovulação.

Material e Métodos

Foram usadas 1192 vacas Nelore (*Bos indicus*) ou cruzadas (*Bos taurus x Bos indicus*), com escore de condição corporal (ECC) de 2,85±0,13 (escala de 1 a 5), distribuídas em fatorial 2x2x3. No dia 0 [manhã (M)], os animais receberam de maneira aleatória 2mg de BE (Gonadiol[®], Intervet/Schering-Plough, Brasil) e um dispositivo intravaginal de progesterona (DIB; DIB[®], Intervet/Schering-Plough, Brasil) novo ou previamente usado por 8 dias. No dia 8, as vacas foram alocadas em um de três grupos, considerando o ECC, a raça e o uso do implante (novo ou usado). Nesse dia, o dispositivo foi removido e 112,5µg de d-Cloprostenol (Preloban[®], Intervet/Schering-Plough, Brasil) e 300UI de eCG (Folligon[®], Intervet/Schering-Plough, Brasil) foram administrados em todos animais [M para os grupos CE8 e BE9 e à tarde (T) para o BE8,5]. As vacas do grupo CE8 (n=398) receberam (M) 1,0mg de CE (ECP[™], Pfizer Saúde Animal, Brasil) e as vacas do grupo BE8,5 (n=396) receberam 1,0 mg de BE na retirada do dispositivo (T). As vacas do grupo BE9 (n=395) receberam 1,0mg de BE 24 horas após a retirada do dispositivo. No D10, as vacas foram novamente alocadas em 1 de 2 grupos (IATF M ou T) de acordo com a raça, ECC, uso do DIB e tratamento no D8. Os diagnósticos de gestação foram realizados entre 30 e 45 dias após a IATF por ultra-sonografia (CHISON 600VET). Foi utilizado o PROC GLIMMIX do SAS na análise estatística dos experimentos.

Resultados e Discussão

Não houve interação entre os tratamentos, uso do DIB, e o período de IATF. Não houve diferença na taxa de prenhez entre os grupos: CE8 (65,8%; 262/398), BE9 (61,8%; 244/395) e BE8,5 (58,6%; 232/296; P=0,12) e IATF M (64,6%; 389/602) ou T (59,5%; 350/588; P=0,06). Contudo, houve diferença quando o DIB era novo (64,9% 382/588) ou usado (59,5%; 359/604; P=0,04). Esses resultados indicam que o BE no protocolo BE8,5 e o CE podem ser usados como indutores de ovulação, permitindo a redução no número de manejos (3 manejos) e a realização da IATF durante o dia todo (durante o período da manhã e da tarde). Houve redução na taxa de concepção quando a IATF foi realizada com DIB previamente usado por 8 dias.

Palavras-chave: IATF, ovulação, indutor.

Keywords: FTAI, ovulation, inductor.

Agradecimentos: Intervet/Schering-Plough and USProducts Brasil Eletromedicina Ltda.

091

Maturação *in vitro* de oócitos bovinos em banho-maria (*In vitro maturation of bovine oocytes in water-bath*)

G.B. Mota¹, I. Oliveira e Silva¹, A.A.M. Rosa e Silva¹, J.H.M. Viana², L.S.A Camargo²

¹Universidade de Brasília, FM-Ciências Médicas; ²Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora-MG. E-mail: motagb@gmail.com

Introdução

Na biotécnica de produção *in vitro* de embriões bovinos, dar início aos procedimentos de maturação *in vitro* (MIV) dos CCOs (complexos *cumulus* oócitos) logo após aspiração sem a necessidade de incubadoras ou cilindros de CO₂ é de grande importância, devido às dificuldades de transporte de equipamentos. O objetivo do presente estudo foi avaliar o desenvolvimento *in vitro* de oócitos maturados em TCM199 por 21 horas em banho-maria visando facilitar o procedimento de transporte.

Material e Métodos

Os CCOs aspirados de folículos (3-8mm) de ovários bovinos coletados em abatedouro local, foram selecionados morfológicamente e distribuídos em dois tratamentos: T1(n=166)-MIV em TCM199+10% de soro de vaca em estro

(SVE)+FSH em estufa a 38,5 °C, com 5% de CO₂ por 24h; T2(n=142)-MIV em TCM199+10% de SVE+FSH no interior de criotubos hermeticamente fechados mantidos em banho-maria (38,5°C) por 21h + 3h em estufa com 5% de CO₂. O meio de maturação de T2 foi previamente equilibrado em estufa com 5% de CO₂ e mantido resfriado por 12h em criotubos hermeticamente fechados. Antes do uso, os criotubos foram aquecidos no banho-maria e abertos somente para a introdução dos COCs. Os procedimentos de fecundação (D0) e cultivo *in vitro* foram adaptados de Camargo et al. (2005). As taxas de clivagem (D2) e blastocisto (D8) foram analisadas pelo teste de Qui-quadrado (p<0,05).

Resultados e Discussão

As taxas de clivagem (T1=63,3% e T2=62,7%) e blastocisto (T1=22,3% e T2=20,4%) foram semelhantes (p>0,05) entre os tratamentos. Leivas et al (2004), verificaram que o transporte simulado de COCs em banho-maria por 18h em TCM199 tamponado com HEPES + 6h em estufa, diminuiu a taxa de blastocisto. O equilíbrio prévio do pH do meio com CO₂, eliminando a necessidade do tampão HEPES, realizado no presente trabalho é o provável motivo para os resultados divergentes, uma vez que o HEPES pode ser tóxico às células (Bowman et al., 1985). Dessa forma, o equilíbrio prévio do meio de maturação em CO₂ e seu resfriamento torna possível conduzir a maturação de COCs a 38,5°C sem incubadora por período de 21h sem comprometer o desenvolvimento *in vitro*, facilitando o transporte dos oócitos.

Referências bibliográficas

Camargo LSA, Viana JHM, Sá WF. Developmental competence of oocytes from prepubertal *Bos indicus* crossbred cattle. Anim Reprod Sci, v.85, p.53-59, 2005.
Leivas FG, Brum DS, Mezzalira A. Transporte de oócitos bovinos em meio de maturação sem controle de atmosfera gasosa. Ciência Rural, v.34, p.219-224, 2004.
Bowman CM, Berger EM, Butler EN. HEPES may stimulate cultured endothelial cells to make growth-retarding oxygen metabolites. In Vitro Cell Dev Biol, v.21, p.140-142, 1985.

Palavras-chave: bovino, oócito, maturação.

Keywords: bovine, oocyte, maturation.

092

Desenvolvimento de embriões bovinos oriundos de fertilização *in vitro* (FIV) (Development of bovine embryos coming from *in vitro* fertilization technique (PIV))

M.L.V. Alberto, F. Meirelles, A.R. Galdos, S.A. Freiburger, M.A. Miglino

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de São Paulo – USP/SP. E-mail: miryanlva@usp.br

Introdução

Alves et al. (2003) afirma que a produção *in vitro* de embriões bovinos obteve avanços consideráveis nos últimos anos, e está sendo rapidamente incorporada aos projetos de produção. Estudos afirmam que em animais oriundos de clonagem ou outro procedimento de manipulação as anormalidades placentárias ocorrem com alta incidência tanto no período inicial como no final da gestação (HILL et al.1999), além das anormalidades e retardamento do crescimento embrionário e fetal (BERTOLINI et al. 2004).

Material e Métodos

Utilizamos 20 embriões oriundos da técnica de fecundação *in vitro*. Os blastocistos foram transferidos para as receptoras logo após o protocolo de sincronização do estro, sendo as gestações interrompidas quando os embriões atingiram 24, 28, 32, 36, 40 e 44 dias de idade gestacional. Foram avaliados os parâmetros relativos ao desenvolvimento externo, Crown-Rump (mm) e peso (g) dos embriões. As amostras foram fotografadas e fixadas em solução de Paraformoldeído.

Resultados e Discussão

Observamos que embriões com idade gestacional de 24 dias apresentaram neuróporo cranial fechado, estomodeu, saliência cardíaca evidente e saco vitelino partindo da porção ventral em forma de T, alongado e extremidades de comprimento diferente e aspecto translúcido. Acreditamos que a formação de cabeça, cauda e pregas laterais seja uma seqüência contínua de eventos levando a uma constrição entre embrião e saco vitelino. A partir do 28º dia de gestação inicia-se a formação do cordão umbilical, próximo ao saco vitelino, o qual possuía coloração amarelada e forma enovelada, justaposto ao âmnio.

O embrião passa apresentar focinho (típico da espécie), os brotos dos membros torácicos e pélvicos em forma de pá e suas extremidades bipartidas ao redor dos 40 dias de gestação. Os primórdios das estruturas externas e internas mais essenciais se formam da quarta a oitava semana, sendo este o período mais crítico do desenvolvimento.

Referências bibliográficas

Alves, D. F.; Rauber, L. P.; Rubin, F. B. Desenvolvimento embrionário *in vitro* de oócitos bovinos mantidos em líquido folicular ou TCM-hepes. Brazilian Journal Veterinary Animal Science, v. 40, n. 4, p. 279-286, 2003.
Bertolini, M.; Moyer, A. L.; Mason, J. B.; et al. Evidence of increased substrate availability to *in vitro*-derived bovine foetus and association with accelerated conceptus growth. Reproduction, v. 128, p. 341-354, 2004.
Hill, J. R.; Rousell, A. J.; Cibelli, J. B.; et al. Clinical and pathologic features of cloned transgenic calves and fetus (13 case studies) Theriogenology, v. 51, n. 8, p. 1451-1465, 1999.

Palavras-chave: fertilização *in vitro*, embrião, desenvolvimento.

Keywords: *in vitro* fertilization, embryo, development.

093

Soro fetal bovino versus produção *in vitro* de embriões e acúmulo lipídico citoplasmático (*Fetal calf serum versus in vitro embryo production and cytoplasmatic lipid content*)

M.J. Sudano, D.M. Paschoal, F.D.C. Landim-Alvarenga

DRARV, FMVZ – UNESP. E-mail: mateusjsudano@yahoo.com.br

Introdução

Apesar do soro fetal bovino (SFB) ter propriedades desejáveis, a sua utilização está associado a diversas alterações morfológicas e funcionais do embrião. O objetivo foi testar o efeito da suplementação do SFB sobre a produção *in vitro* de embriões (PIVE) bovinos e o acúmulo lipídico citoplasmático.

Material e Métodos

Ovários de abatedouros foram utilizados para a obtenção dos oócitos que foram maturados *in vitro* em estufa a 5% de CO₂ em ar. Decorridas 18 horas de FIV, em meio HTF-FIV, os possíveis zigotos foram desnudos e transferidos para as placas de cultivo, divididos em grupos: **Grupo 0-0%:** Meio SOFaa + 5% BSA durante todo cultivo *in vitro* (CIV); **Grupo 0-2,5%:** D1- D3 Meio SOFaa + 5% BSA, D4-D7 SOFaa + 5% BSA e 2,5% SFB; **Grupo 0-5%:** D1-D3 Meio SOFaa + 5% BSA, D4-D7 SOFaa + 5% BSA e 5% SFB; **Grupo 0-10%:** D1-D3 Meio SOFaa + 5% BSA, D4-D7 SOFaa + 5% BSA e 10% SFB; **Grupo controle:** Meio SOFaa + 5% BSA e 2,5% SFB durante todo CIV. Os embriões foram cultivados por 7 dias em estufa a 38,5°C com atmosfera 5% O₂, 5% CO₂ e 90% N₂. As taxa de clivagem e de produção de blastocistos foram calculadas a partir do número total de oócitos no dia 3 e 7 respectivamente. No D7 uma amostra dos embriões foi corada com o corante lipofílico Sudan Black B. Para análise estatística utilizou-se ANOVA seguido do Teste de Tukey (P<0,05).

Resultados e Discussão

Tabela 1: Média (erro padrão) dos parâmetros (% Clivagem, % Blastocistos, Estágio de Desenvolvimento Embrionário, Qualidade Embrionária, Gotas Lipídicas Pequenas, Médias e Grandes) dos grupos Controle, 0–0%, 0–2,5%, 0–5%, 0–10%:

Grupos/Parâmetros	Controle	0 - 0%	0 - 2,5%	0 – 5%	0 – 10%
% Clivagem	72,74 (0,40)	84,18 (0,09)	68,46 (0,30)	75,72 (0,22)	81,07 (0,43)
% Blastocisto	32,62 (0,07)	27,27 (0,12)	27,04 (0,28)	30,31 (0,16)	37,13 (0,19)
Estágio de Desenvolvimento	de 5,16 (0,12)	5,01 (0,13)	5,06 (0,12)	4,98 (0,11)	5,21 (0,11)
Qualidade Embrionária	2,80 (0,11)	2,89 (0,11)	2,99 (0,10)	2,78 (0,11)	2,65 (0,11)
Gotas Lipídicas Pequenas (<2µm)	17,78 (1,43) ^a	25,25 (1,63) ^{ab}	26,18 (2,98) ^{ab}	29,33 (2,60) ^b	26,71 (2,73) ^{ab}
Gotas Lipídicas Médias (2-6µm)	9,25 (1,21) ^a	10,50 (0,97) ^a	11,80 (1,18) ^a	10,83 (0,99) ^a	17,13 (0,31) ^b
Gotas Lipídicas Grandes (>6µm)	12,38 (3,02) ^{ab}	7,30 (0,29) ^a	9,00 (1,08) ^{ab}	7,04 (0,97) ^a	14,71 (1,45) ^b

^{ab} Letras sobrescritas incomuns diferem (P<0,05). Número de Réplicas = 8. Estágio de desenvolvimento embrionário: Mórula-4; Blastocisto inicial-5; Blastocisto-6; Blastocisto Expandido-7. Qualidade embrionária: Grau I (excelente)-1; Grau II (regular)-2; Grau III (pobre)-3; Grau IV (degenerado)-4.

Conclui-se que é possível a PIVE sem a suplementação do meio de cultivo com SFB, não afetando as porcentagens de clivagem e de blastocistos, assim como o estágio de desenvolvimento e a qualidade embrionária. Além disso, a suplementação do SFB resulta num maior acúmulo lipídico citoplasmático.

Palavras-Chave: Soro Fetal Bovino, Produção *in vitro* de embriões, acúmulo lipídico citoplasmático, gotas lipídicas.

Key Words: fetal calf serum, *in vitro* embryo production, cytoplasmatic lipid content, lipid droplets.

Agradecimento: FAPESP.

094

Efeito de diferentes doses de FSH na resposta superovulatória de vacas Red Sindi (*Effect of different FSH dosages in the superovulatory response of Red Sindhi cows*)

J.S. Campanati¹, R.R.C. Mello¹, B.P. Carvalho², J.M. Baldrighi³, M.R.B. Mello¹

¹DRAA, IZ, UFRRJ, Seropédica/RJ; ²LRMGA, UENF, Campos de Goytacazes/RJ; ³Médica Veterinária autônoma, Seropédica/RJ. E-mail: jcampanati@hotmail.com

Introdução

Um dos métodos utilizados para melhorar a produtividade do rebanho bovino brasileiro é a biotecnologia da Transferência de Embriões (TE). Para se obter sucesso nesta técnica é necessário aumentar o número de ovulações com intuito de recuperar o máximo possível de embriões transferíveis. No entanto, a superovulação é a etapa menos previsível dentro da

técnica da TE, sendo vários os fatores que podem interferir nos resultados. Sendo assim, este trabalho tem como objetivo avaliar o efeito de diferentes doses de FSH na resposta superovulatória de vacas da raça Red Sindi.

Material e Métodos

Foram utilizadas 11 vacas cíclicas da raça Red Sindi. Foram realizadas 2 repetições com intervalo de 60 dias, sendo 4 animais tratados com 100mg de FSH, 3 com 133mg e 4 com 200mg. O tratamento teve início em dia aleatório do ciclo estral, sendo implantado um dispositivo intravaginal com 1,9g de progesterona e administrado 2mg de benzoato de estradiol, sendo este considerado o dia 0 (D0). No D4 iniciou-se a administração intramuscular (i.m) de FSH em oito doses decrescentes, durante quatro dias consecutivos, com intervalo de 12 horas. Foi aplicada PGF2alfa concomitante com a quinta dose de FSH. Doze horas após a última aplicação de FSH foi administrado 25µg de GnRH. As inseminações artificiais (IA) foram realizadas 12 e 24 horas após o GnRH. No dia da colheita dos embriões foi feita a avaliação da resposta superovulatória por ultra-sonografia dos ovários para detectar o número de corpos lúteos. Os resultados foram analisados pelo teste de Kruskal-Wallis com nível de significância de 5%.

Resultados e Discussão

A porcentagem de resposta ao tratamento superovulatório para as doses de 100, 133 e 200mg de FSH foi de 75%, 100% e 87,5%, respectivamente. Não houve diferença estatística ($P>0,05$) para resposta superovulatória entre as 3 doses de FSH. Em relação ao número médio de corpos lúteos, os tratamentos com 100, 133 e 200mg de FSH proporcionaram, respectivamente, uma resposta de 3,87; 4,67 e 6,62 corpos lúteos por doadora. Não houve diferença estatística ($P>0,05$) entre os tratamentos. BARUSELLI et.al. (2006) avaliando o efeito de diferentes doses de FSH na superovulação de vacas da raça Nelore, também não encontraram diferenças significativas entre as doses de 100,133 e 200 mg. Em conclusão, diferentes doses de FSH não interferiram na resposta superovulatória de vacas da raça Red Sindi.

Referência bibliográfica

Baruselli, P.S.; Sa Filho, M.F.; Martins, C.M., Nasser, L.F., Nogueira, M.F, Barros, C.M., Bo, G.A., Superovulation and embryo transfer in *Bos indicus* cattle, *Theriogenology*, v.65, p.77-88, 2006.

Palavras-chave: Superovulação, Transferência de Embrião, Corpo Lúteo, Bovino.

Keywords: Superovulation, Embryo Transfer, Corpus Luteum, Bovine.

Apoio financeiro: FAPERJ (E-26/170.529/2007).

095

Interferência do folículo dominante no início do tratamento superovulatório em vacas Nelore (*Interference of the dominant follicle at the start of the superovulatory treatment in Nelore cows*)

A.C. Martinez¹, C.O. Abreu¹, R.M.L. Pires², R.H. Alvarez²

¹Laboratório de Criação e Reprodução Animal, Universidade Estadual de Maringá, Campus Umuarama; ²Instituto de Zootecnia de Nova Odessa. E-mail: acmartinez@uem.br

Introdução

Há mais de 50 anos é conhecida a ação das gonadotrofinas para aumentar o número de ovulações. Apesar de ser um tema amplamente investigado, continua sem solução a grande variabilidade da resposta, entre indivíduos e dentro de um mesmo indivíduo, a uma determinada quantidade de gonadotrofinas. Os fatores responsáveis por essa variabilidade são de origem múltiplas e ainda pouco compreendidos. A presença de um folículo dominante no início do tratamento superovulatório pode inibir a resposta a este tratamento ou gerar embriões de qualidade inferior pelo provável nível estrogênico apresentado pelo animal a ser superovulado. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a influência da presença do folículo dominante, no início do tratamento, na resposta superovulatória de vacas da raça Nelore.

Material e Métodos

Foram utilizadas 21 vacas Nelore, que foram tratadas com um dispositivo intravaginal contendo progesterona (CiDR-B[®]) associado a uma injeção im de 3 mg de benzoato de estradiol (Estrogin[®]). Cinco dias após iniciou-se o tratamento superovulatório, com dosagem total de 400 UI de FSH (Pluset[®]), e exame ultra-sonográfico (Scanner 200 Pie Medical) dos ovários dos animais, com a finalidade de observar a presença de folículo dominante (> 10 mm). Este exame foi realizado diariamente até o dia da inseminação artificial. No dia 7, os animais receberam uma dose luteolítica de cloprostenol (Veteglan[®]) e o implante com progestágeno foi retirado. Sete dias após a inseminação, os animais foram submetidos a coleta de embriões e as estruturas recuperadas foram classificadas segundo critérios morfológicos definidos pela IETS (1998). Este tratamento teve três repetições com os mesmos animais, com intervalo de sessenta dias entre as coletas. As diferenças entre os grupos, que apresentaram ou não folículo dominante, relacionados ao número total de embriões, número de embriões viáveis, número de estruturas degeneradas e número de estruturas não fecundadas foram realizadas por análise de variância (PROC GLM).

Resultados e Discussão

Os resultados estão demonstrados na tabela 1.

Tabela 1. Número total de embriões, número total de embriões viáveis, quantidade total de estruturas degeneradas e número total de estruturas não fecundadas, comparadas com a presença ou não de folículo dominante no início do tratamento superovulatório.

Folículo Dominante	Quantidade de Embriões	de Total viáveis	de Embriões Total degeneradas	de Estruturas Estruturas Não fecundadas
--------------------	------------------------	------------------	-------------------------------	---

Presente	6,50 ^a	1,83 ^a	4,33 ^a	0,83 ^a
Ausente	7,00 ^a	2,84 ^a	3,14 ^a	1,04 ^a

Médias seguidas por letras iguais na mesma coluna não diferiram entre si

Os mecanismos que regulam a taxa de ovulação ainda não estão definidos, especialmente em fêmeas monovulatórias, em contrapartida a dominância folicular está melhor elucidada e a ocorrência de folículo dominante é determinada pelo diâmetro que o mesmo apresenta em um certo período. É notório que a presença de folículos grandes determinam uma maior secreção de estrógenos, segundo Kelly et al. (1997), a presença de uma elevada taxa de estrógeno plasmático pode resultar em uma maior taxa de embriões degenerados, entretanto também não foi determinada diferença entre o número de estruturas degeneradas ou não fecundada. Neste experimento não houve alteração na quantidade e qualidade dos embriões recuperados, assim como no número total de estruturas degeneradas ou não fecundadas, relacionadas ou não à presença de um folículo dominante no início do processo superovulatório.

Referência bibliográfica

Kely, P.; Duffy, P.; Roche, J.F.; Boland, M.P. Superovulation in cattle: effect of FSH type and method of administration on follicular growth, ovulatory response and endocrine patterns. *Animal Reproduction Science*, v. 46, p.1-14, 1997.

Palavras chave: embriões, onda folicular, superovulação.

Key words: embryos, follicular wave, superovulation.

096

Uso de prostaglandina em protocolo de IATF de vacas Nelore não-lactantes (*Use of prostaglandin on protocol of timed-AI in non-lactating Nelore cows*)

F.C. Almeida¹, S.A. Almeida², H.S. Passos³, E.V. Nascimento Filho¹, F.J. Almeida Neto⁴ A.M. Batista¹

¹Laboratório de Andrologia, Dept. Medicina Veterinária – UFRPE; ²EMBRAPA Tabuleiros Costeiros; ³Veterinário Autônomo, ⁴ENDAGRO – SE. E-mail: felipecostaa@hotmail.com

Introdução

Em virtude da dificuldade de observação de estro de forma eficaz em rebanhos de corte no Brasil, programas de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) são utilizados com o objetivo de aumentar as taxas de concepção. Entretanto, os custos com o programa de sincronização do estro e ovulação podem ser fatores limitantes para adoção da técnica (Vasconcelos et al., 2006). Objetivou-se com esse trabalho avaliar o efeito do uso de prostaglandina em protocolo de IATF na taxa de prenhez de fêmeas Nelore não-lactantes.

Material e Métodos

Vacas nelore, solteiras, cíclicas e com bom escore corporal (média 3,3) foram divididas em dois grupos: G1= Dia 0 - 12,5mg de PGF2 α (Lutalyse[®], IM), D11 – 1mg de Cipionato de Estradiol (ECP[®], IM) + 12,5mg de PGF2 α , IATF após 56 h (n=15); G2= D0 – CIDR + 2mg de Benzoato de Estradiol (Estrogin[®],IM) + 100mg de Gonadorelina (Profertil[®],IM), D7 – retirada do CIDR + 25mg de PGF2 α , D9 – 100mg de Gonadorelina, IATF após 24 horas (n=9). Após 17 a 25 dias da IATF, as vacas (G1 e G2) foram rufiadas e as que apresentaram estro foram re-inseminadas, enquanto as que não apresentaram estro foram submetidas ao touro no 25^o dia. As fêmeas re-inseminadas foram submetidas ao touro após 17 dias. Usou-se ultrassonografia para diagnóstico de gestação (30, 60 e 120 dias) e o teste Qui-quadrado (5%) para análise estatística.

Resultados e Discussão

As taxas de prenhez não diferiram (P>0,05) após IATF (G1=60,00%; G2=55,00%), inseminação (G1=66,66%; G2=66,66%) e coberturas com o touro (G1=80,00%; G2=100,00%), resultados superiores aos relatados por Pfeifer et al. (2007) utilizando protocolos com PGF2 α e observação de estro, o que pode ser explicado pela diferença na origem da prostaglandina, uma vez que a sintética é metabolizada mais lentamente do que a natural, podendo interferir no trânsito espermático e na taxa de fecundação (Mies Filho, 1987). O protocolo G1 mostrou-se mais econômico e de fácil execução, em relação ao G2. Conclui-se que o protocolo com duas aplicações de prostaglandina, associado ao Cipionato de Estradiol, pode ser utilizado em programas de IATF de vacas Nelore não-lactantes.

Referências bibliográficas

Mies Filho A. Inseminação Artificial. 6^a ed. Porto Alegre: Livraria Sulina Editora, 1987. 409 p.

Pfeifer LFM, Castillo EM, Schneider A, Luz EM, Lucia Júnior T, Dionello NJL, Corrêa MN. Utilização de cloprostenol sódico e benzoato de estradiol em vacas de corte inseminadas em tempo-fixo ou com observação de cio. *Ciênc. Anim. Bras.*, v.8, n.4, p.815-821, 2007.

Vasconcelos JLM, Meneghetti M, Santos RM. Inseminação artificial em tempo fixo (IATF) em bovinos. *Acta Sci. Vet.*, v. 34, Supl.1, p. 9-16, 2006.

Palavras-chave: IATF, vacas não-lactantes, CIDR, PGF2 α .

Keywords: timed-AI, non-lactating cows, CIDR, PGF2 α .

097

Efeito da exposição de oócitos bovinos ao líquido folicular e β -Mercaptoetanol na criotolerância dos embriões

(Effect of bovine oocyte exposure to Follicular fluid and β -mercaptoethanol in embryo cryotolerance)

M.F. Rodrigues, M.C. Gonçalves, L.S.R. Marinho, L.U. Ohlweiler, F.K. Vieira, F. Forell, A. Mezzalira

Universidade do Estado de Santa Catarina–UDESC / Lages SC. E-mail: mezzalira@cav.udesc.br

Introdução

Biocologias como a produção *in vitro* de embriões, dependem de um eficiente método de criopreservação. Todavia, os resultados ainda são pouco consistentes e, portanto, pouco atrativos para a consolidação e difusão da técnica. A criotolerância é influenciada pela qualidade do embrião, determinando que o processo de produção *in vitro* (PIV) seja fundamental na viabilidade pós-vitrificação dessas estruturas. A falta de sincronia entre a maturação citoplasmática e nuclear e a ocorrência de estresse oxidativo são fatores que afetam o desenvolvimento e a qualidade embrionária, com reflexos diretos na criotolerância. Este estudo teve como objetivo avaliar a viabilidade após a vitrificação de embriões PIV, oriundos de oócitos expostos por 6 h ao LF, para permitir maior sincronia na maturação, associado ou não a adição de β -mercaptoetanol (BM), buscando reduzir o estresse oxidativo.

Material e Métodos

Os oócitos foram maturados em um de quatro tratamentos: 1- TCM (24h TCM-199); 2- BM (24h TCM-199 + 100 μ M BM); 3- LF (6h LF + 18h TCM-199); e 4- LF + BM (6h LF + 18h TCM-199 + 100 μ M BM). Todos os oócitos foram submetidos aos mesmos procedimentos de fecundação e cultivo *in vitro*, avaliando-se as taxas de blastocisto. Os blastocistos expandidos de qualidade excelente ou boa, em D7 e D8, foram vitrificados em 20% propileno-glicol + 20% EG e reaquecidos em soluções decrescente de sacarose (0,3 M e 0,15 M, respectivamente). Avaliaram-se as taxas de re-expansão e eclosão, assim como o número de células dos embriões eclodidos. Como testes estatísticos foram utilizados o χ^2 e o teste de Tuckey, com nível de significância de 5%.

Resultados e Discussão

A taxa de clivagem do grupo controle (TCM) foi 77,5%, não diferindo do grupo BM (73,9%). O grupo LF teve 71,0% de clivagem, não diferindo do grupo BM. A menor taxa de clivagem (60,3%) foi verificada no grupo LF+BM, demonstrando o efeito nocivo desta associação. As taxas de blastocistos em D7 mostraram um comportamento semelhante, com 28,3% no grupo TCM, não diferindo do grupo LF (24,2%). O grupo LF+BM (18,1%) teve a menor taxa de blastocistos, não diferindo ($P>0,05$) do grupo BM (22,4%). Após a vitrificação, não houve diferença na taxa de re-expansão (55,5 a 72,2%) entre os tratamentos, tanto para embriões D7 como D8. Todavia, verificou-se maior taxa de eclosão nos embriões vitrificados em D7 (54,2%) em relação ao D8 (37,0%) no grupo TCM, não sendo constatadas diferenças nos demais grupos. Com embriões D7 a melhor taxa de eclosão foi verificada no grupo TCM, que não diferiu do grupo LF (40,3%). A menor taxa foi verificada no grupo LF+BM (33,9%), que não diferiu do BM (35,4%) e do LF. Já os embriões D8 não tiveram diferença na eclosão entre os tratamentos, com 37, 29, 31 e 22,6% para TCM, BM, LF e LF+BM, respectivamente. Não foram observadas diferenças na contagem de células dos embriões D7 ou D8 dos diferentes tratamentos (com média entre 112,5 \pm 9,2 a 134,8 \pm 12 células). Conclui-se que a exposição ao LF associada ou não a suplementação com BM no meio de maturação, não melhora o desenvolvimento embrionário, a qualidade embrionária ou a criotolerância de embriões PIV. Ainda, embriões PIV vitrificados em D7 ou D8, apresentam um comportamento distinto na criotolerância.

Palavras-chave: líquido folicular, vitrificação, embrião, antioxidante, maturação *in vitro*.

Keywords: follicular fluid, vitrification, embryo, antioxidative, *in vitro* maturation.

098

Morfologia do corno uterino bovino e sua relação com o local de inovação (*Morphology of bovine uterine horn and its relation to the place of embryo deposition*)

J.S.P. Pieroni¹, M.E.F. Oliveira¹, M.F. Cordeiro¹, A.A. Teixeira³, C.A. Rodrigues², C. Cruz¹,

M.R.F. Machado¹, P.H. Franceschini¹

¹ FCAV-UNESP- Jaboticabal-SP, ² SAMVET- São Carlos-SP, ³FMVZ-USP- São Paulo-SP. E-mail: jupieroni@yahoo.com

Introdução

Embora haja controvérsias quanto ao local da deposição do embrião no momento da transferência embrionária (TE) (Mcnaughtan et al., 2002), não se verificou diferença na taxa de concepção, de embriões inovulados nas porções cranial, média e caudal do corno uterino ipsilateral ao corpo lúteo (CL) (Pieroni et al., 2008). Com a finalidade de subsidiar esses dados, objetivou-se analisar e comparar a morfologia dessas porções uterinas verificando a ocorrência de fatores morfofuncionais que possam interferir no ambiente uterino no momento da TE.

Material e Métodos

Nove novilhas mestiças, sincronizadas pela administração de 150 μ g de d-cloprostenol, foram abatidas entre o 6º e 8º dia do ciclo estral, simulando uma receptora de embrião no dia da TE. Fragmentos das porções craniais, médias e caudais do corno uterino ipsilateral (ICL) e contralateral ao CL (CCL) foram colhidos e submetidos às técnicas de histologia e microscopia eletrônica de varredura (MEV). A análise foi realizada pelo SAS (teste de Tukey).

Resultados e Discussão

Verificou-se mediante análise histológica padrão morfológico similar em todas as porções uterinas avaliadas. O

endométrio apresentou epitélio cilíndrico simples ciliado e não ciliado intercalado com áreas de pseudoestratificado. No tecido sub-epitelial de ambos os cornos uterinos notou-se grande quantidade de glândulas endometriais. Não se observou diferença na quantidade de vasos sanguíneos no corno ICL ($P>0,05$). No entanto, comparando-se a vascularização de cada porção dos dois cornos, constatou-se menor vascularização na porção cranial e caudal do corno CCL em relação ao ICL (Tabela 1). Por meio da MEV não foi observada diferença entre as três porções uterinas analisadas tanto do lado adjacente quanto do lado oposto ao CL. A superfície epitelial revelou-se revestida por células secretoras e em menor quantidade por células ciliadas. Dessa forma, tanto a análise histológica quanto a de MEV confirmaram a hipótese de que os embriões podem ser involuados em qualquer local do corno uterino ipsilateral ao CL.

Tabela 1. Contagem de vasos sanguíneos (média \pm erro padrão), de acordo com as porções craniais, médias e caudais do corno uterino ipsilateral e contralateral ao corpo lúteo.

	Porção do útero		
	Cranial	Média	Caudal
Ipsilateral ao CL	130,98 \pm 4,64 ^a	126,09 \pm 4,64	119,91 \pm 4,64 ^a
Contralateral ao CL	93,65 \pm 4,64 ^b	120,67 \pm 4,64	71,11 \pm 4,64 ^b

Letras maiúsculas distintas em uma mesma coluna diferem significativamente entre si, com $P<0,01$.

Referências bibliográficas

Mcnaughtan J.W.; Silcox R.W.; Lingard S.; Coates S. The effect of prostaglandin inhibitor rates of heifer embryo transfer recipients. *Theriogenology*, v.57, p.551, 2002.

Pieroni, J.S.P.; Teixeira, A.A.; Oliveira, M.E.F.; Ferreira, R.M.; Franceschini, P.H. Influência do local de inovação sobre a taxa de concepção após transferência de embriões frescos e congelados, produzidos *in vivo*. *Acta Scientiarum Veterinariae*, v.36, p.579, 2008.

Palavras-chave: Morfologia uterina, transferência de embrião, bovinos.

Keywords: Uterine morphology, embryo transfer, bovines.

099

Taxa de concepção à primeira inseminação artificial com sêmen sexado ou convencional em vacas mestiças leiteiras (*Rate conception the first artificial insemination with sexed semen or conventional in dairy cows*)

B.T. Gerhardt¹, S.S. Duboc², V.P. Dias², I.L. Goulart¹, A.P. Dourado¹, L.A.G. Nogueira¹, P.A.M. Alves³

¹Universidade Federal Fluminense; ²Médico Veterinário; ³PESAGRO-RJ, E-mail: bruna_gerhardt@ig.com.br

Introdução

Atualmente o sêmen sexado através da citometria de fluxo vem sendo utilizado em larga escala e pode vir a viabilizar a inseminação artificial (IA) em muitos sistemas de produção, porém ainda apresenta muitos obstáculos a serem vencidos. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a taxa de prenhez com uso do sêmen sexado, comparando esta ao uso do sêmen convencional, em vacas mestiças leiteiras.

Materiais e Método

O experimento foi realizado na Estação Experimental Seropédica da Pesagro-RJ. Foram utilizadas 55 fêmeas mestiças leiteiras ciclando. Os animais do experimento foram inseminados com sêmen convencional ou sexado, do mesmo touro, 12h após a observação do cio e aplicação de GnRH. O grupo controle (sêmen convencional) foi formado por 26 animais (13 novilhas e 13 vacas) e o grupo experimental (sêmen sexado) por 29 animais (14 novilhas e 15 vacas). Na análise dos dados foi utilizado o Qui-quadrado.

Resultados e Discussão

A taxa de prenhez a primeira IA comparando os grupos foi de 17,2% ($n=5/29$) para o Sêmen Sexado e 53,8% ($n=14/26$) para o sêmen convencional ($p<0,05$). Uma das causas para a diminuição da fertilidade do sêmen sexado seria o menor tempo de viabilidade após a IA, associado com diferentes padrões de motilidade (Schenk et al., 2006). Segundo Lu et al. (2004) o sêmen sexado necessita de menor tempo para a capacitação, o que poderia favorecer a IA próximo ao momento da ovulação. Lopez (2005) acredita que a separação lenta dos SPTZ na sexagem pode causar algum estresse e dano ao sêmen. Nas condições que foi realizado este trabalho o sêmen convencional apresentou resultado superior, sugerindo adequação no momento da IA com o sexado.

Referências bibliográficas

López D. Sincronización de Celo, Sexado de Semen, Transferencia de Embriones: Por qué y Para qué en un Sistema de Cria. Aspectos Claves. Jornada de Actualización Técnica Ganadera Ganadería con precisión. Región Centro de AACREA, CREA Calamuchita, FAV UNRC y SRRC; 2005.

Lu KH, Seidel JR GE. Effects of heparin and sperm concentration on cleavage rates of bovine oocytes inseminate with flow-cytometrically-sorted bovine sperm. *Theriogenology*, v.62, p.819-830. 2004.

Schenk JL, Suh TK, Seidel JR. Embryo production from superovulated cattle following insemination of sexed sperm. *Theriogenology*, v.65, p.299-307, 2006.

Palavras chaves: sêmen sexado, inseminação artificial bovino.

Keywords: sexed semen, artificial insemination bovine.

100

Diferentes tempos de exposição e meios para transporte de ovócitos bovinos (*Different exposition times and transportation media on bovine oocytes*)

G.M. Santos; E.P. Costa, E.C.M. Pereira, J.R.M. Almeida Neto, R.J.O. Arroyo, G.G. Macedo, S.L.Costa, F.G.Lopes, M.C. Dias, V.L.D. Queiroz

Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Medicina Veterinária, Viçosa, MG. E-mail: epcosta@ufv.br

Introdução

Para a produção “in vitro” de embriões (PIV), o laboratório necessita de condições especiais de cultivo, como a presença de atmosfera com 5% de CO₂. Adicionalmente, o ovócito recém aspirado reinicia imediatamente o processo de divisão meiótica, independente das condições do meio de manutenção. Diante disto, a composição deste meio, utilizado para o transporte ovocitário desde a aspiração folicular até o laboratório, pode interferir nos resultados de PIV. O objetivo do presente trabalho foi avaliar, em ovócitos de bovinos, o efeito na taxa de maturação nuclear *in vitro* de dois diferentes meios de transporte e tempos de manutenção.

Material e Métodos

Foram utilizados 268 complexos *cumulus-ovócitos*, distribuídos em quatro tratamentos, com três repetições para cada tratamento. Foram testados dois meios de transporte em dois tempos diferentes (duas e oito horas), cuja composição foi a seguinte: Talp-Hepes segundo Bavister et al. (1983); Talp-Hepes modificado, acrescido de 10 µg/mL de FSH e 0,0454 mM de Piruvato de Sódio. Após o tempo de exposição, os ovócitos foram submetidos a cultivo *in vitro* para posterior avaliação da taxa de maturação nuclear.

Resultados e Discussão

Taxa de maturação nuclear de acordo com cada tratamento para ovócitos imaturos de bovinos.

Tratamento ¹	%MII (N)	%MI (N)	%Degenerados (N)	Total (N)
T1	84,7 (50)	10,2 (6)	5,1 (3)	59
T2	81,3 (52)	12,5 (8)	6,3 (4)	64
T3	72,2 (52)	16,7 (12)	11,1 (8)	72
T4	82,2 (60)	11,0 (8)	6,8 (5)	73

¹Não houve diferença entre os tratamentos (P>0,05) pelo teste do qui-quadrado.

T1, T2 correspondem ao meio Talp-Hepes em tempo de 2 e 8 horas, respectivamente. T4 e T5 ao Talp-Hepes modificado.

Observou-se expansão das células do *cumulus*, independente do tipo de meio ou do tempo de manutenção (2 ou 8 horas). Isto ocorre pela indução da expressão de muitos fatores essenciais, dentre esses, o ácido hialurônico, o qual tem capacidade hidrofílica, promovendo a retenção de água e, conseqüentemente, causando essa expansão. Não houve diferenças na taxa de maturação nuclear, independente do tipo de meio de manutenção, após o cultivo “*in vitro*”. Adicionalmente, não houve incremento na taxa de maturação ovocitária, com a adição de FSH, o qual tem papel importante na regulação da maturação (Gilchrist e Thompson, 2007) e de piruvato, estimulante da maturação nuclear dos ovócitos (Lim *et al.*, 1999).

Referências bibliográficas

Bavister, B.D.; Ball, G.D.; Leibfried, M.L. et al. Factors affecting successful *in vitro* fertilization of bovine follicular oocytes. *Biol. Reprod.*, v. 28, p.717-725, 1983.

Gilchrist, R.B.; Thompson, J.G. Oocyte maturation: emerging concepts and technologies to improve developmental potential *in vitro*. *Theriogenology*, v.67, p.6-15, 2007.

Lim, J.M.; Lee, B.C.; Lee, E.S.; Chung, H.M.; Ko, J.J.; Park, S.E.; Cha, K.Y.; Hwang, W.S. *In vitro* maturation and *in vitro* fertilization of bovine oocytes cultured in a chemically defined, protein-free medium: effects of carbohydrates and amino acids. *Reproduction Fertility and Developmental*, v.11, p.127-132, 1999.

Palavras-chave: Maturação *in vitro*, ovócitos, bovinos.

Keywords: *in vitro* maturation, oocytes, bovine.

101

Influência da idade de doadoras da raça Gir leiteiro na produção *in-vitro* de oócitos e embriões (*Influence of donor age Gir dairy breed production in vitro of oocytes and embryo*)

M.B.D. Ferreira^{1,5}, B.C. Lopes², A.B. Vasconcelos³, C.P. Barbosa³, S.H.A. Ribeiro¹, J.M. Garcia⁴

¹ EPAMIG; ² FAZU/Uberaba-MG; ³UNIUBE; ⁴ DMVPRA-FCAV-UNESP, Jaboticabal-SP; ⁵UNESP/Jaboticabal. BolsistaFAPEMIG. E-mail: brandao@epamiguberaba.com.br

Introdução

A Produção *in vitro* de embriões bovinos (PIV) é uma biotécnica de interesse econômico, que possibilita a obtenção de

fêmeas de valor genético superior (BARUSELLI et al., 2006; CAMARGO et al., 2006). A raça Gir é responsável por grande fração de gens melhoradores da subespécie zebuína no rebanho leiteiro mestiço. Este trabalho teve o objetivo de quantificar a produção de oócitos, embriões e prenhez obtidas pela PIV de vacas Gir e avaliar o efeito da idade da doadora sobre estas respostas.

Material e Métodos

O trabalho foi desenvolvido na EPAMIG Uberaba/MG, com 42 doadoras da raça Gir com produção média de 3.880 kg de leite no controle oficial ABCZ, aspiradas entre os meses de setembro e abril da estação 2007/2008. Os oócitos recuperados viáveis foram maturados *in vitro* e fecundados com sêmen sexado de touros Gir. O diagnóstico para prenhez foi efetuado aos 63 dias após a inovulação. As análises estatísticas foram realizadas utilizando os procedimentos GLM e REG do pacote SAS em arranjo fatorial do número de oócitos por aspiração, número médio de embriões resultantes por aspiração e número de prenhez após inovulação.

Resultados e Discussão

As 100 aspirações realizadas em 8 datas, nas 42 vacas, resultaram na recuperação de 1.861 oócitos, com média por doadora de $18,54 \pm 12,8$ estruturas. O cultivo dos oócitos na PIV resultou na média de $38,9 \pm 25,3\%$ embriões em relação aos oócitos recuperados. A idade da vaca afetou o percentual de embriões transferidos ($p < 0,05$), com diminuição de 1,5% de estruturas transferidas em relação aos oócitos aspirados, para cada ano a mais na idade da vaca. A frequência de prenhez não foi influenciada por nenhum dos fatores avaliados. A taxa de prenhez obtida para as 693 inovulações foi de $33,2 \pm 26,2\%$, resultando em 277 gestações. A porcentagem de prenhez em relação aos oócitos aspirados das vacas Gir foi $13,4 \pm 13,8\%$. O número de oócitos aspirados foi influenciado pela idade da doadora ($p < 0,001$), ocorrendo uma queda de 1,58 estruturas por ano de idade da vaca, e ocorrendo a partir dos 12 anos uma queda mais acentuada de 1,8 estruturas por ano de vida ($p < 0,05$).

Referências Bibliográficas

Baruselli, P. S., Sá Filho, M. F., Martins, C. M. et al. Superovulation and embryo transfer in *Bos indicus* cattle. *Theriogenology*, v. 65, p.77-88, 2006.

Camargo, L. S. A., Viana, J.H.M., Sá, W. F. et al. Factors influencing in vitro embryo production. *Animal Reproduction Science*, v. 3, p.19-28, 2006.

Palavras-chave: vaca, ovócito, fertilização, múltipara, zebu.

Keywords: cow, oocyte, fertilization, multiparous, zebu.

102

Transporte de oócitos bovinos expostos ao herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) durante o período de maturação em ovidutos bovinos *in vitro* (*Oocytes bovine transport exposed to bovine herpesvirus type 1 (BoHV-1) during maturation period in vitro bovine oviduct*)

D.L. Pavão¹, M.L. Batista¹, M.M. Piccolomini¹, A.C. Goes¹, M.D. Angelo¹

¹Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Sanidade Animal - Instituto Biológico - São Paulo - Brasil. E-mail: danipavao@yahoo.com.br

Introdução

A necessidade de maiores esclarecimentos sobre interações oócitos-patógenos levou-nos a elucidar a interação do vírus BoHV-1 com oócitos maturados *in vitro* (MIV), para uma possível avaliação do potencial de risco de transmissão desse agente infeccioso pela técnica de Fertilização *in vitro* (FIV). O processo de captação e transporte de oócitos pelo oviduto depende da qualidade dos gametas femininos (Talbot et al., 2003). Tendo em vista que o BoHV-1 causa alterações morfofisiológicas em oócitos (D'Angelo et al., 2008; Ferreira, 2003), o objetivo desse estudo foi avaliar, em modelo experimental de oviduto *in vitro*, se o patógeno interfere no transporte de oócitos, utilizando-se como parâmetro para essa avaliação a porcentagem de recuperação oocitária.

Material e Métodos

Foram colhidos ovidutos e oócitos de ovários bovinos provenientes de vacas em abatedouro. Os ovidutos foram dissecados, lavados e colocados em placas de Petri. Nas porções anteriores do infundíbulo foram inseridos oócitos MIV controles ou expostos ao vírus ($10^{5.5}$ TCID₅₀/ml) e, logo após, submersos em 100ml de meio de maturação. Cada placa foi incubada em estufa de CO₂ a 5%, 39°C e 90% de umidade. Após esse período foram introduzidos nos infundíbulos, por meio de uma sonda de infusão intramamária, 40 ml de meio de lavagem acrescido de 1% de soro fetal bovino. O efluente de cada oviduto foi coletado separadamente e avaliado em estereomicroscópio, para a recuperação e a contagem dos oócitos.

Resultados e Discussão

Para o grupo controle, a porcentagem de recuperação foi de 13,4% (29/217), já no grupo infectado com vírus, a recuperação oocitária foi de 23,8% (51/214). Os resultados preliminares mostram que o grupo de oócitos exposto ao vírus apresentou maior porcentagem de recuperação em relação ao grupo controle. Provavelmente, as alterações morfofisiológicas de oócitos contaminados causem distúrbios em sua condução, interferindo no processo de liberação dos mesmos. É relevante a preocupação em esclarecermos a implicância de tal fato em relação à taxa de recuperação dessas estruturas embrionárias em ovidutos bovinos, já que, além da transmissão, poderia também afetar os processos de FIV.

Referências bibliográficas

D'Angelo M, Visintin JA, Richtzenhain LJ, Gonçalves RF. Evaluation of Trypsin Treatment on the Inactivation of Bovine Herpesvirus Type 1 on *in vitro* Produced Pre-implantation Embryos. *Reprod. Dom. Anim.* 2008 Oct 22. (Epub ahead of print).

Ferreira CYMR. Infectividade de estirpes do Herpesvírus bovino tipo 1 em óocitos e culturas de células epiteliais de ovidutos bovinos. 2003. 68f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Jaboticabal, 2003.

Talbot P, Shur BD, Myles DG. Cell adhesion and fertilization: steps in oocyte transport, sperm-zona pellucida interactions, and sperm-egg fusion. *Biology of Reproduction*, v.68, p. 1-9, 2003.

Palavras-chave: óocitos bovinos, ovidutos bovinos, transporte, BoHV-1.

Keywords: bovine oocytes, bovine oviducts, transport, BoHV-1.

103

Diferentes estímulos ovulatórios na indução de ciclicidade de novilhas *Bos indicus* (*Different ovulatory stimulus to induce cyclicity in *Bos indicus* heifers*)

M.F. Sá Filho¹, R. Prestes², A.G. Medalha², H. Ayres¹, P.S. Baruselli¹

¹FMVZ/USP, São Paulo-SP, Brasil; ²FIRMASA-IATF, Campo Grande-MS, Brasil. E-mail: manoelsa@usp.br

Introdução

Resultados anteriores demonstram que é possível induzir a ciclicidade de novilhas Nelore com a utilização de dispositivo intravaginal de progesterona (CIDR[®]) mais benzoato de estradiol (Sá Filho et al., 2006). Dando seqüência aos estudos, procurou-se avaliar diferentes tipos de estímulos ovulatórios no protocolo de indução de puberdade de novilhas *Bos indicus*.

Material e Métodos

Foram utilizadas 480 novilhas Nelore não cíclicas [útero atônico e ausência de corpo lúteo (CL) por ultrasonografia] 40 dias antes da estação de monta (EM). As novilhas foram distribuídas homogeneamente em quatro grupos. O Grupo Controle (Controle) não recebeu nenhum tratamento. O Grupo CIDR (CIDR) recebeu um CIDR previamente utilizado por 24 dias durante 10 dias. Os Grupos CIDR-BE e CIDR-ECP receberam o mesmo tratamento do Grupo CIDR, adicionando-se 1mg de benzoato ou 0.5mg de cipionato de estradiol na retirada do dispositivo, respectivamente. As fêmeas foram reavaliadas no início da EM verificando-se a presença de CL (indução de ciclicidade) e o ECC (ECC40). Os dados foram analisados pelo PROC GLMIX através de contrastes ortogonais, observando-se os efeitos de: 1) utilização ou não do CIDR; 2) associação ou não de estrógeno ao tratamento (CIDR vs. CIDR-BE + CIDR-ECP) e 3) tipo do estradiol (BE vs. ECP). A resposta aos tratamentos foram analisadas de acordo com a idade, o ECC0, bem como a mudança do ECC entre o ECC0 e o ECC40.

Resultados e Discussão

Os resultados dos tratamentos e da mudança do ECC entre o ECC0 e o ECC40 na indução de ciclicidade estão apresentados no Gráfico 1 e 2. Verificou-se, também, que as novilhas que apresentavam menor ECC0 ($\leq 2.75=55,5\%$; 141/254) obtiveram menor resposta ao tratamento ($P<0.0001$) que novilhas com maior ECC0 ($\geq 3.00=77,9\%$; 102/131). A idade das fêmeas alterou a resposta, sendo que as novilhas mais velhas (>24 meses= $72,6\%$; 119/164) apresentaram maior resposta ($P=0,03$) que as mais jovens (≤ 24 mês = $56,1\%$; 124/221).

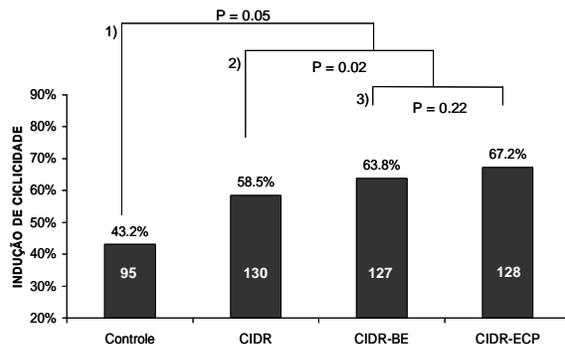


Gráfico 1- Efeito do protocolo de indução.

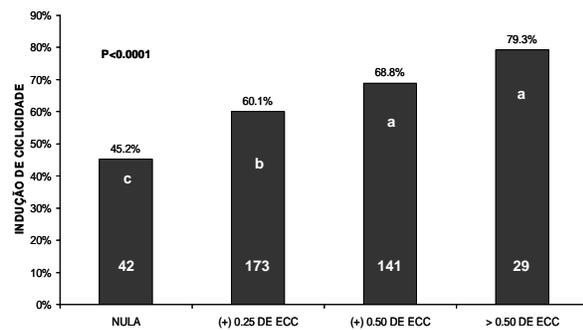


Gráfico 2- Efeito da mudança do ECC.

Conclui-se que o protocolo com CIDR induz ciclicidade, sendo esta aumentada pela adição de estógeno. O ECC0, a mudança de ECC e a idade da novilha tratada influenciam na resposta.

Referências bibliográficas

Sá Filho MF, et al. Efeito da indução de ciclicidade com dispositivo intravaginal de progesterona na taxa de concepção a inseminação artificial em tempo fixo em novilhas Nelore. *Acta Sci. Vet.* v.34. p.403, 2006.

Palavras-chave: progesterona, estradiol, puberdade e *Bos indicus*.

Keywords: progesterone, estradiol, puberty and *Bos indicus*.

104

Avaliação das taxas de concepção em programa de IATF com vacas Nelore na região Sul-Fluminense (*Evaluation of conception rates in a FTAI program with Nelore cows in the Sul-Fluminense region*)

G.H. Barbosa¹, J. Almeida^{1,2}, O.A. Resende¹, C.A.B. Silva¹

¹Centro Universitário de Barra Mansa-UBM, BM, RJ, ²Universidade Federal Rural Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. E-mail: jacialmeida01@yahoo.com.br

Introdução

Os protocolos de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) visam regular o crescimento das ondas foliculares, a função do corpo lúteo e o momento da ovulação. No Brasil, atualmente empregam-se nesses protocolos principalmente os hormônios progestágenos, prostaglandinas seus análogos e o estradiol. O objetivo foi avaliar as taxas de concepção, efeitos dos períodos e inseminadores em um programa de IATF em vacas Nelore, usando eCG.

Material e Métodos

Foram utilizadas 62 vacas da raça Nelore PO com ECC 3 e 4 (1 a 5), sendo examinados por palpação retal e ultrasonografia e diagnóstico de concepção aos 30 dias por ultra-som. Utilizou-se o protocolo: D0 - introduzido o implante intravaginal de P₄ + 2mL BE (im); D8 - retirada do implante e administração de 2 mL de PGF₂α + 2 mL de eCG, (ambos im); D9 - administração de 1mL BE (im). A IA foi realizada no D10, entre 12h e 18h. Foram usados sêmens de 14 touros Nelore e as vacas foram inseminadas por 2 técnicos, sendo os dados agrupados em 4 períodos (GI - 07/12/07, GII - 8/01/08, GIII - 28/02/08 e GIV - 12/06/08).

Resultados e Discussão

Os valores da avaliação do programa de IATF em 62 fêmeas resultaram em 35 prenhez (56,5%), sendo encontradas para os períodos GI, GII, GIII e GIV, taxas de prenhez de 66,7, 71,4, 30 e 36,4% respectivamente, sendo significativas às diferenças entre os primeiros (GI e GII) e os últimos períodos (GIII e GIV). Esses resultados são considerados normais e satisfatórios. Sendo as médias de concepção geral e dos dois primeiros períodos superiores aos resultados de Alvares et al. (2007), que obtiveram 45,7, 44,5 e 43,9% e similares aos obtidos por Baruselli et al. (2004), que verificaram taxas de 63,8 e 69,6%, em vacas tratadas e não tratadas com eCG. As diferenças entre inseminadores (63 e 50%) não foram significativas e as taxas relativas aos touros não foram analisadas estatisticamente em face de grande amplitude de variação, com baixas frequências para diversos touros.

Referências bibliográficas

Alvares, C.T.G.; Del Rei, A.J.; Bartolomeu, C.C.; Ferraz, P.C.; Souza, G.S.; Silva Filho, N.M. Taxa de prenhez a partir da inseminação artificial em tempo fixo após sincronização da ovulação com dispositivo intravaginal reutilizado após armazenamento por um período de 24 meses. *Acta Scientiae Veterinariae* 35(Suplemento 3): 2007

Baruselli, P.S.; Reis, E.L.; Marques, M.O.; Nasser L.F.; Bó, G.A. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrous beef cattle in tropical climates. *Animal Reproduction Science*. v.82, p.479-486, 2004.

Palavras-chave: Bovinos. IATF. Taxa de prenhez.

Keywords: Bovines. FTAI. Pregnancy rates.

105

Células tronco embrionárias derivadas de blastocistos bovinos e caracterização da sua pluripotência *in vitro* (*Embryonic stem-like cells derived from bovine blastocysts and characterization of their pluripotency in vitro*)

E.R.L. Freitas^a, B.V. Sanches^b, M.L. Gambarini^b, B.D. Oliveira Filho^b, L.A. Guillo^a

^aInstituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás; ^bDepartamento de Produção Animal, Universidade Federal de Goiás. E-mail: guillo@icb.ufg.br

Introdução

Células tronco embrionárias (ES) são obtidas da massa celular interna (ICM) de embriões no estágio de blastocisto. São células pluripotentes, que podem ser mantidas em cultura indefinidamente como células indiferenciadas, ou induzidas a se diferenciar em células das três camadas germinativas, tendo grande potencial em terapias celulares (Thomson et al., 1998). Métodos para a obtenção *in vitro* de células ES de embriões murinos são bem estabelecidos (Bryja et al., 2006). Porém, é importante que células ES sejam isoladas de outros animais, como bovinos, contribuindo assim para melhor entendimento da biologia dessas células. Uma vantagem para o uso de embriões bovinos consiste na sua fácil obtenção. Portanto, o presente estudo foi realizado com o objetivo de se obter células ES da ICM de blastocistos bovinos e caracterizar a sua pluripotência.

Materiais e Métodos

Foram usados 17 embriões no estágio de blastocisto expandido (BL1) e 14 no estágio de blastocisto eclodido (BL2), doados pela In Vitro do Brasil Ltda. Todos os 31 blastocistos frescos foram imediatamente seccionados para a remoção mecânica da ICM. As ICMs isoladas foram imediatamente transferidas para uma placa de cultura, contendo uma

monocamada de fibroblastos embrionários murinos (MEF) mitoticamente inativados e mantidas na presença de meio α -MEM (Invitrogen, USA) com 1000 U/ml de fator inibitório de leucemia humano (LIF; Esgro, USA); 15 % (v/v) soro fetal bovino (Hyclone; Logan, USA); 0,1 mM de 2-mercaptoetanol (Invitrogen, USA); 50 U/ml de penicilina, a 37°C com 5% de CO₂. Após cinco dias o meio foi trocado, sendo que as trocas subsequentes foram realizadas de dois em dois dias até alcançar o décimo dia, quando foi realizada a dissociação mecânica das colônias. As células foram caracterizadas quanto a expressão de transcritos de indiferenciação (Oct-4 e STAT-3) e transcritos de diferenciação (Flk-1 e GATA-4) por RT-PCR e o produto analisado em gel de agarose 1,5%.

Resultados e Discussão

Após o quinto dia de cultivo, 18 das 31 ICMs haviam aderido, sendo que, seis tiveram a ICM expandida, formando colônias, as quais no décimo dia foram dissociadas mecanicamente e transferidas para uma nova monocamada de MEF. Dessas seis ICMs, uma deu origem a uma linhagem de células com morfologia semelhante a células ES bovinas como descrito por Mitalipova et al. (2001). Observou-se que essa linhagem se manteve no estado indiferenciado por aproximadamente 60 dias, suportando seis subcultivos. Verificou-se por RT-PCR apenas a expressão dos transcritos de indiferenciação (Oct-4 e STAT-3), confirmando os resultados sobre a morfologia dessas células. Os resultados obtidos contribuem para os estudos de proliferação *in vitro* de ES bovinas. Experimentos futuros serão realizados com esse modelo animal, com o objetivo de otimizar a técnica de derivação, para estender o tempo de cultivo das células ES bovinas. Esses estudos podem contribuir futuramente para a aplicação de células tronco embrionárias em terapia celular.

Referências bibliográficas

Bryja V, Bonilla S, Arenas E. Derivation of mouse embryonic stem cells. Nat Protoc, 1:2082-7, 2006.

Mitalipova M, Beyhan Z, First NL. Pluripotency of bovine embryonic cell line derived from precompacting embryos. Cloning, 3:59-67, 2001.

Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS, Jones JM. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. Science, 282:1145-1147, 1998.

Palavras-chave: embrião; potência celular; cultura celular; vaca, massa celular.

Keywords: embryo; cell potency; cell culture; cow, cell mass.

Fontes de Financiamento: MS/CNPq n° 552593/2005-2.

106

Capacidade ovulatória e diâmetro médio de folículos de vacas Nelore submetidas ao GnRH associado ou não ao Acetato de Melengestrol (*Ovulatory capacity and average follicle diameter of Nelore cows submitted to GnRH associated or not to Acetate of Melengestrol*)

V.J. Andrade¹, J.E.J. Murta², J.A.M. Martins¹, L.L. Emerick¹, P.A.R. Silva¹, F.A.C. Patrício¹,

V.R. Vale Filho¹, S.R. Reis¹

¹EV-UFG, ²DCA-UNIMONTES, bolsista FAPEMIG. E-mail: jardimmurta@hotmail.com

Introdução

As Progestinas, entre elas o Acetato de Melengestrol (MGA), têm sido usadas como método eficiente na indução e sincronização da ovulação em vacas de corte; entretanto, podem aumentar ou inibir a frequência pulsátil de LH, promovendo a formação de folículos persistentes ou bloquear sua liberação pela hipófise. O objetivo deste experimento foi avaliar a capacidade ovulatória e diâmetro de folículos de vacas Nelore submetidas ao GnRH associado ou não ao Acetato de Melengestrol.

Material e Métodos

Utilizaram-se dois grupos (G1, n=29 e G2, n=31) de vacas da raça Nelore, múltiparas, lactantes, classificadas por idade (8,18±1,84 anos) e escore de condição corporal (3,0±0,5 em escala de 1 a 5). No G1 foi aplicado, via intramuscular (região da garupa), análogo do GnRH (100 µg Gonadorelina) e no G2, tratamento similar G1, diferindo pela utilização de Acetato de Melengestrol (MGA) no sal mineral (0,05 mg de MGA/vaca/dia). Avaliações ultrasonográficas (Aloka SSD 500, transdutor retal de 5,0 MHz) do aparelho reprodutor das fêmeas, realizadas nos dias zero (d0 = dia da aplicação do análogo do GnRH) e sete (d7 = sete dias após GnRH) objetivaram identificar e mensurar o diâmetro dos folículos ovarianos. Para as análises estatísticas (média, coeficiente de variação e desvios padrão) utilizaram-se recursos computadorizados do pacote estatístico (SAS) e para a dispersão de frequências (vacas que ovularam), o teste do Qui-quadrado ao nível de significância de 5%.

Resultados e Discussão

A medida ultrasonográfica do maior folículo presente nos ovários no d0 revelou diâmetro médio igual a 1,16±0,31 cm e 1,04±0,29 cm, respectivamente, nos grupos G1 e G2 (p<0,05). A presença de corpos lúteos, identificados por ultrasonografia no d7, revelou ovulação na proporção de 29,8 % (8/31) e 30,03 % (9/29), respectivamente nos grupos G1 e G2 (p<0,05). Experimento conduzido por Sartori et al (2001) observou que a inibição na concentração circulante de LH, promovida pelo tratamento com Progesterona, não alterou o momento ou diâmetro necessários para a divergência folicular e concluíram haver necessidade de aquisição de capacidade ovulatória pelo folículo, corroborando com os resultados apresentados. Conclui-se que a provável redução na concentração plasmática de LH devido ao tratamento com Progestinas não altera o diâmetro folicular e a taxa de ovulação, nas condições.

Referências bibliográficas

Satori, R, Fricke, P.M, Ferreira, J.C.P, Ginter, O.J, Wiltbank, M.C, Follicular deviation and acquisition of ovulatory capacity in bovine follicles. *Biology of Reproduction*, n. 65, p. 1403-1409, 2001.

Palavras-chave: Foliculo, ovulação, Nelore, GnRH, Progestágenos.

Keywords: Follicles, ovulation, Nelore, GnRH, Progestagens.

107

Luteólise antecipada em protocolo de IATF com progesterona (*Early luteolysis in TAI protocol with progesterone*)

C.H. Pereira, C.S. Gottschall, R.C. Mattos, G.G. Evangelista, B.V. Costa e Silva, L. Canellas, M.I.M. Jobim², R.M. Gregory

Laboratório de Reprodução Animal – REPROLAB- Universidade Federal do Rio Grande do Sul –Porto Alegre, RS, Brasil / Curso de Medicina Veterinária – ULBRA – Canoas, RS, Brasil. E-mail: carol_hpe@hotmail.com

Introdução

O objetivo do presente trabalho foi verificar se a aplicação de um luteolítico antes da retirada do dispositivo intravaginal de progesterona (P4) aumenta a taxa de prenhez na inseminação artificial em tempo fixo (IATF) de vacas com cria ao pé em comparação com protocolos de IATF tradicionais que utilizam o luteolítico na ocasião da retirada de P4. Conforme Carvalho et al.(2008) o luteolítico no dia do início da sincronização pode aumentar a taxa de concepção à IATF em novilhas.

Material e Métodos

Foram utilizadas 200 vacas da raça Montana com cria ao pé, distribuídas em dois grupos. O grupo D6,5 (n=100) recebeu no dia zero 2mg de benzoato de estradiol i.m. (BE, Estrogin®) + implante de P4 de 1º uso (n=49, Primer®) ou 2º uso (n=51, Sincrogest®). No dia 6,5 os animais receberam 150 mcg i.m. de cloprostenol sódico (Sincrocio®), sendo a retirada do implante P4 no dia 8. No dia 9, ocorreu a aplicação de 1 mg de BE i.m. e no dia 10 a IATF. O grupo D8 (n=100) recebeu no dia zero 2 mg de BE i.m. + implante de P4 de 1º uso (n=52, Primer®) ou 2º uso (n=48, Sincrogest®). No dia 8, os animais receberam 150 mcg de cloprostenol sódico (Sincrocio®), juntamente com retirada do implante de P4. No dia 9, ocorreu a aplicação de 1 mg de BE i.m. e dia 10 a IATF. O diagnóstico de gestação foi realizado 47 após a inseminação. Foi realizada análise estatística através do método Qui-quadrado.

Resultados e Discussão

As taxas de prenhez dos lotes D6,5 e D8 foram, respectivamente, de 53,4% e 46,6% não diferindo significativamente (p=0,250). Ao passo que Peres (2008), comparando estes protocolos em vacas Nelore amamentando e com presença de corpo lúteo, obteve diferença significativa (p>0,05) nas taxas de prenhez. No lote D6,5 não houve diferença significativa (p=0,975) nas taxas de prenhez dos implantes de 1º e 2º uso (49,2% e 50,8%). No lote D8 também não houve diferença significativa (p=0,573) nas taxas de prenhez dos implantes de 1º e 2º uso (54,5% e 45,5%).

Referências bibliográficas

Carvalho, J.B.; Carvalho, N.A.; Reis, E.L.; Nichi, M.; Souza, A.H.; Baruseli, P.S. Effect of early luteolysis in progesterone-based timed AI protocols in *Bos indicus*, *Bos indicus* x *Bos taurus*, and *Bos taurus* heifers. *Theriogenology*. v. 69; p. 167-75, 2008.

Peres, R.F.G. Efeito da concentração pré e pós ovulatória de progesterona em protocolos de IATF em fêmeas nelore. São Paulo: Botucatu, 2008. Dissertação (Mestrado)

Palavras-chave: vacas, prenhez, IATF

Keywords: cows, pregnancy, TAI

108

Efeito da eCG sobre a formação do corpo lúteo de novilhas Nelore e Holandesas (*Effect of eCG on corpus luteum formation in Nelore and Holstein heifers*)

L.U. Gimenes¹, P. Fantinato Neto², C.L.V. Rodriguez³, J.R.V. Pimentel¹, A. Kehrle¹, M. Nichi¹, P.S. Baruselli¹

¹Depto Reprodução Animal – FMVZ – USP – Brasil; ²Laboratório de Biometeorologia e Etologia – FZEA – USP – Brasil; ³Universidad de Tolima – Colômbia. E-mail: ligimenes@usp.br e barusell@usp.br

Introdução

O objetivo do presente estudo foi verificar o efeito da eCG (0 ou 400 UI) e da raça (Nelore ou Holandesa) sobre o desenvolvimento final do foliculo dominante e a formação do CL.

Material e Métodos

Em dia aleatório do ciclo estral (D0), dez novilhas Nelore (NE) e dez Holandesas (HO) receberam uma dose de 2mg de benzoato de estradiol (Gonadiol®) associada à inserção de implante auricular de norgestomet (Crestar®). No momento da remoção dos implantes (D8), todas receberam uma dose de prostaglandina (Preloban®) e, simultaneamente, foram divididas (5 novilhas de cada raça) para receber 0 ou 400 UI de eCG (Novormon®). Após 48 horas (D10), os animais receberam uma dose de GnRH (Fertagyl®). Foram realizados exames ultrassonográficos a partir da retirada do implante, a cada 12 horas até a detecção da ovulação. A partir do D14, estes exames compreenderam intervalos de 2 dias até o D21, para o acompanhamento do CL. Os dados foram analisados pelo PROC REG e PROC GLM dos SAS.

Resultados e Discussão

Não houve interação entre tratamento e raça para as variáveis analisadas, exceto tendência para taxa de ovulação (**TOV**; 60,0%^b NE s/ eCG; 100,0%^a NE c/ eCG; 100,0%^a HO s/ eCG e 80,0%^b HO c/ eCG; P=0,08). Contrariamente ao esperado, não se verificou efeito do tratamento com eCG em nenhuma das variáveis observadas (eCG x Controle, respectivamente): diâmetro do folículo dominante no D10 (**FD D10**; 13,7±1,1 vs. 13,8±1,2; P=0,93); diâmetro do folículo ovulatório (**FOV**; 14,6±1,2 vs. 15,9±0,8; P=0,33); taxa de crescimento do folículo ovulatório em mm/h (**TXFOV**; 0,07±0,03 vs. 0,05±0,03; P=0,45); momento da ovulação após a retirada do implante (**MOV**; 75,0±3,8 vs. 72,0±2,3; P=0,68); diâmetro do CL no D14 (**CLD14**; 15,0±1,0 vs. 15,6±0,8; P=0,77); diâmetro do CL no D21 (**CLD21**; 21,5±1,0 vs. 22,7±1,3; P=0,73) e taxa de crescimento do CL em mm/dia (**TXCL**; 0,87±0,13 vs. 0,93±0,12; P=0,83). Quanto ao efeito de raça (Holandês x Nelore, respectivamente), houve tendência somente para **TXFOV** (0,10^a±0,03 x 0,02^b±0,02; P=0,06); **MOV** (70,0^b±3,5 x 78,0^a±0,0; P=0,09) e **CLD21** (23,4^a±1,1 x 20,6^b±0,9; P=0,09). Estes dados corroboram com os resultados de um recente estudo sobre sincronização de novilhas *Bos indicus* e *Bos taurus* (Carvalho et al., 2008). As outras variáveis analisadas não apresentaram efeito significativo e estão relacionadas a seguir: **FD D10** (13,7±1,1 x 13,8±1,2; P=0,93); **FOV** (14,8±1,1 x 15,7±0,9; P=0,47); **CLD14** (15,5±0,8 x 15,1±1,0; P=0,70) e **TXCL** (1,00±0,10 x 0,78±0,13; P=0,26). Conclui-se que a eCG não afetou a dinâmica folicular e do CL de novilhas Nelore e Holandesas. Adicionalmente, verificou-se tendência de maior taxa de crescimento do folículo ovulatório, redução no intervalo retirada do implante-ovulação e maior diâmetro do CL 21 dias após a inserção do implante em novilhas Holandesas em relação as Nelore.

Referências bibliográficas

Carvalho JBP, Carvalho NAT, Reis EL, Nichi M, Souza AH, Baruselli PS. Effect of early luteolysis in progesterone-based timed AI protocols in *Bos indicus*, *Bos indicus* x *Bos taurus*, and *Bos taurus* heifers. *Theriogenology*, v.69, p.167-175, 2008.

Palavras-chave: eCG, CL, Nelore, Holandês.

Keywords: eCG, CL, Nelore, Holstein.

Agradecimentos: À Tortuga Companhia Zootécnica Agrária pelo sal mineral (Fosbovi Reprodução® e Núcleo Reprodução Boi Verde®), à Intervet Schering-Plough pelos hormônios, às fazendas Sta Adele e São Caetano, à PCAPS, ao VRA, ao VNP e ao HOVET.

109

Development of bovine embryos cultured with media containing glucose (*Desenvolvimento de embriões bovinos cultivados em meios com glicose*)

R. Machado^{1,2}, S. Sirishatien², H. Hernandez-Fonseca², B.G. Brackett²

¹Embrapa Pecuária Sudeste/CNPq.; ²Dept. of Physiology and Pharmacology, College of Vet. Medicine, The University of Georgia. E-mail: ru@cppse.embrapa.br

Introduction

Blastocyst (BL) expansion and blastocoel formation are coupled with increase in the glucose (GLU) metabolism, which is higher in morphologically normal than in degenerate embryos (Rieger et al., 1992). This study aimed to determine the dose level and duration of addition of GLU to culture medium that ensures the best results in development of in vitro produced bovine embryos.

Material and Methods

The study was carried out in the IVF Laboratory of the Dept. of Physiology and Pharmacology of the College of Vet. Med., The University of Georgia, USA. Procedures of oocyte recovery, incubation, in vitro maturation, sperm preparation, IVF and in vitro culture (IVC) as well as all formulae employed are described in Keskinetepe et al. (1995). 182 cumulus-oocyte complexes were handled. Experimental groups were: Tc- control; T_I – addition of 1.5mM of D-glucose (dGLU) in IVC medium (mSOF) between 18h and 48h post-insemination (pi); T_{II} –3.0mM of dGLU in mSOF 18-48h pi; T_{III} – 1.5mM of dGLU in mSOF 18-72h pi; T_{IV} –3.0mM of dGLU in mSOF 18-72h pi; T_V –4.5mM of dGLU in mSOF 18-72h pi. Cleavage rates (CR) were recorded and embryos assessed at days 7 and 9 pi. Differences were assessed through χ^2 analysis.

Results and Discussion

CR for T_I (21/24 =87.5%) did not differ from T_{II} (09/11 = 81.8%) but was higher (P<.05) as compared to other groups. CR of Tc (40/63; 63.5%), T_{II}, T_{III} (15/30; 50.0%), T_{IV} (16/20; 80.0%) and T_V (26/34; 76.5%) did not differ (P>.05) amongst each other. BL recovery on Day-7 was similar (P>.05) for Tc (10BL; 25%), T_I (9BL; 42.8%), T_{II} (3BL; 33.3%), T_{III} (3BL; 20%) and T_{IV} (3BL; 18.7%). However, Day-7 development of T_V embryos was retarded (2 BL; 7.7%). T_I tended (P<.10) to produce more (12; 57.1%) hatched (HB) or HB-expanded blastocysts (XB) on Day-9 than Tc (1BL+11HB+1XB; 32.5%), T_{II} (3HB+1XB; 44.4%), T_{III} (4HB+1XB; 33.3%), T_{IV} (3HB; 18.7%) and T_V (1HB+1XB; 7.7%). In conclusion, GLU in the concentrations and intervals studied did not impair cleavage and 1.5 or 3.0mM of GLU in mSOF between 18-48h pi had positive effect on cleavage and tended (P<.10) to improve the production of blastocysts.

References

Keskinetepe, I.; Burnlay, C.A.; Brackett, B.G. Production of viable bovine blastocysts in defined in vitro conditions. *Biology of Reproduction*, v. 52, p.1410-1417, 1995.
Rieger, D.; Loskutoff, N.M.; Betteridge, K.J. Developmentally related changes in the metabolism of glucose and

glutamine by cattle embryos produced and co-cultured in vitro. Journal of Reproduction & Fertility, v. 95, p.585-595, 1992.

Key-words: Bovine, embryos, cleavage, culture medium, glucose.

Palavras-chave: Bovino, embriões, clivagem, meio de cultura, glicose.

110

Sexagem e taxa de gestação obtidas após a inovação de embriões bovinos FIV das Raças Nelore e Brahman (*Sexing and rate of pregnancy obtained after IVF of bovine embryos in ovulation of Nelore and Brahman*)

M.F. Mota¹, E. Demczuk², R.R. Lee³, A. Pinto-Neto⁴, F.Z. Brandão⁵

¹Medicina Veterinária-UNIPAR, Umuarama-PR.; ²Estro Forte Fertilidade Animal Ltda, Umuarama-PR; ³Graduando Medicina Veterinária UFF, Niterói-RJ; ⁴Mestrado Ciência Animal-UNIPAR; ⁵Medicina Veterinária-UFF. E-mail: mfalcimota@yahoo.com.br

Introdução

A produção de embriões bovinos *in vitro* tem se difundido rapidamente entre profissionais e criadores pela velocidade significativa à pressão da seleção, aumentando a produtividade de animais geneticamente comprovados. De um total superior a 210 mil embriões oriundos da fertilização *in vitro* (FIV), no ano de 2007, a raça Nelore participou com mais de 150 mil e a raça Brahman com mais 26 mil, sendo essas as raças que mais utilizaram essa biotecnologia. No entanto, alguns autores relatam que existe um desvio na proporção de machos e fêmeas nascidos da FIV (Pegoraro, 1997). Diante desses relatos, pretende-se com esse estudo avaliar a sexagem e a taxa de gestação obtida a partir da inovação de 1670 embriões FIV às receptoras, sendo 1446 inovações oriundas de embriões da raça Nelore e 224 da raça Brahman.

Material e Métodos

As receptoras foram sincronizadas em tempo fixo utilizando-se um dispositivo intra-vaginal de progesterona (Estro Forte^R) que foi colocado no dia zero, quando também se administrou 2mg de estradiol (Estro Forte^R). Ao sétimo dia o implante foi retirado, aplicado prostaglandina (Veteglan^R – 2mL) e no oitavo dia, aplicou-se 1mg de estradiol (Estro Forte^R) e 500UI de hCG (Vetecor^R). No oitavo dia após a aplicação do hCG, o corpo lúteo ovariano foi detectado e avaliado, sendo o embrião inovulado no corno uterino ipsilateral, através da técnica não cirúrgica. O exame ultrassonográfico transretal foi realizado entre os 55-65 dias da inovação, objetivando a sexagem e o diagnóstico de gestação.

Resultados e Discussão

A taxa de gestação encontrada foi de 39,07% (565/1446) e 46,43% (104/224) para animais da raça Nelore e Brahman, respectivamente. Ao se considerar o sexo, 21,99% (318/1446) e 27,68% (62/224) foram machos e 17,08% (247/1446) e 18,75% (42/224) fêmeas, das raças Nelore e Brahman, respectivamente. Bousquet et al. (1999) obtiveram 56,80% de embriões machos, sexados por PCR, 37,50% de embriões fêmeas e 5,70% de embriões sem sexo conhecido. Machado et al. (2008) relataram que a diferença na proporção de embriões macho:fêmea tornam-se mais evidente ao longo do desenvolvimento embrionário até o dia 15, em que 72% dos embriões foram do sexo masculino e 28% do sexo feminino, sem se observar diferença em relação ao tamanho desses embriões.

Referências bibliográficas

Bousquet, D. et al. In vitro embryo production in the cow: an effective alternative to the conventional embryo production approach. *Theriogenology*, v.51, p.59-70, 1999.

Machado, G.M. et al. Cultivo embrionário in vitro pós-eclosão até D15: desenvolvimento e sexo de embriões bovinos. *Acta Scientiae Veterinariae*, v.36(2), 2008.

Pegoraro, L.M.C. Efeito das condições de cultivo sobre a proporção macho: fêmea e a congelabilidade dos embriões bovinos produzidos in vitro. 1997. Tese (Doutorado). Centro de Biotecnologia, Universidade Federal de Pelotas-RS, 1997.

Palavras-chave: bovino, embrião, FIV, Nelore, Brahman.

Keywords: bovine, embryo, IVF, Nelore, Brahman.

111

Taxa de prenhez de embriões bovinos tardios transferidos no dia 8 de cultivo (*Pregnancy rate of later bovine embryos transferred in day eighth of culture*)

M. Andreoti¹, M.R. Spegiorin^{1,4}, C.F.A. Cunha¹, M.S. Cordeiro², N.N. Costa², C.A.G Pellegrino³, A.C. Basso¹

¹Laboratório de Fecundação *In Vitro* In Vitro Brasil Ltda; ²Laboratório de Fecundação *In Vitro* – UFPA; ³Central de Transferência Cauembryo Ltda; ⁴Escola de Veterinária – UFMG. E-mail: magna@invitrobrasil.com.br

Introdução

Trabalhos relacionados à transferência de embriões bovinos no oitavo dia após fecundação *in vitro* são escassos uma vez que estes, normalmente, são transferidos no sétimo dia de cultivo em função, principalmente, do estágio de desenvolvimento dos mesmos. Entretanto, na rotina comercial de alguns laboratórios, é comum o descarte de embriões, que apresentam desenvolvimento tardio, pela morfologia de difícil classificação no momento da transferência. Sendo

assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a taxa de prenhez de embriões que alcançaram o estágio de blastocistos somente no oitavo dia de cultivo.

Materiais e Métodos

Foram utilizados dados do Laboratório In Vitro Brasil Ltda, filial Minas Gerais, e da central de vacas receptoras Cauêmbryo, ambas situadas na fazenda Vista Alegre, Funilândia, Minas Gerais. A coleta de dados compreendeu o período de Dezembro de 2008 a Fevereiro de 2009 e incluiu embriões de várias raças (Gir, Guzerá, Nelore, Holandês, Pardo Suíço e Girolando). Os embriões não selecionados para transferência no dia 7 (D7) foram recolocados nas mesmas placas de cultivo in vitro. Apenas blastocistos expandidos ou eclodidos considerados de boa qualidade (Grau I, segundo manual da International Embryo Transfer Society) foram transferidos no dia 8 (D8). Todos os embriões (D7 e D8) foram transferidos em receptoras mestiças com bom escore corporal e cujo ciclo estral estava sincronizado entre os dias 5 e 9 pós cio. O diagnóstico de gestação foi realizado com auxílio de ultrassom Aloka 500 e transdutor de 5,0 MHz, 35 dias após transferência dos embriões. Os resultados de prenhez foram submetidos a Análise de Variância (pós teste Bonferroni com 5% de significância).

Resultados e Discussão

No trigésimo quinto dia após transferência de embriões foram diagnósticas 288 prenhez (42,99%) dos 670 embriões transferidos no sétimo dia de cultivo. Já os embriões transferidos no oitavo dia apresentaram uma taxa de 32,63%, ou seja, dos 95 embriões transferidos foram diagnosticadas 31 prenhez (Tabela 1). Apesar da redução significativa observada na taxa de prenhez a transferência de embriões produzidos *in vitro* no D8 pode ser viável dependendo do interesse e valor econômico dos embriões.

Tabela 1. Taxa de prenhez dos embriões transferidos no sétimo e oitavo dia após fecundação *in vitro*.

Dia da TE	Número de TE	DG 35 dias (%)
D7	670	288 (42,99%) ^a
D8	95	31 (32,63%) ^b

DG = diagnóstico de gestação

TE = transferência de embrião

^{a,b}= Sobrescritos diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística (p< 0,05)

Palavras-chave: Produção *in vitro*, transferência de embrião, bovinos.

Keywords: In vitro production, embryo transfer, bovine.

112

Efeito de sucessivas superovulações em vacas da raça Red Sindi inseminadas em tempo fixo (*Effect of successive superovulation in Red Sindhi cows inseminated at fixed time*)

B.P. Carvalho¹, J.S.Campanati², R.R.C. Mello², J.M. Baldrighi³, A.J.B. Dias¹, M.R.B. Mello²

¹LRMGA, UENF; ²IZ, DRAA, UFRRJ; ³Médica Veterinária autônoma. E-mail: penarural@yahoo.com.br

Introdução

A utilização da transferência de embriões (TE) em bovinos como uma biotécnica da reprodução capaz de multiplicar o potencial reprodutivo de animais zootecnicamente superiores, é de validade indiscutível. Contudo, estudos que mostram a influência de sucessivas superovulações nos resultados desta técnica em vacas Red Sindi são escassos. Sendo assim, o objetivo deste estudo foi avaliar a influência de repetidas superovulações em vacas Red Sindi inseminadas em tempo fixo.

Material e Métodos

Utilizou-se 6 vacas da raça Red Sindi, que foram superovuladas 4 vezes consecutivas com intervalo de 60 dias entre cada rodada, sendo chamadas de SOV1, SOV2, SOV3 e SOV4. O tratamento teve início em dia aleatório do ciclo estral, sendo implantado um dispositivo intravaginal com 1,9g de progesterona e administração intramuscular (i.m.) de 2mg de benzoato de estradiol, sendo este considerado o dia 0 (D0). No D4 iniciou-se a administração i.m. de FSH (Folltropin-V®) com dose variando entre 100 e 200 mg, em oito aplicações decrescentes, durante quatro dias consecutivos, com intervalo de 12 horas. Foi aplicada PGF2alfa junto com a quinta dose de FSH. Doze horas após a última aplicação de FSH foi administrado 25µg de GnRH. As inseminações artificiais (IA) foram realizadas 12 e 24 horas após o GnRH. No dia da colheita dos embriões foi feita a avaliação ultrassonográfica dos ovários para detectar o número de corpos lúteos presentes bem como contabilizados o número total de estruturas recuperadas e número de embriões congeláveis obtidos. Foi realizada a análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott com nível de significância de 10%.

Resultados e Discussão

As médias, seguidas do erro padrão, do número de corpos lúteos obtidos na SOV1, SOV2, SOV3 e SOV4 foram respectivamente: 5,0 ± 0,58; 5,5 ± 1,15; 5,0 ± 1,39; 3,0 ± 1,0. Em relação ao total de estruturas recuperadas as médias, seguidas do erro padrão de SOV1, SOV2, SOV3 e SOV4 foram, respectivamente: 1,83 ± 0,79; 1,83 ± 0,40; 1,66 ± 1,40; 0,16 ± 0,16. Quanto ao número de embriões congeláveis foram obtidas as seguintes médias, seguidas do erro padrão em SOV1, SOV2, SOV3 e SOV4, respectivamente: 1,5 ± 0,56; 1,3 ± 0,49; 1,3 ± 0,95; 0,16 ± 0,16. Os resultados mostram uma redução dos parâmetros analisados a partir da quarta superovulação, sendo observada diferença significativa (P<0,10)

entre as três primeiras superovulações e a quarta em relação ao número de embriões congeláveis. Estes resultados corroboram os encontrados por Baruselli et al. (2008), que mostraram uma redução de aproximadamente 30% no total de embriões transferíveis a partir da quarta superovulação consecutiva em vacas Nelore.

Referências bibliográficas

Baruselli, P.S.; Martins, C.M.; Sales, J.N.S.; Ferreira, R.M. Novos avanços na superovulação de bovinos. *Acta Scientiae Veterinariae*, 36 (Supl. 2): s433-s448, 2008.

Palavras-chave: Bovino, superovulação, Sindi.

Keywords: Bovine, superovulation, Sindhi.

113

Sazonalidade da taxa de ovulação e de concepção após protocolo de inseminação artificial em tempo fixo em vacas leiteiras mestiças (*Seasonality of ovulation and conception rates after timed AI in crossbred dairy cows*)

R.M. Santos, C.F. Barbosa, N. Bortoletto, M. Melo Junior, I.M. Queiroz, J.O. Jacomini

Faculdade de Medicina Veterinária – Universidade Federal de Uberlândia. E-mail: ricasantos@famev.ufu.br

Introdução

A eficiência reprodutiva é um dos fatores que mais contribui para melhorar o desempenho e a lucratividade dos rebanhos leiteiros. A sincronização da ovulação e a inseminação artificial em tempo fixo (IATF) têm sido usadas em bovinos visando tornar o manejo reprodutivo mais eficiente, corrigindo os problemas de falha de detecção de cio. Porém diferentes formas de estresse podem levar à falha da ovulação, um fator importante a ser considerado ao se avaliar causas de infertilidade em rebanhos leiteiros (LOPEZ-GATIUS et al., 2005). O objetivo foi avaliar os efeitos da variação sazonal na taxa de ovulação e de concepção ao protocolo de IATF.

Material e Métodos

Vacas leiteiras mestiças da Fazenda Experimental do Glória, da Universidade Federal de Uberlândia, foram submetidas ao seguinte protocolo (n = 196): Dia 0 – aplicação de 2 mg de cipionato de estradiol (ECP) + inserção de dispositivo intravaginal de progesterona (CIDR); Dia 7 – aplicação de 12,5 mg de Dinoprost; Dia 9 – retirada do CIDR e aplicação de 1 mg de ECP. As vacas que manifestaram cio foram inseminadas 12 horas após e as demais foram inseminadas 48 horas depois da aplicação do ECP. Reutilizou-se cada CIDR por até 2 vezes. A taxa de ovulação ao protocolo foi avaliada pela presença de corpo lúteo (CL) ao exame de ultrassom, entre 7 e 14 dias após a inseminação. Utilizou-se o teste não paramétrico para avaliar a taxa de ovulação e concepção, foram incluídos no modelo os efeitos de estação do ano.

Resultados e Discussão

A taxa de ovulação foi de 90,3%, semelhante aos resultados obtidos por Demétrio et al. (2007) em vacas Holandesas puras. Não foi detectado efeito da estação do ano na taxa de ovulação, diferindo dos resultados encontrados por Lopez-Gatius et al. (2005), que observaram falhas de ovulação de 3,4% em estações com temperaturas ambientais até 25°C e 12,4% quando as temperaturas foram superiores a 25°C. Foi detectado efeito da estação do ano (P<0,05) na taxa de concepção. A concepção foi maior nos meses de outono (40,0%) e inverno (41,8%) e menor nos meses de primavera (27,7%) e verão (20,8%), mostrando que vacas mestiças também sofrem os efeitos negativos do estresse térmico.

Referências Bibliográficas

Lopez-Gatius, F., Lopez Bejar, M., Fenech, M., Hunter, R.H.F. Ovulation failure and double ovulation in dairy cattle: risks factors and effects. *Theriogenology* v.63, p.1298 - 1307, 2005.

Demétrio, D.G.B., Santos, R.M., Demétrio, C.G.B., Vasconcelos, J.L.M. Factors Affecting Conception Rates Following Artificial Insemination or Embryo Transfer in Lactating Holstein Cows. *J. Dairy Sci.*, v. 90, p. 5073 - 5082, 2007.

Palavras-chave: sincronização, progesterona, vacas de leite.

Keywords: synchronization, progesterone, dairy cows.

Apoio: FAPEMIG (APQ-1601-5.04/07).

114

O papel da ciclohexamida e roscovitina no bloqueio meiótico em oócitos bovinos (*The role of cyclohexamide and roscovitine on bovine oocyte meiotic arrest*)

P.H.B. Risolia¹, M.G. Marques¹, M.P. Milazzotto², J.M. Merli¹, M.E.O.A. Assumpção¹, J.A. Visintin¹, F.F. Paula-Lopes³

¹Departamento de Reprodução Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo-SP, Brasil; ²Centro de Ciências Naturais e Humanas, Universidade Federal do ABC, Santo André-SP, Brasil;

³Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Federal de São Paulo, Diadema-SP, Brasil. **E-mail:** ffpaulalopes@yahoo.com

Introdução

O desenvolvimento de modelos *in vitro* utilizando oócitos em vesícula germinativa (VG) é de difícil abordagem, pois a coleta dos oócitos de folículos antrais induz a progressão espontânea até o estágio de metáfase II (MII) (Pincus e Enzmann, 1935). Dessa forma são necessárias ferramentas farmacológicas como a ciclohexamida (CHX: inibidor de

síntese protéica) e a roscovitina (ROSC: inibidor da subunidade catalítica p34^{cdc2} do fator promotor da fase M) para bloquear a progressão meiótica. Experimentos foram realizados para avaliar (1) a proporção de oócitos VG imediatamente após a coleta dos oócitos de folículos antrais; (2) o efeito da suplementação do meio de coleta de oócitos com CHX no bloqueio meiótico e (3) a dose de ROSC no bloqueio meiótico por 12 horas.

Material e Métodos

Ovários de animais oriundos de abatedouro foram submetidos à técnica de fatiamento folicular para coleta dos complexos cumulus-oócito (CCOs). No primeiro experimento os CCOs foram coletados na presença de 0 ou 10µg/mL de CHX. Em seguida, os CCOs foram desnudos e processados para coloração com aceto-orceína para avaliação da proporção de oócitos VG (0 hora de cultivo). Foram realizadas 6 réplicas utilizando 190-210 oócitos por tratamento. No segundo experimento os CCOs coletados na presença de 10µg/mL de CHX foram cultivados na presença de 0; 6,25; 12,5; 25; 50; 100 ou 200µM de ROSC por 12 horas. Em seguida os oócitos foram processados para coloração com aceto-orceína. Foram realizadas 4 réplicas utilizando 73-134 oócitos por tratamento. Os dados foram submetidos à análise de variância pelo método dos quadrados mínimos utilizando o programa estatístico SAS.

Resultados e Discussão

A suplementação do meio de coleta de oócitos bovinos com 10µg/mL de CHX aumentou ($P < 0,05$) a proporção de oócitos VG de $47 \pm 3,82\%$ no grupo controle para $66,44 \pm 3,82\%$ no grupo tratado com CHX. No segundo experimento, as concentrações de 25 ($P = 0,07$), 50, 100 e 200µM de ROSC ($P < 0,05$) aumentaram a porcentagem de oócitos VG quando comparadas ao controle. Conclui-se que a CHX e ROSC promovem a eficiência do bloqueio meiótico de maneira dose-dependente.

Referências bibliográficas

Pincus G e Enzmann EV. The comparative behavior of mammalian eggs in vivo and in vitro. I. The activation of ovarian eggs. *J Exp Med*, v. 62, p. 665-675, 1935.

Palavras-chave: ciclohexamida, roscovitina, oócito, bovino, bloqueio meiótico.

Keywords: cyclohexamide, roscovitine, bovine, oocytes, meiotic arrest.

115

Inovulação de embriões em receptoras com diferentes sincronias em relação à doadora em um programa de TETF (*Embryos inovulations with different synchrony between recipient and donor in a fixed time embryo transfer program*)

A.S. Rodrigues, A.L. Ribeiro Filho, M. Chalhoub, L.V. Vasconcelos, D.F.C. Pereira, L.M. Pinheiro, L.M.C. Feitosa, A.A.B. Silva, A.L. Gusmão, J.V.L. Oliveira

Escola de Medicina Veterinária – UFBA, Salvador-BA, 40170-110, Brasil. E-mail: alexandravet_19@yahoo.com.br

Introdução

A transferência de embriões (TE) é uma biotécnica que permite que um ou mais embriões sejam recolhidos e transferidos do trato reprodutivo da doadora para o da receptora, a qual deverá levar a gestação a termo (Jainudeen et al., 2004). Inúmeros fatores influenciam a taxa de gestação das receptoras, tal qual, a sincronia doadora-receptora (Looney et al., 2006). O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência do dia da inovulação sobre a taxa de concepção de receptoras de embriões bovinos em um programa de TETF.

Material e Métodos

Para realização deste trabalho, em dia aleatório do ciclo estral (D0), 155 fêmeas nulíparas mestiças *Bos taurus* x *Bos indicus*, previamente avaliadas e consideradas aptas à reprodução, receberam um dispositivo intravaginal de progesterona (SINCROGEST, Ouro Fino, São Paulo, Brasil) associado a 2mg de Benzoato de Estradiol i.m. (ESTROGIN, Farmavet, São Paulo, Brasil). No Dia 5 esses animais foram tratados com 300U.I. de eCG i.m. (NOVORMON, Shering Plough, São Paulo, Brasil) e 500µg de Cloprostenol (SINCROCIO, Ouro Fino, São Paulo, Brasil). No Dia 8 os dispositivos intravaginais foram retirados e finalmente no Dia 9 os animais receberam 1,0mg de Benzoato de Estradiol i.m. Os embriões foram produzidos por múltiplas ovulações e transferidos à fresco. No dia da inovulação as receptoras foram alocadas em um de dois tratamentos de forma equilibrada levando em consideração o escore de condição corporal. No Grupo TE-D17 (n=91) as inovulações foram realizadas no 17º dia do protocolo de sincronização e no Grupo TE-D18 (n=64) as inovulações foram realizadas no 18º dia do protocolo de sincronização. O diagnóstico de gestação foi realizado por ultrassonografia 30 dias após a inovulação dos embriões. A análise estatística foi realizada utilizando-se o teste do Qui-quadrado (χ^2) disponível no pacote estatístico SAS.

Resultados e Discussão

De um total de 155 receptoras 53 ficaram prenhes, perfazendo uma taxa de concepção (TC) geral de 34,19%. As TCs foram de 35,16% (32/91) para o Grupo TE-D17 e 32,81% (21/64) para o Grupo TE-D18. Não houve diferença estatística nas TCs entre os grupos experimentais ($P = 0,76$). Esses resultados diferem dos obtidos por Looney et al. (2006), que verificaram uma redução na TC quando as inovulações foram realizadas no 18º dia do protocolo. Entretanto, os resultados obtidos no presente experimento, demonstram que houve uma correspondência entre o estágio de desenvolvimento embrionário e o estágio do ciclo estral em que as receptoras se encontravam no momento da inovulação, sugerindo que há uma flexibilidade em relação ao dia da inovulação, 17º ou 18º dia do protocolo de sincronização, para receptoras bovinas sincronizadas com o objetivo de transferência de embriões em tempo fixo.

Referências bibliográficas

Looney CR, Nelson JS, Schneider HJ, Forrest DW. Improving Fertility in the Beef Cow Recipients Theriogenology, v.65, p.201-209, 2006.

Jainudeen MR, Wahid H, Hafez ESE. Indução da Ovulação, Produção e Transferência de Embriões. In: Hafez, E.S.E.; Hafez, B. (ed.). Reprodução Animal. Rio de Janeiro: Manole, 2004. p.409-434.

Palavras-chave: Bovinos, sincronia doadora-receptora, transferência de embrião.

Keywords: Cattle, donor-recipient synchrony, embryo transfer.

116

Inseminação artificial em tempo fixo utilizando sêmen sexado em novilhas leiteiras (*Fixed-time artificial insemination using semen sexed in dairy heifers*)

D.S. Menezes¹, L.P. Barbosa², L.E.P. Martins¹, B.M. Cardoso Neto¹, P.A. Dutra¹, E.F.S. Farias¹, R.L. Oliveira¹, R.S. Souza¹

¹Universidade Federal da Bahia – UFBA, Salvador/BA; ²Universidade Federal do Recôncavo da Bahia – UFRB, Cruz das Almas/BA. E-mail: lpres73@yahoo.com.br

Introdução

A inseminação artificial é uma das principais biotecnologias da reprodução. Contudo, existe baixa taxa de serviço em bovinos inseminados, principalmente em decorrência de falha na detecção do estro, o que pode ser resolvida em parte pelo uso da Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF). Associado à técnica de IATF, a utilização de sêmen sexado mostrou-se uma alternativa para o incremento da produtividade bovina. Desta forma, objetivou-se avaliar horários diferentes para realização da IATF, usando sêmen sexado em novilhas leiteiras.

Material e Métodos

Foram utilizadas 32 novilhas mestiças, com idade média de 24 meses e peso médio de 300kg. No dia 0 foi colocado o implante vaginal com 750mg de progesterona (P₄) e aplicação de 3mg de benzoato de estradiol (BE). No dia 8 foi retirado o implante de P₄ e aplicado 0,530mg de prostaglandina F_{2α} e 300U.I. de gonadotrofina coriônica equina. No dia 9, os animais receberam 1mg de BE. Após o dia 9, os animais foram distribuídos aleatoriamente em 4 grupos, sendo: inseminação com sêmen convencional após 56 horas, com sêmen sexado após 56, 60 e 66 horas da retirada do implante de P₄. O diagnóstico de gestação foi feito por palpação retal. Os dados foram analisados por qui-quadrado, com 5% de significância.

Resultados e Discussão

O horário de realização da inseminação artificial não influenciou as taxas de gestação dos animais (P>0,05), sendo essas, 25; 12,5; 25 e 25% para os grupos inseminados 56h com sêmen convencional, 56h, 60h e 66h com sêmen sexado, respectivamente. Baruselli et al.(2007), em um estudo com 245 vacas de leite inseminadas com sêmen sexado, obtiveram taxas de concepção de 7,7% e 12,1% para inseminações com 54 e 60h após a retirada da fonte de P₄. Seidel et al. (1999), trabalhando com novilhas inseminadas com sêmen sexado, 12 a 24 horas após o início do estro, não observaram diferença nos resultados de taxas de prenhez de 49% (203/414) e 45,4% (266/586), respectivamente. Corroborando com os baixos índices encontrados no presente estudo. O atraso da inseminação artificial com sêmen sexado não melhorou os resultados de taxa de prenhez de novilhas mestiças leiteiras.

Referências bibliográficas

Baruselli PS, Souza AH, Martins CM; Gimenes LU; Sales JNS; Ayres H; Andrade AFC; Raphael F, Arruda RP Rev. Bras. Reprod. Anim., v.31,n.3, p.374-381, 2007.

Seidel GE, Schenk JL, Herickhoff LA, Doyle SP, Brink Z, Green RD, Cran DG Insemination of heifers with sexed sperm. Theriog., v.52, p. 1407-1420, 1999.

Palavras-chave: Bovino, espermatozoides sexados, horário de inseminação

Keywords: Bovine, sperm sexed, insemination of time

117

Parâmetros reprodutivos avaliados em receptoras de embrião bovino (*Reproductive parameters evaluated in recipients bovine embryo*)

J.O. Jacomini, B.G. Alves, M.E. Beletti, K.A. Alves, R.M. Santos

Laboratório de Reprodução Animal da Universidade Federal de Uberlândia – UFU. E-mail: jojacomini@ufu.br

Introdução

Um fator relevante nos custos de aplicação das biotecnologias da reprodução como a PIV e a TE, é a manutenção de um grande número de receptoras. Por isso é essencial o estudo de fatores que influenciam a taxa de prenhez visando a diminuição dos custos fixos.

Material e Métodos

Analisou-se 1368 transferências de embriões realizadas em novilhas *Bos taurus x Bos indicus*. No dia da inováção avaliou-se os seguintes parâmetros: classificação do corpo lúteo (CL) por assimetria ovariana em grande (CL1), médio (CL2) e pequeno (CL3); grau do tônus uterino em U1 (flácido), U2 (intermediário) e U3 (túrgido); e sincronia entre o

estro da receptora e o momento da ovulação, determinado em horas pela diferença entre dias de estro da receptora e o momento da ovulação. O sincronismo foi distribuído em grupos de -48 horas, -24 horas, 0 hora, +24 horas e +48 horas. Os dados foram analisados pelo teste não paramétrico binomial de duas proporções ($p < 0,05$).

Resultados e Discussão

Do total de 1368 embriões transferidos obteve-se 413 prenhez (30,19%). Os índices de prenhez de acordo com a classificação dos CL foram de 34,31% (CL1), 30,72% (CL2) e 21,40% (CL3). Verificou-se que existe influência do tamanho do CL, sobre a taxa de prenhez apenas para o CL3 ($p < 0,05$). Vasconcelos et al. (2001) reportaram esta relação entre área do CL e índices de prenhez, quanto maior o volume do corpo lúteo, maior será a concentração de progesterona, e, conseqüentemente, maior taxa de concepção será obtida. Baruselli et al., 2000 também verificaram que a área do CL está associada à concentração plasmática de progesterona e à taxa de concepção de receptoras *Bos indicus x Bos taurus*. As receptoras com classificação uterina U1, U2 e U3 apresentaram taxas de prenhez de 29,95%, 31,72% e 28,11%, respectivamente, portanto não houve influência do grau de tônus uterino. Com referência à sincronia os resultados de prenhez foram de 21,62% (-48 horas), 29,72% (-24 horas), 30,71% (0 hora), 32,53% (+24 horas) e 23,57% (+48 horas). No entanto não houve diferença nas taxas de prenhez das receptoras quando transferidas em diferentes intervalos de sincronia. Mas os melhores resultados ocorreram quando a sincronia ficou entre 0 hora (30,71%) e +24 horas (32,53%), semelhante aos índices relatados por Demczuk et al. (1998).

Referências bibliográficas

Baruselli PS, Marques MO, Carvalho NAT, Valentim R, Berber RCA, Carvalho Filho AF, Madureira EH, Costa Neto WP. Aumento da taxa de prenhez em receptoras de embrião bovino pela utilização do protocolo "ovsynch" com ovulação em tempo fixo. Arquivos da Faculdade de Veterinária UFRGS, v. 28, p. 216, 2000.

Demczuk E, Kozicki LE, Pontelli ES. Transferência de embrião em vacas da raça Simental na região noroeste do Paraná e Sul do Mato Grosso do Sul. Braz J Vet Res Anim Sci v.34, p.174-177, 1998.

Vasconcelos JLM, Sartori R, Oliveira HN, et al. Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rate. Theriogenology. v.56, p.307-314, 2001.

Palavras-chave: corpo lúteo, sincronia do estro, tônus uterino.

Keywords: corpus luteum, estrus synchrony, uterine tonus.

118

Influência da idade da doadora zebuína sobre a resposta superovulatória (*Age influence of zebu donors on the superovulatory response*)

L.M. Pinheiro, A.A.B. Silva, A.L. Ribeiro Filho, A.S. Rodrigues, M. Chalhoub, D.F.C. Pereira, L.V. Vasconcelos, L.M.C. Feitosa, A.L. Gusmão, J.V.L. Oliveira

Escola de Medicina Veterinária – UFBA, Salvador-BA, 40170-110, Brasil. E-mail: luanamev@gmail.com

Introdução

A relação da idade da doadora com a sua resposta superovulatória ainda apresenta questões a serem esclarecidas. Alguns trabalhos sugerem que animais de idades consideravelmente diferentes possuem capacidade similar de responder à superovulação (Donaldson, 1984). Outros apontam uma redução da resposta superovulatória ao avançar da idade (Peixoto et al., 2006), ou ainda, um decréscimo na qualidade dos embriões. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da idade sobre a resposta superovulatória de doadoras zebuínas.

Material e Métodos

Foram efetuadas 146 colheitas de embriões, a partir de 94 doadoras entre 1,5 a 17 anos de idade. Para tanto, em dia aleatório do ciclo estral (D0), as mesmas receberam um dispositivo intravaginal de progesterona (SINCROGEST, Ouro Fino, São Paulo, Brasil) associado a 2,0mg de Benzoato de Estradiol (ESTROGIN, Farmavet, São Paulo, Brasil) i.m. A superestimulação foi realizada com 250U.I. de FSH (PLUSET, Hertape Calier, São Paulo, Brasil) em oito doses decrescentes i.m. de 12 em 12 horas, a partir do Dia 4. No dia 6, administrou-se 500µg de Cloprostenol i.m. (SINCROCIO, Ouro Fino, São Paulo, Brasil). Os dispositivos foram retirados no Dia 7, 24 horas após a aplicação do Cloprostenol. As ovulações foram induzidas com administração de 50 µg de Acetato de Gonadorelina i.m. (GESTRAN, Tecnopec, São Paulo, Brasil) realizadas no Dia 8 pela manhã. As inseminações artificiais (IAs) foram realizadas em tempo fixo 12 e 24 horas após a indução das ovulações. As colheitas de embriões foram efetuadas 6,5 a 7 dias após a primeira IA. Por meio do PROC FACTOR, disponível no pacote estatístico SAS, procedeu-se correlações da idade das fêmeas com as seguintes variáveis: nº de Corpos Lúteos (CL) palpados, total de estruturas (ECLH), nº de embriões viáveis (EMBV) e taxa de viabilidade embrionária (**nº de EMBVV / nº ECLH**).

Resultados e Discussão

Foi observada uma correlação negativa e significativa ($r = -0,30$; $p = 0,002$) entre a idade da doadora e o número de CLs palpados no momento da colheita. A média das ECLH, dos EMBV e a taxa de viabilidade embrionária, apesar de terem uma correlação negativa com a idade, não apresentaram alterações significativas ($r = -0,30$; $p > 0,1$). Nesta avaliação, os achados em relação ao número de CLs palpados, corroboram aos de Peixoto et al. (2006), quando os mesmos relataram um decréscimo, iniciado por volta dos oito anos de idade e acentuando-se até próximo dos vinte. As médias de ECLH e EMBV, ao contrário do presente estudo, sofreram quedas significativas ($p < 0,05$). Os resultados alcançados sugerem que há uma queda na performance reprodutiva dos bovinos, em relação à resposta superovulatória com o avanço da idade.

Todavia, ainda não é possível estabelecer um limite de idade, que permita sugerir até quando uma fêmea bovina pode ser submetida a protocolos de superovulação, sem que haja uma redução na sua resposta.

Referências bibliográficas

Donaldson LE. Effect of age of donor cows on embryo production. *Theriogenology*, v.21, p.963-967, 1984.

Peixoto MGCD, Bergman JAG, Fonseca CG, Penna VM, Pereira CS. Effects of environmental factors on multiple ovulation of zebu donors. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.58, p.567-574, 2006.

Palavras-chave: Idade, resposta superovulatória, zebuínos.

Keywords: Age, superovulatory response, zebu.

119

Efeito do FSH no protocolo de inseminação artificial em tempo fixo em vacas Holandesas de alta produção (*Effect of FSH on protocol for timed artificial insemination in high producing Holstein cows*)

H. Ayres¹, R.M. Ferreira¹, A.R. Ganéo², P.S. Baruselli¹

¹VRA, FMVZ/USP, CEP 05508-000, São Paulo-SP; ²Ultra-sonografia Diagnóstica, Campinas - SP. E-mail: hayres65@usp.br ; barusell@usp.br

Introdução

O presente estudo teve como objetivo comparar a dinâmica folicular de vacas Holandesas de alta produção submetidas a diferentes protocolos de sincronização da ovulação para inseminação artificial em tempo fixo (IATF) no verão e inverno. A hipótese é de que o FSH administrado no momento da retirada do dispositivo de progesterona estimula o crescimento folicular com a mesma eficiência que a eCG e ambos seriam superiores ao controle.

Material e Métodos

Foram utilizadas 89 vacas Holandesas de alta produção (média de 33,4 l/dia), sendo 47 no verão e 42 no inverno. Todos os animais receberam 2 mg de benzoato de estradiol (BE; RIC-BE, Tecnopec, Brasil) e um dispositivo intravaginal de progesterona (Primer, Tecnopec, Brasil) no Dia 0. Após oito dias, os dispositivos foram removidos e foi administrada PGF_{2α} (Prolise, Arsa, Argentina). Neste momento, os animais foram divididos em três grupos de acordo com dias em leite, número de lactações, número de serviços, produção de leite, escore de condição corporal e presença de CL no D0: 1) Grupo controle, sem tratamento adicional; 2) Grupo eCG, 400 UI de eCG (Folligon, Intervet, Brasil) e 3) Grupo FSH, 20 mg de FSH (Folltropin, Bioniche, Canadá). Após 56 horas realizou-se a administração de GnRH (Gestran, Tecnopec, Brasil) e a IATF. Os animais foram avaliados por ultra-sonografia no momento da inserção e da retirada da fonte de P4, na aplicação do GnRH e a cada 12 horas da aplicação do GnRH até a ovulação. As variáveis analisadas foram: taxa de crescimento do folículo dominante entre D8 e D10 (Tx.Cresc. FD D8-D10), diâmetro máximo do folículo dominante (ØMax FD), diâmetro do folículo ovulatório (Ø FOv), intervalo retirada do dispositivo/ovulação (MOV), taxa de ovulação (TOV), número de ovulações (Nov) e taxa de ovulação de folículo persistente (TOv Fol Persis.). Os resultados foram analisados utilizando o PROC GLIMIX do SAS.

Resultados e Discussão

Não se verificou interação entre tratamento e época do ano ($P>0,05$), sendo os efeitos dos tratamentos Grupo controle, Grupo FSH e Grupo eCG, respectivamente: **Tx.Cresc. FD D8-D10** ($2,38 \pm 0,41$; $2,93 \pm 0,38$; $2,37 \pm 0,34$ mm; $P=0,34$), **ØMax FD** ($14,93 \pm 0,58$; $16,04 \pm 0,67$; $14,54 \pm 0,60$ mm; $P=0,27$), **Ø FOv** ($13,78 \pm 0,52$; $15,35 \pm 0,69$; $14,50 \pm 0,59$ mm; $P=0,15$), **MOV** ($82,50 \pm 2,14$; $78,96 \pm 2,39$; $78,48 \pm 2,35$ h após a remoção da P4; $P=0,30$), **TOV** [$82,76$ % (24/29); $83,33$ % (25/30); $83,33$ % (25/30); $P=0,44$], **Nov** ($1,30 \pm 0,10$; $1,35 \pm 0,10$; $1,50 \pm 0,10$; $P=0,19$) e **TOv Fol Persis.** [$11,11$ % (3/27); $19,23$ % (5/26); $19,23$ % (5/26); $P=0,51$]. O FSH apresentou a mesma eficiência que a eCG. Entretanto, ambos tratamentos apresentaram resultados semelhantes ao grupo controle. Conclui-se que, em vacas Holandesas de alta produção sincronizadas tanto no verão quanto no inverno, o uso de eCG e FSH no final do protocolo não melhorou os parâmetros da dinâmica folicular, contrariando a hipótese inicial.

Palavras-chave: dispositivos intravaginais, FSH, Holandesa, IATF.

Keywords: intravaginal devices, FSH, Holstein, FTAI.

Agradecimentos: Tecnopec Cons C.R. Ltda, Nutricell Nutrientes Celulares e Fazenda Campestre

120

Momento da ovulação e taxa de concepção á IATF em vacas Nelore sincronizadas com dispositivos intravaginais de progesterona (novo e usado previamente por 8 ou 16 dias) (*Rate and timing of ovulation and pregnancy rate on FTAI of Nelore cows synchronized with progesterone intravaginal device (new and previously used for 8 and 16 days)*)

J.N.S. Sales¹, G.A. Crepaldi¹, A.A. Teixeira¹, J.O. Jacomini¹, J.B.P. Carvalho², M.O. Marques³, C.A.B. Carvalho², J.R.G. Maio⁴, J.P.B. Pinho³, P.S. Baruselli¹

¹FMVZ/USP, São Paulo, SP, Brasil; ²APTA, Pindamonhangaba, SP, Brasil; ³Geraembryo, Cornélio Procópio, PR, Brasil;

⁴Ouro Fino, Ribeirão Preto, SP, Brasil. E-mail: barusell@usp.br

Introdução

As biotecnologias da reprodução têm sido utilizadas com maior frequência nas propriedades rurais do Brasil, porém o

custo para implementá-las é o principal obstáculo para o uso mais amplo da maioria dessas biotecnias. Diante disso, com o objetivo de reduzir os custos da IATF, avaliou-se a reutilização de dispositivos intravaginais de progesterona em vacas Nelore (*Bos indicus*) lactantes. A hipótese levantada foi que o número de usos do dispositivo intravaginal de progesterona não altera a dinâmica folicular e taxa de prenhez de vacas Nelore lactantes.

Material e Métodos

Dois experimentos foram realizados com o intuito de estudar a dinâmica folicular (Experimento 1) e a taxa de prenhez (Experimento 2) em vacas Nelore (*Bos indicus*) lactantes. No Experimento 1, foram utilizadas 49 vacas Nelore com escore de condição corporal (ECC) de $2,56 \pm 0,43$ (escala de 1 a 5). No dia 0, as vacas receberam 2mg de BE (Sincrodiol®, Ouro Fino, Brasil) e um dispositivo intravaginal de progesterona (Sincrogest®, Ouro Fino, Brasil). Nesse dia, os animais foram alocados em um de três tratamentos: Grupo Sincrogest novo (n=16), Grupo Sincrogest 1x (usado previamente por 8 dias; n=15), Grupo Sincrogest 2x (usado previamente por 16 dias; n=18). No dia 8, administraram-se 0,5mg de Cloprostenol (Sincrocio®, Ouro Fino, Brasil), 300UI de eCG (Novormon®, Syntex, Argentina), 1mg de Cipionato de estradiol (SincroCP, Ouro Fino, Brasil) e o dispositivo intravaginal foi removido. Exames ultra-sonográficos foram realizados a cada 12 horas da retirada do dispositivo até a ovulação. No Experimento 2, 325 vacas Nelore foram distribuídas entre os mesmos tratamentos realizados no Experimento 1, sendo as vacas inseminadas em tempo fixo 48 horas após a retirada do dispositivo. A análise estatística foi realizada pelo procedimento GLIMMIX e GLM do SAS.

Resultados e Discussão

Os resultados para os grupos Sincrogest novo, Sincrogest 1x, Sincrogest 2x foram respectivamente: diâmetro do folículo ovulatório ($14,3 \pm 0,7$; $15,2 \pm 0,6$ e $14,5 \pm 0,7$ mm; $P=0,53$), taxa de ovulação [68,8 (11/16); 80,0 (12/15) e 83,3 (15/18); $P=0,55$] e intervalo retirada do dispositivo/ovulação ($74,1 \pm 4,2$; $70,3 \pm 3,7$ e $68,8 \pm 3,9$ h; $P=0,51$). No Experimento 2 não houve diferença na taxa de prenhez entre os grupos ($P=0,57$): Sincrogest novo 62,9% (61/97), Sincrogest 1x 59,1% (68/115) e Sincrogest 2x 66,1% (74/112). Concluiu-se que o dispositivo novo e os reutilizados (previamente usados por 8 ou 16 dias) comportam-se de forma semelhante em vacas Nelore lactantes submetidas ao protocolo de sincronização para IATF.

Palavras-chave: IATF, ovulação, concepção, *Bos indicus*, dispositivo intravaginal progesterona.

Keywords: FTAL, ovulation, conception, *Bos indicus*, progesterone intravaginal device.

Agradecimentos: Ouro Fino Saúde Animal Ltda e USProducts Brasil Eletromedicina Ltda

121

Uso de um inibidor da síntese de prostaglandinas sobre a taxa de concepção em receptoras bovinas com diferentes graus de dificuldade de transposição cervical (*Use of a synthesis inhibitor of pgf2 α on the pregnancy rate in cattle recipients with different degrees of cervical manipulation*)

A.L. Ribeiro Filho, D.S. Freitas, A.A.B. Silva, A.S. Rodrigues, L.M.C. Feitosa, L.M. Pinheiro, L.V. Vasconcelos, D.F.C. Pereira, J.V.L. Oliveira, A.L. Gusmão, M. Chalhoub

Escola de Medicina Veterinária – UFBA, Salvador-BA, 40170-110, Brasil. E-mail: alisboafilho@uol.com.br

Introdução

Alguns estudos mostram que o Flunixin Meglumine (FM) é uma droga eficiente na inibição da produção de PGF2 α pelo lúmen uterino, resultante da manipulação do sistema genital durante o processo de inovulação (Purcell et al., 2005). Sendo assim, o propósito deste estudo foi avaliar o efeito do FM sobre a taxa de concepção (TC) de receptoras de embriões bovinos com diferentes graus de dificuldade de transposição da cérvix no momento da inovulação.

Material e Métodos

Em dia aleatório do ciclo estral (Dia 0) 337 receptoras *Bos tauros tauros x Bos tauros indicus*, previamente avaliadas e selecionadas por meio de exame clínico-ginecológico e com Índice de Escore Corporal mínimo de 3 (1 - 5), receberam um dispositivo intravaginal de progesterona (SINCROGEST, Ouro Fino, São Paulo, Brasil) associado a 2mg de Benzoato de Estradiol i.m. (ESTROGIN, Farmavet, São Paulo, Brasil). No Dia 5 esses animais foram tratados com 300U.I. de eCG i.m. (NOVORMON, Shering Plough, São Paulo, Brasil) e 500 μ g de Cloprostenol (SINCROCIO, Ouro Fino, São Paulo, Brasil). No Dia 8 os dispositivos foram retirados e finalmente no Dia 9 os animais receberam 1mg de Benzoato de Estradiol i.m. Os embriões foram produzidos por múltiplas ovulações e transferidos à fresco no Dia 17. As receptoras foram divididas aleatoriamente em dois grupos experimentais: S/FM (n=242) e C/FM (n=95), imediatamente após as inovulações os animais do grupo C/FM receberam 500mg de FM im (DESFLAN, Ouro Fino, São Paulo, Brasil), enquanto que as fêmeas do grupo S/FM não o receberam. Após as inovulações as receptoras foram ainda classificadas quanto ao grau de dificuldade para transposição cervical. Aquelas com cérvix de fácil transposição receberam classificação CF já aquelas com algum grau de dificuldade receberam classificação CD. Desta forma, os grupos experimentais foram subdivididos em quatro: S/FM-CF (n=184), S/FM-CD (n=58), C/FM-CF (n=38) e C/FM-CD (n=57). O diagnóstico de gestação foi realizado pela ultrassonografia transretal 30 dias após as inovulações. A TC foi avaliada utilizando-se o teste do Qui-quadrado (χ^2) disponível no pacote estatístico SAS.

Resultados e Discussão

As TCs das receptoras dos grupos S/FM e C/FM foram, respectivamente, 50,00 e 56,80%, não revelando diferença estatística ($p>0,05$). Entretanto, ao se considerar o grau de dificuldade de transposição cervical, os grupos S/FM-CF,

S/FM-CD, C/FM-CF e C/FM-CD obtiveram TC de respectivamente 54,35; 36,21; 50,00 e 61,40%. Demonstrando uma TC significativamente inferior ($P=0,007$) para as receptoras do grupo S/FM-CD. Esses resultados divergem dos obtidos por Purcell et al. (2005) que verificaram que a utilização do FM não alterou as TCs de receptoras. Contudo, os resultados do presente experimento demonstram que seu uso pode ser útil em receptoras com algum grau de dificuldade para inovulação, proporcionando o controle do fenômeno de regressão lútea precoce.

Referências bibliográficas

Purcell SH, Beal WE, Gray KR. Effect of a CIDR insert and Flunixin Meglumine, administrated at the time of embryo transfer, on pregnancy rate and resynchronization in beef cattle. *Theriogenology*, v. 64, p. 867-878, 2005.

Palavras-chave: Flunixin Meglumine, receptoras, transferência de embriões.

Keywords: Flunixin Meglumine, recipients, transfer of embryos.

122

Influência da qualidade embrionária sobre a taxa de concepção de receptoras de embriões bovinos submetidas ao tratamento com análogo do GnRH, no momento da inovulação (*Influence of embryo quality on pregnancy rate of recipients of bovine embryos subjected to treatment with the GnRH analogue at the time of transfer*)

M. Chalhoub, D.F.C. Pereira, L.V. Vasconcelos, A.L. Ribeiro Filho, A.S. Rodrigues, L.M. Pinheiro, L.M.C. Feitosa, A.A.B. Silva, A.L. Gusmão, J.V.L. Oliveira

Escola de Medicina Veterinária – UFBA, Salvador-BA, 40170-110, Brasil. E-mail: chalhoub@ufba.br

Introdução

A utilização de um agonista de GnRH com o intuito de modular o padrão de desenvolvimento folicular, de forma que prolongue a vida útil e/ou induza a formação de CL acessório, constitui-se numa chance do embrião manter-se viável e secretar interferon-tau de forma suficiente para determinar o reconhecimento materno da gestação (Galimberti et al., 2001; Smith e Grimmer; 2002). O presente estudo avaliou a influência da qualidade do embrião na taxa de concepção de receptoras de embriões bovinos submetidas ao tratamento com análogo de GnRH, no momento da inovulação.

Material e Métodos

Foram utilizadas 272 receptoras mestiças *Bos Taurus Taurus X Bos Taurus Indicus* e *Bos Taurus Indicus* que receberam no dia zero (Dia 0) um dispositivo intravaginal de progesterona (DIB, Shering Plough, São Paulo, Brasil) associado a 2mg de Benzoato de Estradiol i.m. (Gonadiol, Shering Plough, São Paulo, Brasil). No Dia 5 esses animais foram tratados com 300U.I. de eCG i.m. (Novormon, Shering Plough, São Paulo, Brasil) e 500µg de Cloprostenol (Ciosin, Shering Plough, São Paulo, Brasil). No Dia 8 os DIBs foram retirados e finalmente no Dia 9 os animais receberam 1mg de Benzoato de Estradiol i.m. No momento da inovulação as fêmeas foram divididas em seis grupos experimentais, de acordo com a qualidade do embrião (1 – excelente, 2 – bom e 3 – ruim); QEMB1 (n=88), QEMB1+GnRH (n=91), QEM2 (n=34), QEMB2+GnRH (n=33), QEMB3 (n=13) e QEMB3+GnRH (n=13). Nos grupos com GnRH foram administrados 100µg de um análogo do GnRH (Acetato de Fertirelina, Fertigen, Schering Plough Coopers, Brasil) por via intra-muscular e os demais grupos receberam 2mL de solução salina a 0,9%. A análise estatística foi realizada utilizando-se o teste do Qui-quadrado (χ^2) disponível no pacote estatístico SAS.

Resultados e Discussão

As taxas de concepção para os grupos QEMB1, QEMB1+GnRH, QEMB2, QEMB2+GnRH, QEMB3 e QEMB3+GnRH, foram respectivamente, 51,14%; 46,15%; 50%; 42,42%; 30,77% e 30,77%, não havendo diferença estatística ($p>0,05$). Resultados similares foram citados por Smith e Grimmer (2002), entretanto, estes autores avaliaram somente as novilhas que foram invulvadas com embriões de qualidade 2. Portanto, de acordo com este experimento não houve influência do análogo de GnRH, no momento da inovulação, na taxa de concepção de receptoras de embriões bovinos em relação a qualidade do embrião avaliado.

Referências bibliográficas

Galimberti AM, Fonseca FA, Araujo MCC, Costa EP, Freitas C, Guimarães JD, Ferreira AM. Taxa de gestação e níveis plasmáticos de progesterona, em receptoras de embrião bovino, tratadas com busarelina após a inovulação. *Revista Brasileira de Zootecnia*. v. 8, p. 353-359, 2001.

Smith, AK, Grimmer SP. Pregnancy rates for grade 2 embryos following administration of synthetic GnRH at the time of transfer in embryo-recipient cattle. *Theriogenology*. v. 57; p. 2083-2091, 2002.

Palavras-chave: bovino, GnRH, transferência de embriões, receptoras.

Keywords: cattle, GnRH, embryo transfer, recipients.

123

Dinâmica folicular em vacas de corte amamentando sincronizadas com o protocolo BioRep de IATF, utilizando o FSHp como indutor de crescimento folicular (*Follicular dynamics in suckled beef cows synchronized with BioRep TAI protocol using FSHp as follicular growth inductor*)

R.D. Tortorella¹, L.C. Siqueira², M.H. Barreta², R. Ferreira², J.F.C. de Oliveira², P.B.D. Gonçalves², J.P. Neves¹

¹ FAV, Universidade de Brasília (UnB), Brasília-DF, Brasil, jpneves@unb.br

² BioRep, Univ. Fed. de Santa Maria (UFSM), Santa Maria-RS, Brasil. e-mail: joaofco@biorep.ufsm.br

Introdução

O sucesso dos programas hormonais para IATF depende do tamanho do folículo dominante quando aplicado o indutor da ovulação. O eCG vem sendo utilizado nos programas de IATF com o intuito de aumentar o crescimento final do folículo dominante. Porém, a sua utilização induz anticorpos anti-eCG em aplicações repetidas e aumenta a taxa de gêmeos. O FSHp pode ser uma alternativa ao eCG pela menor reação imunológica e maior disponibilidade. O objetivo do experimento foi comparar a dinâmica folicular de vacas de corte com cria ao pé tratadas com eCG ou FSHp durante protocolo hormonal para IATF.

Material e Métodos

Foram utilizadas 28 vacas amamentando (40-60 dias pós-parto), cruza *Bos taurus* x *Bos indicus* com condição corporal 3 (1-muito magra;5-muito gorda). Todos os animais receberam um pessário vaginal com 250 mg de MAP por 8 dias e uma injeção intramuscular (IM) de 2 mg de BE no dia 0 do tratamento. No dia 6, foi aplicado 0,265 mg Cloprostenol Sódico IM e os animais distribuídos em 4 grupos experimentais: G1: BioRep (n=7) foram aplicadas 400 UI de eCG IM; G2: FSH10 (n=7) 10 mg de FSHp IM; G3: FSH20 (n=7) 20 mg de FSHp IM; G4:

Controle (n=7). Após 24 horas da retirada do pessário vaginal, aplicou-se 100 µg de GnRH IM em todas as vacas. O crescimento folicular foi monitorado por ultrassonografia transretal (8Mhz) a cada 24 horas, desde o dia 6 até 36 horas após a aplicação do GnRH.

Resultados e Discussão

Os tamanhos médios dos folículos dominantes no dia 9 para G1, G2, G3 e G4 foram, respectivamente: 11,48±1,06; 10,12±0,74; 10,24±0,55 e 10,18±0,78mm. Não houve diferença estatística ($p>0,05$) entre G1, G2, G3 e o controle, o que pode ser explicado pela boa condição corporal das vacas. As ovulações foram simples e a taxa de ovulação para G1, G2, G3 e G4 foi, respectivamente: 100%; 80%; 71,42% e 83,3% ($p>0,05$). Não houve diferença entre o uso do FSHp e eCG, assim como em outros protocolos de indução da ovulação (Nascimento et al. 2007; Santos et al. 2007). Portanto os resultados preliminares indicam que o FSH pode ser utilizado como alternativa ao eCG para induzir o crescimento final do folículo dominante.

Referências Bibliográficas

Santos ICC, Martins CM, Baruselli PS, et al. Estudo da dinâmica folicular de vacas Nelore (*Bos indicus*) em anestro sincronizadas com protocolo IATF, utilizando o Follitropin® (FSHp) como indutor de crescimento folicular. Acta Sci Vet, v.35, supl.3, p.1152, 2007.

Nascimento VA, Torres CAA, Dias M, et al. Dinâmica folicular na sincronização de ovulação associado à administração de FSH-p em vacas da raça Nelore. Acta Sci Vet, v.35, supl.3, p.1134, 2007.

Palavras-chave: vacas de corte, pós-parto, crescimento folicular, IATF, FSH.

Keywords: beef cows, postpartum, follicular growth, TAI, FSH.

124

Relação entre a morfologia do corpo lúteo e índices de prenhez em receptoras bovinas inovuladas com embriões da raça Nelore produzidos *in vitro* (*Relationship between the morphology of the corpus luteum and pregnancy rates in recipients cows inovulated with embryos nellore race produced in vitro*)

I.M.R. Nascimento¹, A.C.B. Mariani², J.S. Santos², J.F. Sousa³, L.H.F.V. Santos³, F.B. Lopes², J.L. Ferreira², F.E.F. Dias², J.A.T. Sousa¹, T.V. Cavalcante²

¹Universidade Federal do Piauí, Teresina -PI, Brasil; ²Universidade Federal do Tocantins, Araguaína - TO, Brasil; ³Brio Genética e Tecnologia, Araguaína, TO, Brasil. E-mail: isoldamarcia@bol.com.br

Introdução

Objetivou-se avaliar a relação entre o tamanho do corpo lúteo (CL), estimado por palpação retal, no dia da inovulação, e os índices de prenhez de receptoras inovuladas com embriões da raça Nelore produzidos *in vitro*. Foram selecionadas 260 receptoras, divididas em dois grupos (G1 e G2) e sincronizadas com dois diferentes protocolos hormonais. No dia da inovulação, os CL foram classificados em pequenos, médios, grandes e inclusos. Das receptoras avaliadas, 46 apresentaram CL do tipo 1, 80 tipo 2, 114 tipo 3 e 20 tipo 4 (incluso), resultando em 34,78%, 36,25%, 35,96% e 35% de fêmeas prênhes, respectivamente, com índice total de prenhez de 35,77%. Não houve relação entre morfologia do corpo lúteo e os índices de prenhez.

Material e Métodos

Avaliaram-se 260 vacas receptoras bovina, com escore corporal 2 e 3, idade entre 18 e 24 meses, cíclicas e sadias, separadas em dois grupos (G1 e G2) e submetidas a dois protocolos de sincronização de estro. O G1 (110 fêmeas) recebeu D-cloprostenol em dose única, após diagnóstico do CL por palpação retal. No G2 (150 fêmeas) foi utilizado um protocolo a base de Norgestomet, Benzoato de Estradiol, Gonadotrofina Coriônica Equina e D-cloprostenol. No dia da inovulação, os CL foram palpados via retal e classificados em pequeno (0,5 cm), médio (1,0cm), grande (2,0cm) e incluso (sem assimetria ovariana). Os embriões foram inovulados pelo método não-cirúrgico e o diagnóstico de gestação foi efetuado por ultra-sonografia transretal, 30 dias após a inovulação. Os índices de prenhez foram analisados pelo teste do Qui-quadrado (χ^2), com $P<0,05$ (Proc Freq SAS).

Resultados e Discussão

O tipo de corpo lúteo e índice de prenhez das receptoras não apresentaram relação estatisticamente significativa. Os índices de prenhez foram de 34,78% para corpo lúteo do tipo 1 (CL1), 36,78% do tipo 2 (CL2), 35,96% do tipo 3 (CL3) e 35% do tipo 4 (CL IN). Os tipos de corpos lúteos encontrados não apresentaram diferenças estatísticas para os dois protocolos, isto é, o tratamento hormonal não influenciou na formação do corpo lúteo. No entanto os protocolos influenciaram nos índices de prenhez, observando maior índice quando usado o tratamento com apenas o D-cloprostenol.

Referências bibliográficas

Vieira, R.C.; Franco, R.V.R.; Diniz, E.G.; Jacomini, J. O. Relação entre a morfologia do corpo lúteo e índices de prenhez em receptoras de embriões bovinos. *Bioscience Journal*, v.18, n. 2, p.99-102, 2002.

Palavras-chave: receptoras, palpação retal, PIV, zebu.

Keywords: receptor cows, rectal palpation, IVP, zebu.

125

Efeito da dose de benzoato de estradiol para sincronização da onda de crescimento folicular em protocolos de IATF de vacas Holandesas de alta produção (*Effect of the dose of estradiol benzoate to synchronize the emergence of follicular wave in protocols for FTAI in high-producing Holstein cows*)

R.M. Ferreira¹, H. Ayres¹, A.H. Souza¹, S. Viechnieski², P.S. Baruselli¹

¹VRA, FMVZ/USP, CEP 05508-000, São Paulo-SP; ²Fazenda Sta Rita do Iguacú, Cascavel-PR

E-mail: robertinhavet@usp.br ; barusell@usp.br

Introdução

O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito da dose de benzoato de estradiol (BE; 2mg vs 3mg) administrado no início do protocolo de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) sobre a dinâmica folicular e a taxa de prenhez de vacas Holandesas de alta produção. A hipótese era que o aumento da dose de BE melhoraria a sincronização da emergência de onda e evitaria a formação de foliculos persistentes, dado o alto metabolismo de estrógenos desses animais.

Material e Métodos

Na dinâmica folicular foram utilizadas 23 vacas Holandesas de alta produção. Em dia aleatório do ciclo estral (D0), os animais do Grupo BE2mg (n=12) receberam 2mg de BE (Gonadiol[®], Intervet Schering, Brasil) IM e um dispositivo intravaginal de progesterona (P4; DIB[®], Intervet Schering, Brasil), o qual foi retirado no D8 junto à administração de 530µg de cloprostenol sódico (Ciosin[®], Intervet Schering, Brasil) IM. Após 48h e 56h, os animais receberam 100µg de GnRH (Fertigen[®], Intervet Schering, Brasil) e IATF, respectivamente. Nos animais do Grupo BE3mg (n=11) o mesmo protocolo foi utilizado com 3mg de BE ao invés de 2mg no D0. Exames ultrassonográficos (US) foram realizados nos D1, D3, D4 e D5 (emergência da onda), a cada 12h do D8 à ovulação (crescimento folicular e ovulação) e a cada três dias do D3 ao D12 pós-ovulação (volume do CL), junto à coleta de sangue (D3-D12; concentração de P4 circulante). No teste de prenhez os mesmos tratamentos foram utilizados (BE2mg=75 vacas e BE3mg=64 vacas). O diagnóstico de prenhez foi realizado por US 30d após a IATF. Os resultados foram analisados com o PROC GLIMIX e PROC MIXED do SAS.

Resultados e Discussão

Na dinâmica folicular, os resultados encontrados respectivamente para os grupos 2 e 3mg de BE foram: emergência da onda folicular (3,82±0,26 vs 4,30±0,30d; P=0,24), presença de foliculo persistente [0% (0/10) vs 14,3% (1/7); P=0,98], diâmetro do foliculo dominante (FD) no D8 (12,9±0,63 vs 11,1±0,98mm; P= 0,06), diâmetro máximo do FD (15,73±0,59 vs 13,73± 1,14mm; P=0,03), momento da ovulação (68,18±3,55 vs 74,40± 1,83h; P=0,20), volume do CL no D4 (6.426,6±2.009,9 vs 4.414,33±725,9mm³; P=0,42), D7 (10.629,6±2.251,8 vs 7.955,1±1.403,8 mm³; P=0,38) e no D10 (10.532,3±2.169,0 vs 7.518,4± 1.428,5mm³; P=0,32) e concentração de P4 no D4 (1,95±0,36 vs 1,81±0,34ng/mL; P=0,80), no D7 (3,47±0,54 vs 3,27± 0,52ng/mL; P=0,80) e no D10 (5,03±0,80 vs 4,09±0,47ng/mL; P=0,27). No teste de prenhez, maior taxa de prenhez foi obtida no Grupo 2mgBE [25,3% (19/75) vs 6,3% (4/64); P=0,005]. Apesar do atraso da emergência de onda não ser significativo, ele pode explicar a redução do diâmetro do FD, o atraso da ovulação e a redução da taxa de prenhez dos animais que receberam 3mg de BE. Conclui-se que a dose de 3mg de BE não melhorou os parâmetros avaliados na dinâmica folicular e a taxa de prenhez, contrariando a hipótese inicial. Sugere-se, portanto, que 2mg de BE sejam utilizados nos protocolos de IATF de vacas Holandesas de alta produção.

Palavras-chave: Benzoato de estradiol, bovino, IATF, dinâmica folicular, taxa de prenhez.

Keywords: Estradiol benzoate, bovine, FTAI, follicular dynamics, pregnancy rate.

Agradecimentos: Fazenda Santa Rita do Iguacú e Intervet Schering-Plough.

126

Avaliação morfológica de embriões Red Sindi coletados após superovulação (*Morphological evaluation of Red Sindhi embryos collected after superovulation*)

R.R.C. Mello¹, J.S. Campanati¹, B.P. Carvalho², J.M. Baldrighi³, M.R.B. Mello¹

¹DRAA, IZ, UFRRJ, Seropédica/RJ; ²LRMGA, UENF, Campos dos Goytacazes/RJ; ³Médica Veterinária autônoma, Seropédica/RJ. E-mail: raquellidda@yahoo.com.br

Introdução

A Transferência de Embriões (TE) é uma biotécnica que vem sendo utilizada para melhorar a produtividade do rebanho brasileiro. Porém, para que a TE seja realizada com sucesso, o ambiente uterino de doadoras e receptoras deve apresentar o mesmo momento do ciclo estral. Neste contexto, surge a necessidade de avaliar corretamente os embriões para que a transferência possa ser realizada de acordo com a sincronia do estro de ambas. A eficiência da TE é avaliada através do número de embriões totais gerados e as porcentagens dos embriões transferíveis ou congeláveis. De acordo com Leibo (2008), a permeabilidade do embrião ao crioprotetor depende da área da superfície celular que está diretamente relacionada ao estágio de desenvolvimento. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade e o estágio de desenvolvimento de embriões da raça Red Sindi obtidos após superovulação e inseminação artificial em tempo fixo.

Material e Métodos

Foram utilizadas 11 vacas da raça Red Sindi superovuladas 4 vezes com intervalo de 60 dias. Foi utilizado o protocolo P-36 (Barros *et al.*, 2007) com doses de FSH de 100, 133 e 200 mg. Após as coletas, os embriões foram avaliados de acordo com a qualidade e o estágio de desenvolvimento segundo Robertson & Nelson (1998). Foram calculadas as porcentagens totais das estruturas segundo o estágio de desenvolvimento e a qualidade.

Resultados e Discussão

Após avaliação, 73% das estruturas foram classificadas como grau 1, 2 e 3 (transferíveis) e 27% como degenerados, tal como foi observado por Baruselli *et al* (2008), que obtiveram 82,8% de estruturas viáveis e 17% de degenerados após superovulação de vacas Nelores e inseminação artificial em tempo fixo. Em relação aos estágios de desenvolvimento 48% de estruturas estavam na fase de blastocisto e 24% na fase de mórula. Considerando que as doadoras foram submetidas à sincronização da ovulação e a coleta realizada 7 dias após a primeira inseminação artificial, seria de se esperar que a maior parte das estruturas fossem encontrados nesses dois estágios de desenvolvimento.

Referências bibliográficas

Barros, C.M.; Barcelos, A.C.Z.B. & Nogueira, F.G. Tratamentos superestimulatórios utilizados em protocolos para transferência de embriões bovinos. *Acta Scientiae Veterinariae* 35(Supl.3): p. 759-766, 2007.
Baruselli, P.S.; Martins, C.M.; Reis, P.O.; Ayres, H.; Ferreira, R.M.; Sales, J.N.S.; Crepaldi, G.A. *Acta Scientiae Veterinariae* 36 (Supl.2): p.602, 2008.
Leibo, S.P. Cryopreservation of oocytes and embryos: Optimization by theoretical versus empirical analysis. *Theriogenology*, v.69, p.37-47, 2008.
Robertson, I. & Nelson, R. Certification and identification of the embryo. In: Stringfellow D. & Seidel S.M. (Ed.). *Manual of the International Embryo Transfer Society*. Savoy: IETS, p. 103-134, 1998.

Palavras-chave: Qualidade, estágio de desenvolvimento, embriões, bovino, Red Sindi.

Keywords: Quality, development stage, embryos, bovine, Red Sindi.

127

Efeito do líquido folicular e β -Mercaptoetanol em oócitos bovinos vitrificados (*Effect of follicular fluid and β -Mercaptoethanol in vitrified bovine oocytes*)

M.P. Cesaro, L.S.R. Marinho, M.C. Gonçalves, F. Forell, J.C. Mezzalira, M. Bertolini, A. Mezzalira

Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC / Lages SC. E-mail: mezzalira@cav.udesc.br

Introdução

A vitrificação de oócitos bovinos imaturos é uma importante ferramenta para diferentes biotécnicas. Porém, a eficiência da produção *in vitro* de embriões (PIV) a partir de oócitos criopreservados ainda é baixa. Isso se deve a fatores estruturais e morfológicos inerentes ao oócito, bem como às inadequações da produção *in vitro*, principalmente a assincronia entre maturação nuclear e citoplasmática, que os tornam vulneráveis aos radicais livres. A manutenção em líquido folicular (FL) é apontada como capaz de promover uma melhor sincronia entre maturação nuclear e citoplasmática. Já o β -mercaptoetanol (β M) é um importante antioxidante, que reduz os radicais livres. Este trabalho avaliou o efeito da prévia exposição ao líquido folicular, associado ou não à adição de β M ao meio de maturação, na viabilidade de oócitos bovinos vitrificados.

Material e Métodos

Oócitos bovinos imaturos foram vitrificados em micropipetas de vidro, em 20% EG + 20% DMSO + 0,5M Sacarose. Após o reaquecimento em soluções decrescentes Sacarose (0,3 e 0,15 M) as estruturas foram alocadas aleatoriamente em 4 tratamentos: **TCM** – 24 h maturação *in vitro* (MIV) em TCM-199; **BM** – 24 h MIV em TCM 199 + 100 μ M β M; **LF**, exposição por 6 h em LF + 18 h MIV em TCM-199 e **LF+BM**, exposição por 6 h em LF + 18 h MIV em TCM-199 + 100 μ M β M. Como controle, utilizou-se um grupo não vitrificado. Após, todos os grupos foram submetidos aos mesmos procedimentos de fecundação e cultivo *in vitro* utilizados no laboratório. Como parâmetros de viabilidade foram utilizados as taxas de clivagem (D2) e blastocistos (D9), bem como o número de células após a eclosão. Como métodos estatísticos foram utilizados os testes de X^2 e Tuckey, com nível de significância de 5%.

Resultados e Discussão

O controle não vitrificado apresentou taxas superiores ($p < 0,05$) de clivagem (83,0%) e blastocistos (35,4%) em relação aos grupos vitrificados. Nos grupos vitrificados não houve diferença na clivagem do grupo BM (54,0%) e TCM (50,5%), que foram superiores ao grupo LF (35,0%). O grupo LF+BM (41,1%) não diferiu dos grupos LF e TCM ($p > 0,05$). As taxas de blastocistos foram muito baixas e não diferiram entre si (6,4, 4,0 e 3,4%) para os grupos TCM, BM, LF, não

havendo desenvolvimento de blastocistos no grupo LF+BM. Embora com reduzida taxa de blastocisto, os embriões que se desenvolveram proporcionaram taxas de eclosão e número de células após eclosão de 46,1% / 130,9±17,3 no grupo TCM; 37,4% / 149,3±24 no grupo BM; e 28,6% / 172,3±30 no grupo LF, semelhantes ($P>0,05$) ao controle não vitrificado (43,0% / 158,2±7,3). Conclui-se que a exposição por 6 h ao LF, com ou sem a adição de β M ao meio de maturação, não melhora o desenvolvimento nem a qualidade de embriões produzidos a partir de oócitos imaturos vitrificados. Embora a vitrificação de oócitos determine reduzida taxa de blastocistos, estes apresentam viabilidade idêntica aos não vitrificados, avaliada pela capacidade de eclosão e número médio de células.

Palavras-chave: Vitrificação, oócito imaturo, líquido folicular, antioxidante.

Keywords: Vitrification, immature oocyte, follicular fluid, antioxidative.

128

A new approach to understand how stress can affect reproduction in cattle (*Uma nova abordagem para entender como stress pode afetar a reprodução em bovinos*)

G.G. Macedo*, **E.V. Costa-e-Silva**, **C.E.S.N. Zúccari**

Federal University of Mato Grosso do Sul State, Campo Grande, MS, CEP 79070-900, Brazil. (*) Current address: Texas A&M University, College Station, TX., Support: Fundect/CNPq; ANCP/Sete Estrelas Embriões.

GERA-MS – Grupo de Estudos em Reprodução Animal do Estado de Mato Grosso do Sul, UFMS/ CNPq.E-mail: licsilva@nin.ufms.br; ggmacedo@gmail.com

Introduction

This study investigated the effects of human-animal interaction (HAI), stress response and embryo production in embryo donor Nelore cattle under superovulation conditions in an embryo transfer program.

Material and Methods

Heifers (HEI, N= 14) and cows (COW, N=18) underwent a superovulation (SOV) protocol for four days, artificially inseminated (AI) on days 4 (afternoon) and 5 (morning) and had embryos recovered on day 11 by a nonsurgical embryo flushing determining embryo production and viability rate. Blood was sampled on days 0, and just prior of de AIs to determine the cortisol concentrations by RIA. The following HAI was recorded continuously on the corral by direct observations and video recordings (Pajor et al., 2000): frightening, hitting, prodding, hitting with the hands, twisting the animal's tail, hitting the gate against the animal and kicking the animal's body. Cattle behavioral response were quantified: return/balking, agitation, kick off, vocalization, sitting and lying; accidents (falling, slipping, jumping against the corral structure or trapping their legs) and voice emission by the stockperson. Principal component analysis was used to reduce the original multidimensional data set with minimum loss of information, and ANOVA. Student t-test was used to compare the means. Significance considered when $p<0.05$.

Results and Discussion

Embryo production and viability were similar between HEIs and COWs (10.64 ± 1.89 and 10.57 ± 1.84 ; 69% and 72%, respectively). The principal component analyses revealed two groups with distinct patterns in cortisol production, irrespective of cattle reproductive status. The first group had homogeneous cortisol production over SOV and was called CONSTANT (n = 14 with 7 COW and 7 HEI). The second group had variation in cortisol concentrations during SOV and was called VARIABLE (n = 17 with 10 COW and 7 HEI). Comparisons between these groups showed that the frequency of voice emissions by the stockperson and the number of accidents were higher in the CONSTANT. Mean HTime was longer in the CONSTANT (9.1 vs. 8.1 min per animal) and the viability rate of the embryos was higher in the VARIABLE (72% vs. 65% for CONSTANT). This indicates that intensive negative HAI is likely related to stress, which affects the reproductive performance of breeders. Moreover, constant cortisol (chronic stress) production is more harmful to reproductive performance than oscillating cortisol concentrations with high-level peaks.

References

Pajor EA, Rushen J, de Passillé AMB. Aversion learning techniques to evaluate dairy cattle handling practices. *Appl Anim Behav Sci*, v.69, p.89–102, 2000.

Keywords: Cortisol, welfare, handling, embryo transfer, Nelore.

129

Alterações reprodutivas em vacas leiteiras infectadas naturalmente por *Trypanosoma vivax* (*Reproductive changes in dairy cattle naturally infected by Trypanosoma vivax*)

I.R.S. Oliveira^{1*}, **H.M. Alves¹**, **S.A.C. Queiroz¹**, **F.S.B. Bezerra¹**, **J.S. Batista¹**

¹DCAN, Universidade Federal Rural do Semi-Árido/Mossoró-Brasil. E-mail: isabelle.rso@hotmail.com

Introdução

O *Trypanosoma vivax* é um hemoparasita patogênico de origem africana que ocasionalmente tem sido relatado nos países sul americanos e diversos Estados do Brasil. Surto de tripanossomíase têm causado perdas importantes, em decorrência de sua alta morbidade, mortalidade e alterações reprodutivas, tais como abortamento, repetição de cio, anestro, orquite e epididimite (Bezerra e Batista, 2008). Tendo em vista a tripanossomíase ser uma doença exótica, recentemente

identificada no Brasil, o presente trabalho objetivou descrever as alterações reprodutivas em vacas leiteiras infectadas naturalmente por este parasita.

Material e Métodos

Durante o período de Agosto de 2007 a Agosto de 2008, realizou-se, em intervalos mensais, o acompanhamento das alterações clínicas e reprodutivas de um rebanho de 75 vacas, das quais 50 estavam em lactação, pertencente a uma propriedade localizada no município de Belém do Brejo do Cruz, Sertão da Paraíba, que apresentava histórico de infecção natural por *T. vivax*. Em cada visita à propriedade, os animais foram avaliados individualmente quanto ao aspecto clínico, bem como foi coletado sangue destinado à realização de hemograma completo e contagem de *T. vivax* no sangue periférico. Pesquisou-se ainda, durante a anamnese, a ocorrência de alterações reprodutivas e avaliou-se a produção leiteira média mensal do rebanho, comparando-a com os dados de produção anteriores ao surto.

Resultados e Discussão

Das 75 vacas presentes no rebanho, 10 adoeceram, e destas, sete morreram. Clinicamente, os animais apresentaram alta parasitemia, depressão, anorexia, febre, taquicardia, taquipnéia, perda de peso, anemia acentuada e súbita queda da produção leiteira (de 15 litros, em média, para 2 litros/animal). As alterações reprodutivas foram caracterizadas por abortamento (n=3), repetição de cio (n=4), e anestro (n=3). Após o diagnóstico da enfermidade, os animais foram tratados com 5 mg/kg de aceturato de diaminazeno. A resposta ao tratamento foi verificada através da ausência de parasitemia, parâmetros clínicos dentro da normalidade, aumento gradativo da produção leiteira e ausência de alterações reprodutivas nas visitas subsequentes. É possível que os baixos índices reprodutivos verificados em bovinos leiteiros de algumas regiões do Sertão da Paraíba tenham como uma de suas causas a infecção por *T. vivax*.

Referências bibliográficas

F.S.B. Bezerra, J.S. Batista. Efeitos da infecção por *Trypanosoma vivax* sobre a reprodução: uma revisão. *Acta Vet Bras*, v.2, p.61-66, 2008.

Palavras-chave: Alterações reprodutivas, tripanossomíase, bovino leiteiro.

Keywords: Reproductive changes, trypanosomiasis, dairy cattle.

130

Acúmulo de mRNA para IL-8 em células HeLa infectadas por *C. fetus* subsp. *venerealis* sequencialmente inoculadas e resisoladas de novilhas virgens (*Accumulation of IL-8 mRNA in HeLa cells infected by Campylobacter fetus subsp. venerealis sequentially inoculated and isolated from naïve heifers*)

A.P.R. Stynen¹, T.M. Alves¹, J.P.S. Mol¹, A.C.P. Cottorello², A.P. Lage¹

¹Escola de Veterinária, UFMG; ²Lanagro/MG, MAPA. E-mail: alage@vet.ufmg.br

Introdução

A infecção do trato genital de fêmeas bovinas pelo *C. fetus* subsp. *venerealis* resulta em endometrite que cria um ambiente desfavorável à implantação e ao desenvolvimento do embrião. A compreensão da cinética de expressão de quimiocinas por células epiteliais infectadas fornece informações importantes sobre os mecanismos iniciais da resposta imune contra o patógeno. Os objetivos deste estudo foram avaliar o acúmulo de mRNA para IL-8 em células HeLa infectadas por amostras de *Cfv* sequencialmente inoculadas e resisoladas de novilhas virgens.

Material e Métodos

Cfv NCTC 10354¹ foi inoculada em novilha virgem, no estro, por via vaginal. Sete dias após a inoculação, foi isolada do muco cervical do animal infectado a amostra P1, que foi utilizada como amostra desafio para infecção vaginal de outra novilha. Após nove dias de infecção foi isolada do útero deste animal infectado a amostra P2, que também foi inoculada intravaginalmente em novilha. A amostra P3 foi isolada do muco cervical da terceira novilha 2 semanas após a infecção. Células HeLa (4x10⁵ cel/mL) foram inoculadas com suspensões das amostras de *Cfv* NCTC 10354¹, P2 e P3, na multiplicidade de infecção de 500 bactérias/célula, e incubadas por 30 min, 2h, 8h, 12h e 18h, quando foi realizada a extração de RNA e confecção do cDNA. A determinação dos níveis de acúmulo de mRNA para IL-8 foi realizada por RT – PCR em tempo real. Os resultados foram analisados utilizando-se o método comparativo de Cts. Os resultados obtidos nos vários grupos foram comparados, por análise de variância, quantitativamente após normalização baseada na expressão de GAPDH.

Resultados e Discussão

A variação do acúmulo de mRNA para IL-8 em células HeLa infectadas com as amostras *C. fetus* subsp. *venerealis* NCTC 10354¹, P2 e P3 mostra que as três amostras seguem o mesmo padrão de acúmulo de IL-8 mRNA em células HeLa, com produção a partir dos 30 min e com pico às 12h. Entretanto, o acúmulo de IL-8 mRNA nas células HeLa infectadas com as amostras *C. fetus* subsp. *venerealis* P2 e P3 foi desde o início significativamente superior ao encontrado nas células infectadas pela amostra parental *C. fetus* subsp. *venerealis* NCTC 10354¹.

Palavras-chave: quimiocinas, patogenia, campilobacteriose genital bovina.

Keywords: chemokines, pathogenesis, bovine genital campylobacteriosis.

Agradecimentos: Fapemig, CNPq, FEP MVZ Coordenação Preventiva.

Avaliação da influência do balanço energético negativo sobre o status ovariano em vacas cruzadas Holandês-Gir na microrregião de Garanhuns, PE, Brasil (*Evaluation of negative energy balance influence over ovarian status of crossbred Holstein-Gir cows in the micro-region of Garanhuns, PE, Brazil*)

C.C. Bartolomeu¹, G.A. Veras¹, P.F.M.P. Souto¹, A.M.J. Del Rei², J.A. Carvalho³, C.T.G. Alves³

¹Unidade Acadêmica de Garanhuns/UFRPE; ²DTRA/CBRA/UESB; ³DCAA/UESC. E-mail: c.coutinho@uag.ufrpe.br

Introdução

Após o parto, as vacas entram em um estágio de balanço energético negativo (BEN) uma vez que o consumo de matéria seca fica muito aquém ao rápido aumento da produção de leite. Desta forma, o BEN associado a mudanças metabólicas é responsável pelo atraso na primeira ovulação pós-parto. A associação entre a retomada da atividade ovariana pós-parto, e fatores nutricionais, tais como, restrição alimentar e escore de condição corporal tem sido matérias de vários estudos. Assim, O presente trabalho teve por objetivo avaliar a influência do balanço energético negativo sobre o status ovariano.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido em 3 (três) fazendas de criação comercial de bovinos de leite, nos municípios de Garanhuns, Saloá e São João, localizados no Agreste meridional do Estado de Pernambuco. Foram utilizadas 50 fêmeas bovinas, mestiças (Holandês x Gir), sem complicações no parto e pós-parto. Os animais foram avaliados quanto ao escore de condição corporal (ECC) e classificados na escala de 1 a 5; sendo 1 (muito magra) e 5 (muito gorda) segundo Broster e Brroster, (1998). Os ovários foram classificados por meio de palpação retal em quatro categorias: Ovário pequeno, duro e liso, sem presença de folículos (categoria 1); ovário com presença de folículos pequenos, sem flutuação (categoria 2); ovário com folículos de médios a grandes apresentando flutuação (categoria 3) e ovário com presença de corpo lúteo (categoria 4). Os dados foram analisados pelo programa estatístico SPSS 10 for windows.

Resultados e Discussão

Os animais utilizados no presente experimento se encontravam no pós-parto e em balanço energético negativo devido à escassez de alimento em consequência do período de estiagem, muito comum na região nordeste. Apenas 36% dos animais apresentavam atividade ovariana, sendo, 18% classificados na categoria 3 e 18% na categoria 4. Os animais classificados nas categorias 1 e 2 totalizaram 64%, sendo 12% e 52% para as categorias 1 e 2, respectivamente. Nestas categorias, apenas um animal apresentou ECC 1, 11 ECC 2,5 e 19 ECC entre 3,0 e 3,5. Estes dados demonstram que mesmo animais com bom ECC, uma vez entrem em BEN, há um comprometimento progressivo da atividade ovariana. Murphy et al (1991) relatam a interferência do BEN sobre a liberação de LH comprometendo o desenvolvimento folicular e a atividade ovariana. Esta condição é enfrentada, anualmente, por produtores na região nordeste.

Referências bibliográficas

Broster, W.H.; Broster, V.J. Body score of dairy cows, Journal. Dairy Research. v. 65, p. 155–173, 1998.

Murphy, M.G.; et al. Effect of dietary intake on pattern of growth of dominant follicle during the oestrous cycle in beef heifers. Journal Reproduction and fertility, v. 92, p. 333-338, 1991.

Palavras-chave: Holandês-Gir, ECC, Status Ovariano.

Keywords: Holstein-Gir, BCS, Ovarian Status.

132

Dados preliminares do intervalo entre partos e produção de leite em vacas mestiças em três fazendas do município de Mãe do Rio, Nordeste Paraense (*Preliminary data of the interval between calving and milk production in crossbred cows on three farms in the municipality of Rio Mother, Northeast Paraense*)

C.C. Barbas^{*}, A.R. Simões¹, K. B. Nunes¹, S.T. Rolim Filho¹, H.F.L. Ribeiro², S.C.S. Pedrosa¹

¹Alunos de pós-graduação em Ciência Animal da UFPA; ²Prof.Dr. UFRA; * bolsista da FAPESPA. E-mail: crisbarbas@hotmail.com

Introdução

A produção leiteira do Brasil está em sexto lugar em termos de volume de produção. O rebanho leiteiro nacional particularmente o regional não possuem dados sobre o longo intervalo entre partos (IEP), cuja média nacional está em torno de 18 meses. Sabe-se que existe uma correlação entre prolongado intervalo entre partos e a baixa produção (FERREIRA e TEXEIRA, 2000). O objetivo desse trabalho foi determinar a influência do (IEP) de vacas mestiças na produção leiteira em fazendas do município de Mãe do Rio, Nordeste Paraense.

Material e Métodos

Foram avaliados o intervalo de partos e a produção de leite de 61 vacas mestiças em três fazendas com idade entre 61 a 152 meses, alimentadas a pasto, *Brachiaria brizanta* (braquiarião) e *Brachiaria humidicula* (quicuío), com suplementação mineral o ano todo, o clima da região é tropical úmido com temperatura entre 17° a 38°C, e persistência de lactação média de 220 dias. A metodologia usada foi preconizada por Ferreira e Teixeira (2000), representada por: Variação na produção de leite (%) (VPL) é igual ao Intervalo de Partos atual (IPa) subtraído do Intervalo de Partos desejado (IPd) dividido por Intervalo de Partos desejado (IPd) multiplicado por 100.

Resultados e Discussão

O IEP obtido foi de 392 ±58,96 dias 12,9 meses. A produção com uma produção média de 4,82 ±1,92 Kg diária. Calculando a VPL, verificamos uma perda em torno de 7,5% na produção leiteira. O que representou uma perda diária de

0,36Kg animal/dia, multiplicando a perda pelo período de lactação médio (220), teremos perda de 79,2 Kg por animal, o que representaria uma perda de 4.831,2 Kg para as 61 vacas durante toda a lactação. O resultado de IEP está de acordo com Nebel (2003) que verificou IEP de 13,5 meses para vacas Holandesas, porém as vacas apresentavam produção de leite com média de 10,73 Kg. Já o resultado de IEP médio encontrado por Lima Filho et al., (2009) em vacas mestiças foi de 476 dias, o que equivale há mais ou menos 16 meses com uma média de lactação de 7,4 kg.

Referências bibliográficas

Ferreira, A. M.; Teixeira, N. M. Estimativas de mudanças na produção de leite pela variação no intervalo de partos de rebanhos leiteiros. Rev. Bra. de Rep. Anim. v.24, n.4, p.177-181, 2000.

Nebel, R. L. The key to a successful reproductive management program. Adv Dairy Technol, v.15, p.1-16, 2003.

Lima Filho, A. L.; Oliveira Junior, R. C.; Fausto, D. A. Avaliação dos índices zootécnicos de médias propriedades leiteiras. Disp. em: www.prp.ueg.br. Acesso em: 10.03.2009.

Palavras-chave: intervalo entre partos, produção, vacas mestiças.

Keywords: calving interval, production, crossbred cows.

133

Comparação entre índices de prenhez pelo uso da inseminação artificial e da monta natural em vacas Nelore (*Bos taurus indicus*) (Pregnancy rates by artificial insemination and natural mating in Nelore (*Bos taurus indicus*) cows)

P.E.M. Gonçalves¹, F.A. Souza¹, J.A.M. Martins¹, T.G. Leite¹, L.L. Emerick¹, P.F.B. Pinto, A.S. Felipe-Silva¹, M.G. Cangussu¹, M.R. Duarte¹, J.E.J. Murta¹, V.R. Vale Filho¹, V.J. Andrade¹

¹Escola de Veterinária – UFMG/CAPES. E-mail: paulo@veterinarioonline.com.br

Introdução

A adoção de novas tecnologias na busca por qualidade e produtividade mais adequadas, torna-se estratégica para a sobrevivência do produtor num mercado competitivo. A competitividade do setor não está na carência de tecnologias, mas sim na forma como as mesmas são gerenciadas. Nesse cenário, manejos reprodutivos e programas de cruzamento bem delineados e estruturados oferecem oportunidades de obtenção de rápidos ganhos genéticos aliados a substanciais aumentos de produtividade. O objetivo do presente estudo foi comparar taxas de prenhez na Inseminação Artificial (IA) e na monta natural (MN) em fêmeas Nelore criadas a pasto.

Material e Métodos

Para avaliação das taxas de gestações, utilizaram-se dados da estação de monta de 2002/2003 (120 dias, dezembro a abril), no município de Cárceres-MT. Para o manejo de MN foram utilizados touros Nelore e F1 Nelore x Angus, com idades de 72 e 27 meses e pesos de 600 e 450kg, respectivamente, selecionados pelos critérios de ganho de peso, fenótipo e CAP > 60 pontos (Vale Filho, 1989). Para IA utilizou-se sêmen de touros Angus (USA) criopreservado. Na monta natural utilizou-se a proporção touro:vaca de 1:30. Para o manejo da IA utilizou-se a proporção de um rufião para cada 25 fêmeas (Mies Filho, 1987). Utilizaram-se lotes de no máximo 100 vacas Nelore com mais de duas parições e com suas crias ao pé, mantidas a pasto com suplementação mineral.

Resultados e Discussão

Não houve diferença ($p>0,05$) entre os índices de prenhez da IA da MN (Tab. 1) entre as categorias de grupos; exceto em relação aos touros F1, tanto nos toques intermediário e final.

Tabela 1 - Taxas de gestações entre IA e MN em vacas Nelore no ano de 2002

Touros	Matrizes (n)	Toque intermediário (%)	Toque final (%)
Nelore	1038	65.1 ^a	90.2 ^a
Nelore x Angus	525	48.9 ^b	77.9 ^b
Angus (sêmen importado)	1736	63.4 ^a	88.2 ^a

$p<0,05$ Toque intermediário = 80 dias após o início da estação de monta; Toque final = 45 dias após o término da estação de monta;

Conclui-se que a utilização da IA com sêmen importado (Angus) apresentou índice de prenhez similar ao dos touros Nelore, demonstrando eficiência maior que a dos touros Nelore x Angus, usados em monta natural.

Referências bibliográficas

Mies Filho, A. *Inseminação artificial*. 6. ed. Porto Alegre: Sulina, 1987. 750 p.

Vale Filho, V. R. Padrões de sêmen bovino para o Brasil: análise e sugestões. *Animal Reproduction*, v.1, n.8, p.94-118, 1989.

Palavras-chave: Angus, Estação de monta, Zebu.

Keywords: Angus, Breeding season, Zebu

134

Human-animal interaction and stress in Nelore embryo donors (*Interação homem-animal e estresse em doadoras de embriões Nelore*)

G.G. Macedo*, E.V. Costa e Silva, P.M. Rueda, C.E.S.N. Zúccari, L.S. Russi.

Federal University of Mato Grosso do Sul State, Campo Grande, MS, CEP 79070-900, Brazil; (*) Current address: Texas A&M University, College Station, TX, Support: Fundect/CNPq; ANCP/Sete Estrelas Embriões. GERA-MS – Grupo de Estudos em Reprodução Animal do Estado de Mato Grosso do Sul, UFMS/ CNPq. E-mail: licsilva@nin.ufms.br; ggmacedo@gmail.com.

Introduction

Decreasing stress conditions of embryo donors and recipient cows is likely to be a key factor for increasing productive rates and economic profits in embryo transfer programs. This study investigated the effects of human-animal interaction (HAI) on stress status of embryo donors Nelore (*Bos indicus*) under superovulation (SOV) conditions in an embryo transfer program.

Material and Methods

Heifers (HEI, N= 14) and cows (COW, N=18) underwent a SOV protocol for five days and were artificially inseminated (AI) on days 4 (afternoon) and 5 (morning). Blood was sampled on days 0, and just prior of de AIs to determine the cortisol concentrations by RIA. The following HAI was recorded continuously on the corral by direct observations and video recordings: frightening, hitting, prodding, hitting with the hands, twisting the animal's tail, hitting the gate against the animal and kicking the animal's body. Cattle behavioral response were quantified: return/balking, agitation, kick off, vocalization, sitting and lying; similarly, accidents (falling, slipping, jumping against the corral structure or trapping their legs) and voice emission by the stockperson. Data underwent ANOVA (SAS program) and means were compared by student t-test. Relation among variables was assessed by Pearson's Correlation test. It was considered a statistic significance when $p < 0.05$.

Results and Discussion

Animal age was negatively correlated with total handling time (HTime, -0.83), HTime on days 0 to 4 (-0.58, -0.60, -0.66, -0.68, -0.56, respectively) frequency of animal behavioral responses (-0.42), voice emission (-0.85) and accidents (-0.84). Interesting is that human voice may be especially aversive and moreover it was positively correlated to stimulation (0.40) and behavioral response (0.34), total HTime (0.94), HTime on days 0 to 4 and also to accident frequency (0.96). Accident frequency was correlated positively with total HTime (0.97), HTime on days 0 to 4 (0.70, 0.85, 0.74, 0.72, 0.70, respectively) and stimulation by the stockperson. HEI received more stimuli, HTime, voice emission and accidents than COW.). Cortisol decreased in HEIs from day 0 to 4, meaning that they habituated to the SOV and increased again on day 5, because they probably remembered the uncomfortable AI on day 4. Mean cortisol concentration was similar in HEI and COW (16.21±3.62 ng/mL; 14.10±2.01 ng/mL, respectively), and high enough to indicate stress condition, comparing with the 3.92±1.20 ng/mL from zebu under handling in corral (Andrade et al., 2001). These unique data for Nelore embryo donor can be helpful to improve handling and fertility.

References

Andrade O, Orihuela A, Solano J, Galina CS. Some effects of repeated handling and use of mask on stress responses in zebu during restraint. *Appl Anim Behav Sci*, v.71, p.175-81, 2001.

Keywords: Cortisol, welfare, handling, embryo transfer, Nelore.

135

Translocação Robertsoniana 1/29 em matrizes bovinas da raça Senepol (*1/29 Robertsonian Translocation in Senepol bovine females*)

R.M.L. Pires, K.M.R. Duarte, M.V.L. Souza, M.H.A. Silva

Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Genética e Reprodução Animal, Instituto de Zootecnia, Nova Odessa, SP, 13460-000. E-mail: pires@iz.sp.gov.br

Introdução

Citogenética é a área da genética que permite a identificação de indivíduos com anomalias cromossômicas estruturais ou numéricas. No caso específico dos bovinos a translocação Robertsoniana tem sido relacionada com a redução de fertilidade associada à morte embrionária precoce. O presente estudo teve como objetivo avaliar a incidência de anomalias cromossômicas em matrizes bovinas da raça Senepol.

Material e Métodos

A análise citogenética foi realizada em metáfases obtidas de cultura de linfócitos de sangue periférico, de acordo com técnica já descrita. Em janeiro de 2009, amostras de sangue foram coletadas assepticamente da veia jugular de 37 matrizes bovinas da raça Senepol. Gotas de sangue (22) foram distribuídas em tubos contendo meio MEM enriquecido com SFB, fito-hemaglutinina e antibióticos. Dois frascos de cultura por animal foram incubados por 48 horas a 38,5 °C. Para interromper a divisão mitótica na fase de metáfase usou-se colchicina. Metáfases foram analisadas e fotografadas ao microscópio ótico.

Resultados e Discussão

A análise cromossômica foi realizada em cerca de 33 células por animal, perfazendo um total de 1226 células. Dos 37

animais analisados, 30 (81,18%) apresentaram cariótipo 60,XX, constituição normal para fêmea. Nos sete animais restantes (18,9%) foram observados a constituição 59,XX,t (1;29), isto é, portadores de translocação Robertsoniana (tR1/29) em heterozigose. As matrizes pertencem a dois plantéis, onde de um foram analisadas 22 animais com a presença de uma fêmea com translocação (tR) (4,6%) e, do outro plantel, das outras 15 a tR foi observada em seis fêmeas (40,0%). Pelo teste do χ^2 a frequência de tR entre os dois grupos foi significativa. Tal anomalia (descrita em 1964), encontra-se espalhada mundialmente em cerca de 50 raças de bovinos europeus. No Brasil foi descrita por diversos autores. Na raça Senepol, Pires et al. (2006) avaliaram citogeneticamente 11 reprodutores de Centrais de I.A. do Estado de São Paulo e constataram três portadores. Segundo vários autores, a tR1/29 é considerada como causa de sub-fertilidade em bovinos. Os portadores de tR1/29 não são reconhecidos pelo fenótipo, mas 50 % dos descendentes de um progenitor portador em heterozigose, serão portadores. A análise citogenética é uma ferramenta que devia ser utilizada em bovinos de raças européias nos programas de melhoramento genético, nos touros doadores de sêmen e nas fêmeas de transferência de embriões *in vivo* e *in vitro*.

Referências bibliográficas

Pires R.M.L.; Alvarez R.H.; Méo SC, Martinez A.C. Anomalias cromossômicas em touros doadores de sêmen. In Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 43, 2006, João Pessoa, Anais... João Pessoa: SBZ, 2006, CD

Palavras-chave: cariótipo, citogenética, cromossomo, translocação Robertsoniana 1/29.

Keywords: chromosome, cytogenetics, karyotype, 1/29 Robertsonian translocation.

BUBALINOS

136

Prevalência de patologias do sistema genital de búfalos criados extensivamente no Estado Amapá (*Prevalence of diseases of the genital system of buffaloes reared extensively in Amapá State*)

H.F.L. Ribeiro, N.S. Picanço, W.L.A. Pereira, W.G. Vale; S.T. Rolim Filho

Universidade Federal Rural da Amazônia. E-mail: haroldo.ribeiro@ufrpa.edu.br

Introdução

Na região Amazônica, os problemas reprodutivos no macho bubalino devem ser considerados como freqüentes e severos. Em alguns rebanhos do Brasil, assim como de outros países da América Latina os problemas ligados à esterilidade e a infertilidade, parecem estar intimamente ligados à estreita consangüinidade (VALE et al., 2008). O objetivo do presente estudo foi verificar a prevalência de alterações do sistema genital de búfalos reprodutores no estado do Amapá.

Material e Métodos

Os dados foram baseados, nos exames clínicos andrológicos, de 63 reprodutores, com idade variando entre dois a doze anos de idade, no período de 2000 a 2006, sem histórico sanitário e reprodutivo, criados em sistema de produção extensivo em áreas de várzeas. Os exames basearam-se em inspeção e palpação da bolsa escrotal, testículos e epidídimos, assim como, palpação retal das glândulas vesiculosas, próstata e ampolas dos ductos deferentes. Os testículos com patologias eram retirados, analisados, fotografados transportados para o Laboratório de Patologia da UFRA, em Belém.

Resultados e discussão

De 63 búfalos, 07 (11,1%) apresentaram alterações no testículo, no epidídimo e nas glândulas vesiculosas. Macroscopicamente os testículos apresentaram-se assimétricos, com uma redução de volume em torno de 20% e extensas áreas de aderência difusa entre a túnica vaginal e a albugínea testicular. Os epidídimos aumentados de volume apresentaram ao corte, nodulações de variados tamanhos, com a presença de consistência firme e conteúdo cremoso amarelado. O conteúdo cremoso foi mais freqüente na cauda do epidídimo. Histologicamente os testículos apresentaram túbulos seminíferos alterados, epidídimos com quadro característico de tuberculose, assim como lesões características de granuloma espermático. Patologias de búfalos são de rara descrição, entretanto casos esporádicos de origem hereditária, são descritos na literatura, tais como hipoplasia testicular (VALE et al., 1988), parada no desenvolvimento do testículo e epidídimos (OHASHI et al., 1995). Um caso de orquite-epidimária causada por tuberculose foi descrito por Ribeiro et al. (1987). Freitas et al. (1997) em um estudo anatomopatológico e microbiológico a respeito da tuberculose em búfalos abatidos para consumo no Estado do Pará revelaram uma taxa de prevalência de 7,7%, sendo 72,1% de alterações localizadas e 27,9% de alterações generalizadas. Portanto, embora esporádicos, alterações sérias parecem ocorrer com certa frequência, podendo sem dúvida representar um fator multifatorial dentro das causas de infertilidade ou esterilidade dos rebanhos bubalinos.

Referências bibliográficas

Freitas, J. A.; Barros, M. J. C.; Nascimento, J. A. C. 1997. Alterações similares à tuberculose no abate de bovinos e bubalinos e no nível de consumo. FCAP: Informe Técnico, n. 23, p. 6-23.

Ohashi, O. M.; Vale, W. G.; Sousa, J. S. 1995. Disturbance of testicular development in buffaloes (*Bubalus bubalis*): hypoplasia and aplasia. Buffalo Journal 1:97-101.

Ribeiro, H. F. L.; Vale, W. G.; Ohashi, O. M.; Sousa, J.S. 1987. Tuberculose genital em búfalo (*Bubalus bubalis*). In: Anais...VII Cong. Bras. Reprod. Anim, 1987, Belo-Horizonte. CBRA.

Vale, W. G., Ohashi, O. M., Sousa, J. S., Ribeiro, H. F. L. 1988. Clinical reproductive problems in buffaloes in Latin

America. In: Anais...2nd World Buffalo Congress, New Delhi, Proc. Vol. II, part I, p.206-217.
Vale, W.G; Ribeiro, H.F.L; Sousa, J. S; Silva, A.O.A; Barbosa, E.M; Rolim Filho, S.T. Seleção e avaliação andrológica do reprodutor bubalino. Rev Bras Reprod Anim, Belo Horizonte, v.32, n.2, p.141-155, abr./jun. 2008.
Palavras-chave: Alterações, sistema genital, búfalos.
Key-words: Changes, genital system, buffaloes.

137

Involução uterina em búfalas Murrah criadas no centro-oeste brasileiro (*Uterine involution in Murrah buffaloes reared in Brazilian center-west*)

M.L. Valadares¹, A.A. Fidelis¹, P.H.R. Borges¹, E.M. Doroteu¹, R. Sartori², M.V. Snel-Oliveira¹, J.P. Neves³

¹UPIS Faculdades Integradas, FAVET, Brasília, DF; ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF; ³Universidade de Brasília - FAV, Brasília, DF. E-mail: marilia@upis.br

Introdução

O conhecimento das características fisiológicas da involução uterina (IU) permite a identificação precoce de processos patológicos que poderão afetar a eficiência reprodutiva e aplicação de biotecnologias reprodutivas. Em bubalinos observa-se ampla variação neste período. Assim, este trabalho objetivou determinar o período de IU em búfalas criadas no centro oeste brasileiro.

Material e Métodos

Foram utilizadas 15 búfalas Murrah (6 primíparas e 9 pluríparas) com parições normais durante o outono, no Distrito Federal, com escore de condição corporal entre 3,5 a 4,0 (1=muito magra, 5=muito gorda), mantidas a pasto antes e após o parto durante o período experimental. A ordenha era mecânica, uma vez por dia, sem bezerro ao pé. A IU foi avaliada por palpação retal, diária, do 7º dia pós parto até o primeiro cio, foi considerada completa quando o útero atingiu seu menor diâmetro e os cornos apresentavam-se simétricos logo após a bifurcação uterina externa e o tônus uterino correspondente a fase ovariana.

Resultados e Discussão

O período médio para a IU foi similar entre pluríparas (25,78 ± 6,14 d) e primíparas (25,33 ± 2,45 d), com uma variação mínima e máxima de 20 e 36 dias, respectivamente. Na Itália Presicce et al. (2005) também não observaram diferença entre búfalas Mediterrânea pluríparas (33 ± 1,3 d) e primíparas (31 ± 1,0 d). Períodos de IU semelhantes foram observados por Vale et al. (1986) (28,6 ± 6,6 dias) e por Baruselli (1994) (25,2 ± 5,4 dias) no norte e sudeste do Brasil, respectivamente. Mas El-Wishy (2007) em uma revisão que inclui 32 trabalhos, nenhum realizado no Brasil, encontrou variações da média de 19 a 52 dias com variações individuais de 15 a 74 dias e observou que em 66% dos trabalhos a IU ocorreu entre 29 e 42 dias. O menor período observado neste trabalho pode ser atribuído a fatores genéticos e manejo.

Referências bibliográficas

Baruselli PS. Sexual behaviour in buffaloes. In: World Buffalo Congress, 4., São Paulo:1994. Proceedings. São Paulo,1994. 3:158-173.
El-Wishy, AB. The postpartum buffalo: I. Endocrinological changes and uterine involution. Animal Reproduction Science, v. 97, p. 201–215, 2007.
Presicce GA, Bella A, Terzano GM, De Santis G, Senatore ME. Postpartum ovarian follicular dynamics in primiparous and pluriparous Mediterranean Italian buffaloes (*Bubalus bubalis*). Theriogenology, v. 63, p. 1430–1439, 2005.
Vale WG, Ribeiro HFL, Sousa JS; Ohashi OM. Involução uterina e atividade ovariana pós-parto em búfalas. Revista Brasileira de Reprodução Animal, v. 10, p. 187-192, 1986.

Palavras-chave: búfalos; involução uterina; período pós-parto; puerpério; *Bubalus bubalis*.

Keywords: buffaloes; uterine involution; postpartum period; puerperium; *Bubalus bubalis*.

138

Uso da rBST associada ao protocolo Ovsynch para sincronização da ovulação e IATF em búfalas durante a estação reprodutiva favorável (*Use of rBST associated to Ovsynch protocol for synchronization of ovulation and IATF in buffaloes during the breeding season*)

G.D. Calomeni¹, N.A.T. Carvalho², F.S. Vannucci, D.C. Souza¹, C. Silano¹, P.S. Baruselli¹

¹ Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo – FMVZ-USP; ² Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios – APTA/UPD-Registro. E-mail: gustavo.calomeni@usp.br

Introdução

A aplicação de Somatotropina recombinante Bovina (rBST) ocasiona aumento nas concentrações sanguíneas de GH e de IGF-1 em fêmeas bovinas (Lucy, 2000). O IGF-1 apresenta ação nas células da granulosa, tornando os folículos mais sensíveis aos hormônios gonadotróficos, o que ocasiona aumento na população de folículos antrais. Seu efeito sobre folículos maiores não está elucidado, porém, segundo Moreira (2000) a aplicação de rBST associada a protocolos de sincronização da ovulação para IATF apresenta efeitos benéficos. Nesse sentido, o objetivo do presente estudo foi

aumentar as taxas de ovulação e de concepção por meio da administração de diferentes doses de rBST em búfalas submetidas ao protocolo de sincronização da ovulação (*Ovsynch*) para IATF durante a estação reprodutiva favorável (outono e inverno).

Material e Métodos

Foram utilizadas 180 búfalas lactantes divididas aleatoriamente em três grupos. O Grupo Controle (G-Ov) não recebeu rBST, os Grupos G-250 e G-500 receberam, respectivamente, 250 e 500 mg de rBST no momento da primeira aplicação de GnRH do protocolo *Ovsynch* (Dia 0 = D0). Posteriormente, todas as búfalas receberam as aplicações de PGF_{2α} no D7 e de GnRH no D9. No D10, realizou-se a IATF. Para o acompanhamento da dinâmica folicular, foram selecionadas, ao acaso, 36 búfalas, as quais foram submetidas a exames ultrassonográficos no D0, para avaliar o status ovariano, no D7, e do D9 ao D12 (12/12 hs) para estabelecer o momento da ovulação. No D40, foi realizado o diagnóstico de gestação por ultra-sonografia.

Resultados e Discussão

As taxas de ovulação e de concepção para os grupos G-Ov, G-250 e G-500 foram respectivamente de: 67 % (8/12), 75% (10/12) e 75% (10/12); e 40 % (20/50), 45,5% (30/66), e 53,5% (31/58). Não foram verificadas diferença entre os grupos, indicando que, independente da dose, a rBST não aumentou as taxas de ovulação e de concepção de búfalas em lactação submetidas ao protocolo de sincronização da ovulação para IATF durante a estação reprodutiva favorável. Esse resultado difere de outros estudos com fêmeas bovinas, o que nos possibilita hipotisar que podem existir diferenças entre as espécies quanto a ação da rBST na reprodução.

Referências bibliográficas

Lucy, M.C. Regulation of ovarian follicular growth by somatotropin and insulin-like growth factors in cattle. *Journal of Dairy Science*. v.83, p.1635–1647, 2000. Moreira, F.; Risco, C.A.; Pires, M.F.; Ambrose, J.D.; Drost, M.; Thatcher, W.W. Use of bovine somatotropin in lactating dairy cows receiving timed artificial insemination. *Journal of Dairy Science*. v.83, p.1237–1247, 2000.

Palavras-chave: Búfalas, *Ovsynch*, rBST, Ovulação, IATF.

Keywords: Buffaloes, *Ovsynch*, rBST, Ovulation, IATF.

139

Efeito da atmosfera gasosa na produção in vitro de embriões bubalinos (*Effect of gaseous atmosphere on in vitro embryo production in buffaloes*)

H. Blume, R.G. Mondadori, M.V. Snel-Oliveira, J.G.S. Ferreira

Faculdade de Medicina Veterinária da UPIS – Brasília, DF. E-mail: helio@upis.br

Introdução

O rebanho bubalino no país e no mundo apresenta uma taxa de crescimento superior ao rebanho bovino, em função de sua rusticidade e adaptabilidade, o que lhe proporciona boa eficiência na produção de leite e de carne, e aumenta a demanda de animais geneticamente superiores, o que tem estimulado o estudo das biotécnicas da reprodução, visando melhorar e/ou alcançar os índices alcançados pela bovinocultura. As biotécnicas da reprodução aplicadas aos bubalinos apresentam baixas taxas de clivagem de embriões e de desenvolvimento embrionário. O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência do ambiente gasoso na produção *in vitro* de embriões bubalinos.

Material e Métodos

Foram punccionadas oito búfalas da raça Murrah, com idade entre 24 e 36 meses e coletados 804 CCOs através da técnica de punção folicular guiada por ultra-som (OPU), que foram avaliados e analisados pela sua morfologia e destes 248 foram considerados viáveis para a maturação. Os CCOs de qualidade A e B foram maturados em meio TCM 199 enriquecido, em micro gotas de 100 µl, divididos em grupo de alta tensão de oxigênio (5% de CO₂) e baixa tensão de oxigênio (5% de CO₂, 5% O₂, e 90 % de N) numa estufa a 38,5°C por 20 a 24 horas. Os ovócitos maturados foram fecundados em meio Fec completo e os zigotos cultivados em micro gotas em estufa a 38,5°C e mantidos em seus respectivos ambientes gasosos. As taxas de clivagem foram avaliadas em D2 e de blastocisto em D6 e D7 e os dados transformados por arco seno e analisados por análise de variância (pacote estatístico SAS).

Resultados e Discussão

Dos 70 ovócitos maturados em estufa por 20-24 horas com 5% O₂, obteve-se uma taxa de maturação de 82,8% (58) e dos 178 maturados em 20 % O₂ a taxa de maturação foi de 85,4% (152), que submetidos ao cultivo *in vitro*, apresentaram uma taxa de clivagem de 36,2% (21) e 33,6% (51) respectivamente na tensões de 5 e 20% de O₂ e nenhum deles alcançou o estágio de blastocisto no desenvolvimento embrionário. Não houve diferença estatística nos resultados encontrados e conclui-se que mais estudos são necessários para uma melhor elucidação dos eventos biológicos envolvidos na PEIV de bubalinos.

Referências bibliográficas

Baruselli, P.S.; Mucciolo, R.G.; Visintin, J.A.. Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in buffalo (*Bubalus bubalis*). *Theriogenology*, v.47, n. 8, p. 1531-1547, 1997.

Corrêa, G. A. Tensão de oxigênio durante o cultivo *in vitro* de embriões bovinos. *Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, UnB*, 2006, 61 p. Dissertação de Mestrado.

Mondadori, R.G. Foliculogênese, maturação nuclear e citoplasmática de óocitos bubalinos. – Uma Análise estrutural. Brasília: Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília, 2008, 110 p. Tese de Doutorado.

Palavras-chave: Reprodução, búfalo, PEIV.

Keywords: Reproduction, buffalo, PEIV.

140

Uso de dispositivo intravaginal de progesterona (Sincrogest®) para sincronização da ovulação em búfalas na estação reprodutiva desfavorável (*Use of intravaginal progesterone device to synchronization of ovulation in buffaloes during the off breeding season*)

N.A.T. Carvalho¹, M. Raposo¹, J.R.G. Maio², M. Nich³, P.S. Baruselli³

¹Unidade de Pesquisa e Desenvolvimento de Registro, Rod. BR116 – Km435, APTA–Vale do Ribeira, Registro–SP, Brasil; ²Ouro Fino Genética Animal, Ribeirão Preto-SP, Brasil; ³Departamento de Reprodução Animal, FMVZ-USP, São Paulo–SP, Brasil E-mail: nelcio@apta.sp.gov.br

Introdução

A utilização de dispositivos intravaginais de progesterona (P4) por uma ou duas vezes (1) e por duas ou três vezes (2) proporcionam satisfatória resposta folicular em búfalas na estação reprodutiva desfavorável. No entanto, nenhuma pesquisa avaliou simultaneamente a dinâmica folicular de búfalas sincronizadas com dispositivos de P4 de primeiro, segundo e terceiro usos. Com esse objetivo foi conduzido o presente estudo.

Material e Métodos

Foram utilizadas 31 búfalas divididas em três grupos (G1, G2 e G3) de acordo com o escore de condição corporal, período pós-parto e atividade ovariana. As fêmeas do G1, G2 e G3 receberam respectivamente dispositivos intravaginais de P4 (Sincrogest®, Ouro Fino) de primeiro (novo), segundo e terceiro usos, associados a 2mg de benzoato de estradiol intramuscular (i.m., Sincrodio¹®, Ouro Fino) em estágio aleatório do ciclo estral (Dia 0 = D0). Os dispositivos foram removidos e 0,26mg de um análogo de prostaglandina (PGF_{2α}; Cloprostenol sódico, Sincrocio²®, Ouro Fino) mais 400UI de eCG (Novormon³, Intervet) foram administrados i.m. no D9. No D11, as búfalas receberam 10µg de GnRH i.m. (Acetato de buserelina, Sincroforte⁴®, Ouro Fino). Foi realizado exame ultrasonográfico (Aloka 900, transdutor linear de 7,5MHz) no D0 para avaliar a atividade ovariana, no D9 para mensurar o diâmetro folicular e do D11 ao D14 (12/12 hs) para estabelecer o momento da ovulação e mensurar o folículo ovulatório. Os dados foram analisados pelo programa SAS/STAT e os resultados estão apresentados como média ± EPM.

Resultados e Discussão

Não foram verificadas diferenças entre os grupos ($P>0,05$) para as seguintes variáveis: diâmetro (\emptyset) do folículo dominante no D9 (G1=0,9±0,1cm; G2=1,0±0,1cm e G3=0,9±0,1cm), \emptyset do folículo ovulatório (G1=1,3±0,1cm; G2=1,3±0,1cm; G3=1,2±0,1cm), intervalo entre a administração de GnRH e a ovulação (G1=31,5±4,5h; G2=29,3±4,7h; G3=26,0±4,4h) e taxa de ovulação [G1=80,0% (8/10); G2=81,8% (9/11) e G3=60,0% (6/10)] Os resultados do presente estudo possibilitaram verificar que o uso do dispositivo de P4 por uma, duas ou três vezes garante satisfatória sincronização do crescimento folicular e da ovulação, confirmando resultados anteriores para um ou dois usos (1) e para dois ou três usos (2). A utilização dos dispositivos de P4 por até três vezes permite a redução do custo do protocolo de sincronização da ovulação para IATF na estação reprodutiva desfavorável em bubalinos.

Referências bibliográficas

Carvalho, N.A.T.; Carvalho, M.V.; Visintin, J.A.; Vannucci, F.S.; Sá Filho, M.F.; Nichi, M.; Reichert, R.H.; Baruselli, P.S. Uso de dispositivos intravaginais de progesterona associados ao hCG ou GnRH para sincronização da ovulação em búfalas na estação reprodutiva desfavorável. Proc. do XVI Congresso Brasileiro de Reprodução Animal. Belo Horizonte, 2005. v.16. p.1.

Carvalho, N.A.T.; Nagasaku, E.M.; Vannucci, F.S.; Toledo, L.M.; Alvarez, R.H.; Maio, J.R.G.; Veronez, D.G.; Baruselli, P.S. Resposta folicular e taxa de concepção em búfalas sincronizadas com dispositivo intravaginal de progesterona e GnRH para a IATF durante a estação reprodutiva desfavorável. Acta Scientiae Veterinariae. Porto Alegre, 2007. v.35. p.1100.

Palavras-chave: desestacionalização, estação reprodutiva, bubalinos, progesterona, ovulação.

Keywords: desestacionalization, breeding season, buffaloes, progesterone, ovulation.

141

Uso da eCG associada ao protocolo Ovsynch para sincronização da ovulação em búfalas na estação reprodutiva favorável (*Use of eCG associated to Ovsynch protocol for buffalo ovulation synchronization during the breeding season*)

D.C. Souza¹, N.A.T. Carvalho², F.S. Vannucci², C. Kanashiro², G.D. Calomeni¹, P.S. Baruselli¹

¹Departamento de Reprodução Animal, FMVZ-USP, São Paulo–SP; ²Unidade de Pesquisa e Desenvolvimento de Registro, APTA, Registro–SP. E-mail: dicasoubr@yahoo.com.br

Introdução

O protocolo descrito para a IATF de búfalas na estação reprodutiva favorável (outono e inverno) é conhecido

tecnicamente por *Ovsynch* e consiste na aplicação de GnRH/PGF_{2α}/GnRH em dias pré-determinados. Este protocolo proporciona taxas de concepção em torno de 50% (Baruselli e Carvalho, 2005). O presente estudo objetiva aumentar as taxas de ovulação e de concepção por meio do acréscimo da eCG ao protocolo *Ovsynch*. A eCG é a única gonadotrofina capaz de se ligar tanto aos receptores de FSH quanto aos de LH, possuindo atividade tanto folicular estimulante quanto luteinizante. Para Baruselli et al. (2004), a utilização de eCG tem proporcionado melhores porcentagens de prenhez em vacas em anestro pós-parto e com baixa condição corporal submetidas à protocolos de sincronização do ovulação para IATF.

Material e Métodos

Para a realização do presente estudo, foram utilizadas 106 búfalas pertencentes a propriedades localizadas na região do Vale do Ribeira. Estes animais foram divididos, de acordo com o escore de condição corporal, período de lactação e ciclicidade, em dois grupos (Grupo Controle e Grupo eCG). No Grupo Controle (n = 44) foi realizado o protocolo *Ovsynch* (D0, GnRH; D7, PGF_{2α}; D9, GnRH) e 16 horas mais tarde a IATF. No Grupo eCG (n = 62) foi realizado o protocolo *Ovsynch* associado à administração de 400 UI de eCG no D7 (D0, GnRH; D7, PGF_{2α} + eCG; D9, GnRH) e IATF 16 horas após a última aplicação de GnRH. No D0, no D7 e do D9 ao D12 foram realizados exames ultrassonográficos (Pie Medical 200, transdutor linear de 7,5 MHz) para avaliação da atividade ovariana e para a análise do desenvolvimento folicular. Após 30 dias da IATF (D40), foi realizado o diagnóstico de gestação via transretal por exame ultra-sonográfico.

Resultados e Discussão

O diâmetro máximo do folículo dominante (Grupo controle = 1,30 ± 0,06 cm vs. Grupo eCG = 1,18 ± 0,05 cm) e do folículo ovulatório (Grupo controle = 1,07 ± 0,03 cm vs. Grupo eCG = 1,15 ± 0,06 cm) não apresentaram diferenças entre os grupos. O mesmo foi verificado para as taxas de ovulação (Grupo Controle = 62,5% vs. Grupo eCG = 62,5%) e de concepção (Grupo Controle = 50,0 % vs. Grupo eCG = 46,7%). Estes resultados possibilitam concluir que a eCG não proporcionou aumento nas taxas de ovulação e de concepção como proposto inicialmente. Provavelmente, a ação suplementar da eCG sobre o desenvolvimento folicular de animais em anestro e com baixa condição corporal seja praticamente inexistente em animais ciclando e com boa condição corporal. Dessa forma, nas condições do presente experimento não se verificou efeito positivo da eCG quando associada ao protocolo *Ovsynch* em búfalas inseminadas em tempo fixo durante a estação reprodutiva favorável.

Referências bibliográficas

Baruselli, P. S.; Carvalho, N. A. T. Biotecnologias da reprodução em bubalinos (*Bubalus bubalis*). Revista Brasileira de Reprodução Animal, v. 29, n. 1, p. 4-17, 2005.

Baruselli PS, Reis EL, Marques MO, Nasser LF, Bo G A. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrous beef cattle in tropical climates. *Animal Reproduction Science*, v. 82-83, p. 479-486, 2004.

Palavras-chave: Estação reprodutiva, bubalinos, *Ovsynch*, ovulação.

Keywords: Breeding season, buffaloes, *Ovsynch*, ovulation.

CANINOS

142

Avaliação do suplemento vitamínico ReproDog® sobre a qualidade seminal de cães reprodutores (*Evaluation of ReproDog® vitaminic supplementation on the seminal quality of stud dogs*)

D.C. Uchôa¹, J.F.S. Cardoso, A.C. Mota Filho, R.P. Jucá, T.F.P. Silva, L.D.M. Silva

Laboratório de Reprodução de Carnívoros – UECE. ¹danielcouthochoa@terra.com.br

Introdução

O uso de suplementos vitamínicos específicos para a reprodução tem tido crescente procura por parte de criadores de cães de elite, visando melhorar o desempenho reprodutivo destes animais. Na composição destes suplementos, destacam-se os antioxidantes, como selênio e a vitamina E, que são importantes na manutenção da integridade da membrana plasmática espermática. Substâncias antioxidantes não enzimáticas como selênio e vitamina E, interagem com os radicais oxidantes. (AGARWAL; SALEH; BEDAIWY 2002). Já foram relatados os efeitos benéficos dos antioxidantes sobre volume seminal e qualidade espermática em diversas espécies. Assim, este trabalho teve como objetivo, avaliar o efeito de um suplemento vitamínico específico para a reprodução (ReproDog®, Organnact®) sobre a qualidade seminal de cães reprodutores.

Material e Métodos

Para tanto, foram utilizados 6 cães das raças Terrier Brasileiro (n=3), Beagle (n=1), Retriever do Labrador (n=1) e Bulldog Francês (n=1) que foram alimentados com ração comercial e receberam o suplemento ReproDog® de acordo com recomendação do fabricante para o peso de cada animal. O sêmen do machos caninos foi obtido por manipulação digital, sendo realizada 2 coletas por cada animal, uma antes e outra após 60 dias de suplementação. A segunda fração do ejaculado foi avaliada quanto ao volume (mL), motilidade (%), vigor espermático (0-5) e concentração espermática (10⁶ spz/mL) em microscópio óptico. Os dados foram expressos na forma de média ± DP e comparados pelo teste t de Student exceto para o vigor em que foi utilizado o teste de Mann-Whitney, ambos a 5% de significância.

Resultados e discussão

Tabela 1. Parâmetros seminais dos ejaculados caninos (n=12) antes da suplementação vitamínica e 60 dias após a suplementação vitamínica.

Parâmetros	Antes da suplementação	Após a suplementação
Concentração ($\times 10^6$ spz/mL)	325,33 \pm 78,00 ^a	651,67 \pm 234,39 ^b
Motilidade (%)	68,33 \pm 9,83 ^a	96,67 \pm 5,16 ^b
Vigor (0-5)	3,67 \pm 0,87 ^a	5,00 \pm 0,0 ^b
Volume 2ª fração (mL)	0,58 \pm 0,18 ^a	0,80 \pm 0,29 ^a

^{a,b} Letras diferentes na mesma linha denotam diferença significativa ($P < 0,05$).

Exceto para o volume seminal, que não foi afetado pela suplementação alimentar, foi observada uma melhora significativa dos parâmetros seminais 60 dias após a suplementação.

Conclusão

Diante do exposto, conclui-se que a suplementação vitamínica com ReproDog® melhora a qualidade seminal de reprodutores caninos.

Referências bibliográficas

Agarwal, A.; Saleh, R. A.; Bedaiwy, M.A. Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction Fertility and Sterility, v. 79, n. 4, p. 829-843, 2003.

Palavras-chave: suplemento vitamínico, sêmen, cão.

Keywords: Vitaminic supplementation, semen, dog.

143

Efeito da Prostaglandina F₂ α sobre as características do ejaculado canino

R.R. Gutierrez, B.V. Lopes, V.H. Chrinea, G. Araújo, R.F. Bitencourt, M.D. Lopes

FMVZ, UNESP, Botucatu, SP, Brasil. E-mail: denise@fmvz.unesp.br

Introdução

O uso de preparação sexual em conjunto com a coleta de sêmen tem mostrado um aumento do número de espermatozoides no ejaculado. Assim tanto as Prostaglandinas F₂ α (PGF₂ α), os hormônios liberadores de gonadotrofinas (GnRH), a cabergolina e vários nutracêuticos têm sido recomendados para alterar a motilidade, vigor e o número de células espermáticas no ejaculado de cães, o que poderia beneficiar todas as técnicas de reprodução assistida nessa espécie. O objetivo da presente pesquisa é avaliar os efeitos da PGF₂ α sobre as várias características do ejaculado canino.

Material e Métodos

Foram avaliados ejaculados de 05 animais, em dois tratamentos: 1) após 15 minutos da administração de Solução Fisiológica, via subcutânea (*grupo controle*) e 2) 15 minutos após a administração de 0,1 mg/Kg de PGF₂ α , também por via subcutânea, (*grupo experimental*). Tanto no grupo controle como no grupo experimental o volume da solução fisiológica e da PGF₂ α foram os mesmos. Os ejaculados foram avaliados para as características morfofuncionais: motilidade, vigor, concentração, morfologia espermática e teste hiposmótico. Foram realizadas as médias e respectivos erros padrão de cada variável, para em seguida se determinar à comparação entre os grupos controle e experimental. Utilizou-se o teste de ANOVA ao nível de significância de 5% para as variáveis de defeito maiores e menores, para as demais variáveis aplicou-se o teste de ANOVA para medidas repetidas também a 5% de significância.

Resultados e Discussão

Foi constatado uma diferença significativa apenas entre os valores do volume do ejaculado em mL, onde o grupo tratado com PFG₂ α apresentou um volume maior (5,12 \pm 2,38mL x 2,8 \pm 1,8mL) que o grupo controle ($p < 0,05$). Diferentemente dos achados de Kustritz & Hess (2007); e Hess (2006) não foi observado um aumento na concentração espermática dos ejaculados após a administração de PGF₂ α . Esse resultado talvez esteja relacionado com as diversas coletas realizadas antes do início do experimento na tentativa de padronizar a concentração espermática. As coletas anteriores podem ter levado a uma exaustão das reservas espermáticas e mesmo com um aumento na contração da capsula testicular e epididimária promovida pela PGF₂ α não houve uma liberação maior de células espermáticas, apenas de fluido epididimário e provavelmente fluido prostático, aumentando o volume do ejaculado, mas não a concentração espermática. O uso da PGF₂ pode ser indicado em casos que seja necessário um aumento de volume do ejaculado como nos casos de I.A., congelação de sêmen, porém, deve ser sempre administrada com cautela devido a ocorrência de efeitos colaterais.

Referências bibliográficas

Kustritz, M. V. R.; Hess, M. Effect of administration of prostaglandin F₂ α or presence of an estrous teaser bitch on characteristics of the canine ejaculate. **Theriogenology**, v.67, p.255-258,2007.

Hess, M. Documented and Anecdotal Effects of certain Pharmaceutical Agent used to enhance Semen Quality in the Dog. **Theriogenology**, v. 66, p: 613-617, 2006.

Apoio: Fapesp: 08/50266-9.

144

Avaliação de motilidade vigor e concentração do sêmen de cães da raça Beagle, tratados com três rações comerciais (*Evaluation of motility, vigor and concentration of Beagle canine semen, fed with three commercial foods*)

V. Rodrigues, G.H. Toniollo, A.C. Carciofi

Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, FCAV UNESP/Jaboticabal. E-mail: filovet99@yahoo.com.br

Introdução

Os desequilíbrios alimentares são diretamente responsáveis ou predisõem a inúmeras doenças ósseas, metabólicas e podem ser potenciais causadores de degeneração testicular. Sabendo-se que as deficiências nutricionais em cães podem causar transtornos reprodutivos, os objetivos deste estudo são: avaliar possíveis alterações na qualidade do sêmen fresco e verificar possíveis correlações entre rações fornecidas e variáveis reprodutivas analisadas.

Material e métodos

Nove cães da raça Beagle, adultos, foram selecionados e condicionados a colheita de sêmen. Os animais foram divididos em três grupos que receberam três rações comerciais diferentes, a cada 5 meses. Após esse período, ocorria a troca de ração e, ao final de 15 meses, todos os cães foram alimentados com os três tipos de ração comercial, classificadas como *Standard* (A), *Premium* (B) e *Super premium* (C), avaliadas pelo Setor de Nutrição do Hospital Veterinário Laudo Natel da FCAV UNESP/Jaboticabal. A cada 15 dias, foram realizadas colheitas e avaliação do sêmen canino. As médias das variáveis, em cada grupo, nos três períodos, foram analisadas por meio de comparação emparelhada (teste t).

Resultados e discussão

As médias de motilidade espermática foram $81,01 \pm 3,5$, $83,16 \pm 2,3$ e $85,22 \pm 2,4\%$ para as rações classificadas A, B e C respectivamente. Os valores médios de vigor foram $7,49 \pm 0,26$, $7,68 \pm 0,22$ e $7,79 \pm 0,28$ (com valor variando de 0 a 10), para as respectivas rações. A concentração espermática variou entre $231,8 \pm 26,6$, $226,4 \pm 28,0$ e $216,9 \pm 34,7 \times 10^6$ espermatozoides/mL para os respectivos tratamentos. A análise estatística não indicou variação entre os tratamentos e a qualidade do sêmen ($p > 0,05$). Os efeitos de restrições nutricionais sobre a fertilidade são mais graves na puberdade quando comparado ao animal adulto. Os efeitos da subnutrição podem ser corrigidos nos animais adultos, o que não acontece com os animais jovens, devido aos danos permanentes provocados no epitélio germinativo dos testículos. Tendo em vista que os cães eram adultos e apresentavam boa qualidade de sêmen antes do início dos tratamentos, houve pouca mudança na qualidade seminal desses. O resultado poderia ser significativo, se os cães tivessem baixa qualidade de sêmen.

Referências bibliográficas

Colégio Brasileiro de Reprodução Animal. Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal. 2ed. Belo Horizonte: CBRA, 1998. 49p.

Hafez, E. S. E.; Hafez, B. Reprodução Animal. São Paulo: Manole, 2004. 526p.

Palavras-chave: cães, sêmen, nutrição.

Keywords: dog, semen, nutrition.

145

Uso de diferentes colorações na avaliação morfológica de espermatozoides obtidos de epidídimo de cães e gatos (*Different stains used to morphological evaluation of dogs and cats epididymis spermatozoa*)

P.A.P. Savi¹, A.T. Jesus¹, M.I.M. Martins¹

Departamento de Clínicas Veterinárias, Universidade Estadual de Londrina, CEP 86061-570. Londrina, PR. E-mail: imartins@uel.br

Introdução

Os testes para avaliação espermática *in vitro* são importantes, pois oferecem indícios sobre a capacidade fertilizante dessas células, sendo a morfologia espermática uma ferramenta de avaliação da espermatogênese, de baixo custo e fácil realização através de esfregaços de ejaculados corados usando microscopia óptica. O presente teve como objetivo, comparar quatro colorações usadas para leitura da morfologia de espermatozoides obtidos de epidídimos de cães e gatos, com a finalidade de determinar qual a melhor coloração tanto com relação a qualidade, quanto ao custo-benefício.

Materiais e Métodos

Foram analisados espermatozoides obtidos da cauda do epidídimo e ducto deferente de 10 cães e 10 gatos, submetidos à orquiectomia eletiva. Realizaram-se esfregaços do material obtido em lâminas de vidro com quatro corantes: 1) eosina/negrosina, 2) corante de Pope et al. (1991), 3) Panótico Rápido e 4) Karras. Foi realizada a contagem diferencial de 200 células em microscópio óptico, com objetiva de imersão (1000X). As alterações morfológicas foram classificadas em defeitos maiores e menores, e divididas em defeitos de cabeça, peça intermediária, cauda e acrossomo. Os resultados foram expressos em porcentagem e na análise estatística realizou-se o teste Tukey, com nível de significância de 5%

Resultados e Discussão

No grupo cães, as médias das análises dos espermatozoides morfológicamente normais variaram de 35,3 a 57,8% entre os quatro corantes, e foram estatisticamente diferentes ($p < 0,05$). Nas lâminas de morfologia espermática nos diferentes corantes, a diferença na porcentagem de células normais e defeitos maiores, no grupo dos gatos foi significativa ($p < 0,05$). Os corantes Panótico Rápido e Karras apresentaram resultados semelhantes, apresentando uma qualidade inferior de visualização, sendo que muitas células foram classificadas como normais, quando na verdade continham defeitos

detectados nas outras colorações. Observou-se que o corante eosina/negrosina e o descrito por Pope et al (1991), têm como características a boa visualização de acrossomo, de gota citoplasmática (tanto distal, como proximal) e de cauda; facilitando a classificação dos defeitos, sendo que o corante de Pope et al (1991) apresentou-se ainda melhor quanto à exequibilidade e qualidade, pois apresentou baixo-custo, por possuir uma grande durabilidade e economia em sua utilização.

Referências bibliográficas

Pope, C.E., Zhang, Y.Z., Dresser, B.L. A simple staining method for evaluating acrosomal status of cat spermatozoa. J. Zoo Wild. Med., v.22, p.87-95, 1991.

Palavras-chave: morfologia espermática, colorações, cães e gatos.

Key Words: spermatozoa morphologic, stain, dogs and cats.

146

Efeito da estocagem a -10°C do diluidor ACP[®] 106 e da diluição pós-descongelção sobre a qualidade do sêmen criopreservado de cães (*Effect of storage at -10°C of the ACP[®] 106 extender and post-thaw dilution on quality of frozen canine semen*)

R.C.S. Cardoso¹, A.R. Silva², L.D.M. Silva³

¹UFPI; ²UFERSA; ³UECE. E-mail: cardosorcs@yahoo.com.br

Introdução

O diluidor à base de água de coco foi desenvolvido para o sêmen de caprinos (Nunes, 1995) e adaptado para a espécie canina (Cardoso et al., 2005). Recentemente, a água de coco foi desenvolvida na forma de pó (ACP[®]) uma vez que era impossível a sua estocagem por mais que dois dias sem alterar suas propriedades (dados não publicados). Para o sêmen do cão, a água de coco em pó recebe a denominação ACP[®] 106, resultando em bons valores de motilidade espermática pós-descongelção (Cardoso et al., 2005). No entanto, ainda faz-se necessário o aperfeiçoamento do protocolo de congelção com ACP[®] em alguns aspectos para torná-lo mais prático. Portanto, o objetivo do presente estudo foi comparar a eficiência da água de coco na forma de pó (ACP[®] 106) preparado no momento da congelção (grupo-não armazenado) com àquela armazenado na forma congelada (grupo-armazenado). Além disso, objetivou-se avaliar o efeito da diluição pós-descongelção (taxas de 1:0 e 1:4) sobre a longevidade espermática.

Material e Métodos

Foram coletados dez ejaculados através da manipulação digital. A fração espermática foi inicialmente diluída à temperatura ambiente (27°C) utilizando as soluções fresca e congelada, ambas contendo 20% de gema de ovo. Após a diluição, o sêmen foi submetido ao resfriamento, diluído em ACP[®] 106-gema de ovo-glicerol (Cardoso et al., 2005) congelado em vapores de nitrogênio e armazenado em nitrogênio líquido (-196°C). Após uma semana, as amostras foram descongeladas e submetidas às avaliações de motilidade espermática progressiva, morfologia, status acrosomal, integridade funcional de membrana (Teste hipoosmótico) e termorresistência.

Resultados e Discussão

Com relação à motilidade espermática pós-descongelção, não foi observada diferença entre os diluidores nem entre as taxas de diluição, exceto por uma maior motilidade aos 90 minutos no grupo usando ACP[®] 106 armazenado (diluição 1:4). A taxa de espermatozoides e acrossomas normais (sêmen fresco e congelado) durante 60 minutos de incubação foi similar para os grupos não armazenado e armazenado. Uma redução significativa ($P < 0.05$) na funcionalidade de membrana espermática foi observada após a descongelção para o grupo com ACP[®] 106 não armazenado ($53.6 \pm 9.3\%$) e armazenado ($53.1 \pm 17.1\%$), mas não houve diferenças entre eles. O armazenamento a -10°C não diminuiu a eficiência do ACP[®] 106 para a criopreservação de sêmen canino. A diluição pós-descongelção não influencia a sobrevivência espermática pós-descongelção, mas melhora a avaliação da motilidade por diminuir a viscosidade no diluidor.

Referências bibliográficas

Cardoso RCS, Silva AR, Silva, LDM. Use of the powdered coconut water (ACP-106) for cryopreservation of canine spermatozoa. Animal Reproduction, v.2, p.257 - 262, 2005.

Nunes JF. Utilização da água de coco como diluidor do sêmen de caprinos e ovinos. Ciência Animal, v.7, p. 62-69, 1995.

Palavras-chave: sêmen, água de coco, cão.

Keywords: sêmen, coconut water, dog.

147

Análise objetiva da dimetilformamida como crioprotetor para o sêmen canino (*Objective analysis of dimethylformamide as a cryoprotectant for canine semen*)

A.R. Silva, K.R.F. Lopes, L.L.M. Costa, G.L. Lima, A.L.P. Souza, R.A. Lira

Laboratório de Conservação de Germoplasma Animal, UFERSA, Mossoró, RN, Brasil. E-mail: legio2000@yahoo.com

Introdução

Apesar da importância de estudos iniciais sobre a dimetilformamida (DMF) como crioprotetor para o sêmen do cão (Zimmerman et al., 2007, Futino et al., 2008), esses são contraditórios e focados em avaliações subjetivas. Avaliou-se o

efeito do glicerol e da DMF sobre a motilidade do sêmen canino congelado, utilizando-se a análise de sêmen assistida por computador.

Material e Métodos

Quinze ejaculados oriundos de cinco cães foram diluídos em Tris-gema (20%) contendo 6% de glicerol ou DMF. As amostras foram congeladas e armazenadas em botijão criobiológico, e descongeladas em banho-maria após um mês, sendo avaliadas pelo Sperm Class Analyzer[®] (SCA version 3.2.0, Microptic S.L., Barcelona, Spain). Diferenças entre os crioprotetores foram determinadas pelo teste t de Student pareado (P<0,05).

Resultados e Discussão

Os resultados expressos na Tabela 01 mostram um melhor desempenho do glicerol (P<0,05) na preservação dos padrões de motilidade espermática. Conclui-se que não existem benefícios para a criopreservação do sêmen canino ao se substituir o glicerol pela DMF.

Tabela 1: Valores médios (\pm S.E.M.) dos padrões de motilidade determinados por análise de sêmen assistida por computador no sêmen canino (n=15) utilizando-se glicerol ou dimetilformamida (DMF).

	Glicerol	DMF
Número de células contadas ($\times 10^3$)	2,6 \pm 0,4	2,3 \pm 0,3
Motilidade total (%)	56,0 \pm 8,0	46,7 \pm 6,7
Motilidade progressiva (%)	11,8 \pm 2,4 ^a	6,2 \pm 1,7 ^b
Velocidade curvilínea (μ m/sec)	43,4 \pm 5,4	36,9 \pm 3,5
Velocidade progressiva (μ m/sec)	20,5 \pm 2,8	16,4 \pm 2,0
Velocidade média na trajetória (μ m/sec)	31,1 \pm 4,1 ^a	23,1 \pm 2,4 ^b
Linearidade (%)	46,4 \pm 3,1	43,7 \pm 2,1
Progressão(%)	70,6 \pm 2,4	70,1 \pm 1,8
Amplitude lateral de cabeça (μ m)	3,3 \pm 0,2 ^a	3,9 \pm 0,1 ^b
Frequência de batimento cruzado (Hz)	8,0 \pm 0,7	9,2 \pm 0,6

^{a,b} Letras minúsculas indicam diferença estatística entre colunas (P < 0.05).

Referências bibliográficas

Zimmerman M, Santos TE, Fidelis AAG et al. Uso de dimetilformamida e água de coco na criopreservação do sêmen canino. Biosci J, v.23, p.96–100, 2007.

Futino DO, Mendes MC, Matos WN et al. Glycerol, methyl-formamide and dimethyl-formamide in canine semen cryopreservation. Reprod Dom Anim, 2008. doi 10.1111/j.1439-0531.2008.01208.x

Palavras-chave: Sêmen, cão, dimetilformamida, CASA.

Keywords: Semen, dog, dimethylformamide, CASA.

148

Influência da espessura da palheta na qualidade *in vitro* do sêmen canino descongelado (*The effect of straw size upon in vitro quality of post – thaw dog semen*)

D.Q. França¹, T.A.R. Paula², C.S. Cezário², R.M. Mascarenhas², F.T. Carneiro²

¹Bolsista Fapemig, Universidade Federal de Viçosa; ²Universidade Federal de Viçosa. E-mail: daniel.queiroz@ufv.br

Introdução

Muitos fatores influenciam a qualidade do sêmen através do processo de criopreservação, entre eles está a forma de envasamento (Nöthling e Shuttleworth, 2005). Existem palhetas para envasamento de sêmen com volumes variando de 0,25 à 2,5 mL O uso de palhetas com maior capacidade poderia otimizar os procedimentos de congelamento-descongelamento do sêmen, entretanto, sabe-se que quanto maior o diâmetro da palheta menos uniforme é o congelamento do sêmen nela contido. O presente trabalho objetivou investigar a influência da espessura da palheta na qualidade *in vitro* do sêmen canino descongelado, no intuito de estabelecer uma metodologia de envasamento prática e que ao mesmo tempo não prejudique a qualidade de sêmen descongelado.

Material e Métodos

No presente trabalho foram avaliadas palhetas com capacidade de 0,25, 0,5, 1,0 e 2,0. Dez ejaculados de um mesmo animal foram avaliados segundo volume, aspecto físico, vigor, motilidade, concentração e submetidos a teste hiposmótico e coloração supravital. Após análise o sêmen foi diluído em meio Tris-citrato-ovo com 6 % de glicerol, envasado, resfriado por 2 horas em caixa de gelo e pré-congelado em vapor de nitrogênio líquido a 10 cm de distância da lâmina de nitrogênio por 10 minutos antes da imersão. Ao descongelamento foram avaliados o vigor e a motilidade espermática, e realizado o teste hiposmótico, a coloração supravital e o teste de termorresistência.

Resultados e Discussão

Os dados apresentados no presente trabalho demonstram, de forma geral, que o sêmen congelado em palhetas de menor diâmetro (0,25 e 0,5 mL) apresentam qualidade superior na avaliação *in vitro*, concordando com os dados de literatura que relatam superioridade do sêmen congelado em palhetas de menor diâmetro devido a maior uniformidade do resfriamento (Reprodução Animal, 2004).

Referências bibliográficas

J.O. Nöthling, R. Shuttleworth. The effect of straw size, freezing rate and thawing rate upon post – thaw quality of dog semen. *Theriogenology*, v 63, p.1469-1480, 2005.

Reprodução Animal, 7.ed. São Paulo: Manole,2004,p.513.

Palavras-chave: cão, sêmen, palheta.

Keywords: dog, semen, straw size.

Apoio: FAPEMIG.

149

Uso de diferentes concentrações de vitamina C no meio de congelação de sêmen canino (*Use of different concentrations of Vitamin C on the extender for canine frozen semen*)

B.V. Lopes, V.H. Chirinea, A.A.P. Derussi, R.F. Bittencourt, M.D. Lopes

REPAS/FMVZ/UNESP-Botucatu. E-mail: bethania_lopes@yahoo.com.br

Introdução

O espermatozóide é altamente susceptível ao estresse oxidativo, devido a sua alta concentração de ácidos graxos insaturados em suas membranas, o que é a principal causa dos danos espermáticos pós-descongelação. Os espermatozóides possuem baixos níveis de antioxidantes, a suplementação do meio com essas substâncias parece ser uma alternativa viável. A vitamina C é um antioxidante hidrossolúvel capaz de reduzir as ações de radicais livres tanto em meio intra quanto extracelular (BENDICH, 1990). O objetivo deste trabalho foi de avaliar o efeito da adição de diferentes concentrações de vitamina C no meio diluente para a congelação do sêmen canino.

Material e Métodos

Foram usados seis cães adultos e provenientes do canil da polícia militar de Bauru., sendo três deles considerados férteis e três subférteis (concentração espermática < 20x10⁶ spz/mL e/ou índice de patologias espermáticas > 30%). A coleta foi realizada por manipulação digital. Após análise inicial de motilidade e concentração espermática, o sêmen foi diluído (1:1) em meio Tris sem glicerol e então centrifugado (800g por 15 minutos). Em seguida, o sêmen foi diluído em meio TRIS/Frutose/Gema de ovo/Glicerol (Controle) ou com este mesmo meio acrescido de vitamina C (Sigma 238813) em três diferentes concentrações: 1,0 1,5 ou 3,0 mM (G1, G2 e G3, respectivamente). O envase foi feito em palhetas de 0,5mL com 15x10⁶spz Após a descongelação (70°C/8segundos) o sêmen foi avaliado quanto a sua motilidade (CASA) e integridade de membrana, usando as sondas fluorescentes CFDA/IP.

Resultados e Discussão

Quando comparamos as diferentes concentrações de vitamina C, entre os animais férteis x subférteis, houve diferença significativa (p=0.0004) apenas para a integridade de membrana, em G1, onde os animais subférteis apresentaram maior número de espermatozóides íntegros (63% x 41,6%). Nas demais avaliações, nenhuma diferença foi verificada entre os animais férteis e subférteis e entre as diferentes concentrações de vitamina C; portanto, a vitamina C no meio de congelação de sêmen canino na concentração de 1.0 mM mantém a integridade de membrana pós-descongelação de animais considerados subférteis

Referências bibliográficas

Bendich A. Antioxidant Micronutrients and Immune Responses. *Annals New York Academy of Sciences*, p. 168-180, 1990.

Palavras-chave: Vitamina C, sêmen, cães, subfertil

Keywords: Vitamin C, semen, dogs, subfertile.

Agradecimentos: FAPESP, Royal Canin, Polícia Militar de Bauru.

150

Congelamento do sêmen canino diluído em ACP[®]-106 submetido a diferentes concentrações de dodecil sulfato de sódio (*Cryopreservation of dog semen extended in ACP[®]-106 submitted to different concentration of sodium dodecyl sulfate (SDS)*)

R.P. Jucá¹, Â.C. Oliveira, C.C. Barbosa, D.C. Uchôa, J.F.S. Cardoso, A.C. Mota Filho, Á.H.R. Lima, C.C. Campello, L.D.M. Silva

Laboratório de Reprodução de Carnívoros – UECE. ¹E-mail: ricardojuca@gmail.com

Introdução

A inseminação artificial pode ser utilizada como um meio alternativo na impossibilidade de realização de monta natural ou na utilização de sêmen refrigerado ou congelado. O sêmen canino tem baixa resistência ao congelamento, e a motilidade espermática não poder manter-se por tempo prolongado depois da descongelação (IVANOVA-KICHEVA *et al.* 1995; ROTA *et al.* 1995; ENGLAND & PONZIO, 1996). Compostos como o Dodecil Sulfato de Sódio (DSS) são detergentes não iônicos, solúveis em água, utilizados para solubilizar proteínas. Assim, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a qualidade do sêmen canino diluído em água de coco na forma de pó (ACP[®]-106), submetido a diferentes concentrações de SDS.

Material e Métodos

O sêmen de dez cães, submetidos a duas coletas por estimulação manual, foi avaliado e diluído em ACP®-106 acrescido de diferentes concentrações de DSS (controle; 0,1; 0,25 e 0,5%) e adicionado gema de ovo (20%) e glicerol (12%), sendo o diluidor dividido em duas alíquotas. Ambas as alíquotas continham uma concentração espermática final padronizada de 200×10^6 espermatozoides/mL, sendo que a segunda, teve uma adição de glicerol mediante diluição volume:volume, na proporção de uma parte de sêmen para uma de diluente. O sêmen foi congelado, armazenado em nitrogênio líquido e descongelado após uma semana. A motilidade, vigor e morfologia espermática foram avaliados no sêmen a fresco e descongelado. Os dados foram inicialmente submetidos aos testes de Smirnov-Kolmogorov e Bartlett para confirmação da distribuição normal e homogeneidade de variância, respectivamente. Confirmado o atendimento das exigências para ANOVA, esta foi executada por meio do procedimento GLM do programa SAS de (1999) e as médias foram comparadas pelos teste-t de Student. Em alguns casos, a homocedasticidade somente foi observada após transformação logarítmica ou angular. Nas situações em que não ocorreu homocedasticidade, mesmo após a transformação dos dados, foi aplicado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis. Para os dados de morfologia, esses foram submetidos ao teste-t de Student. Os dados foram representados como média \pm erro padrão e as diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0,05$.

Resultados e Discussão

Nenhuma diferença foi observada entre os tratamentos após a descongelação quanto à morfologia. No entanto, nos diversos parâmetros de motilidade avaliados, o grupo contendo 0,5% de DSS apresentou resultados inferiores quando comparado ao grupo controle e aos demais tratamentos (DSS 0,1 e 0,25%). A adição de DSS ao diluidor ACP®-106 para a criopreservação do sêmen canino não trouxe efeitos benéficos quando adicionado nas concentrações de 0,1 e 0,25%, resultando em efeito tóxico na concentração de 0,5%.

Referências bibliográficas

England Gw, Ponzio P. Comparison of the quality of frozen-thawed and cooled-rewarmed dog semen. *Theriogenology*, v.46, p.165-171, 1996.

Ivanova-Kicheva MG, Subev MS, Bobadov, ND, Dacheva DP, Rouseva IA. Effect of thawing regimens on the morphofunctional state of canine spermatozoa. *Theriogenology*, v.44, p.563-569,1995.

Rota A, Ström B, Linde-Forsberg C. Effects of seminal plasma and three extenders on canine semen stored at 4 °C. *Theriogenology*, v.44, p.885-900, 1995.

Palavras-chave: sêmen, congelação, dodecil sulfato de sódio.

Keywords: sêmen, cryopreservation, sodium dodecil sulfate.

151

Effects of the association of low density lipoproteins to several cryoprotectants on post-thaw canine sperm viability
(*Efeito das lipoproteínas de baixa densidade associada a diferentes crioprotetores sobre a viabilidade espermática de cão após o descongelamento*)

M.M. Neves¹, M. Henry¹, L.G.D. Heneine²

¹Setor de Reprodução, Depto de Clínica e Cirurgia Veterinárias - Escola de Veterinária, UFMG; ²Fundação Ezequiel Dias - FUNED, MG. E-mail: mmachadoneves@yahoo.com.br

Introduction

It has been shown that low-density lipoproteins (LDL) in association to glycerol were efficient in preserving the viability of bovine and canine cryopreserved spermatozoa (Moussa et al., 2002; Bencharif et al., 2008), however reports showing the efficacy of the LDL associated to other cryoagents were not found. The aim of the present study was to compare the cryoprotective efficacy of LDLs combined either with glycerol, dimethylformamide or ethylene glycol on canine frozen-thawed sperm.

Material and methods

Extraction of LDL from hen's egg yolk was done following the technique described by Moussa et al. (2002) modified by Neves et al. (2007). Amount of LDLs used in the extenders was based on their protein content. Twenty percent of egg yolk was replaced by the equivalent of 8.9 mg LDLs. Eight dogs were used to form four pools of semen (two dogs/ one ejaculate per dog/ pool). Each seminal pool was divided into four aliquots of equal volume then diluted in Glucose-EDTA extender and centrifuged at 755xg for 7min. The sperm pellets were re-diluted in Tris-citric extender containing: a) 20% hens egg yolk and 5% glycerol (T1, control), b) LDL 8.92 mg / 5% glycerol (T2), 5% dimethylformamide (T3) or 5% ethylene glycol (T4). Samples were packed into 0.5mL straws (100×10^6 spz/mL) and cooled from 24-26°C to 5°C at a rate of 0.5°C/min. Samples were maintained at 5°C for one hour and thereafter frozen down to -120°C by a computerized system (TK3000, Tetakon - Brazil) at a rate of -20°C/min. Thawing was performed at 37°C/30seg. Immediately post-thaw, sperm progressive motility (PM), sperm morphology, sperm reactivity to hypoosmotic swelling test (OH) and sperm membrane structural integrity (epifluorescence test using CFDA/PI) were evaluated. The results were analysed by ANOVA tests and the means were compared by the Tukey's test ($P < 0.05$).

Results and discussion

The functional (OH) and structural membrane integrity (CFDA/PI) were better preserved using T2 (64 \pm 7; 53 \pm 6%, respectively) and T4 (75 \pm 6; 57 \pm 8%) than when using T1 (46 \pm 13; 38 \pm 20%) and T3 (49 \pm 14; 46 \pm 7%) extenders ($P < 0.05$). No differences were obtained among treatments for PM and sperm morphology. Canine spermatozoa extended in media

containing LDL (8.9 mg) in association with either 5% glycerol or ethylene glycol were better preserved post thaw than when using extender containing 5 % glycerol associated to 20% egg yolk or LDL associated to 5% dimethylformamide.

References

Bencharif et al. Theriogenology, v. 70, p. 1478-1488, 2008.

Moussa et al. Theriogenology, v. 57, p. 1695-1706, 2002.

Neves et al. In: Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, 17, 2007, Curitiba. Anais...p.244.

Palavras-chave: Crioprotetores, lipoproteínas de baixa densidade, congelamento, sêmen canino.

Keywords: Cryoprotectants, low-density lipoprotein, freezing, canine semen.

Acknowledgments: to Fapemig (financial) and Tetakon (equipment) for their support.

152

Sêmen canino liofilizado: um método de armazenamento e transporte (*Freeze-dried dog sperm: a means to facilitate storage and transport*)

L.C.O. Magalhães¹, B.V. Lopes¹, C.M. Marini¹, J.A. Dell'Aqua Junior¹, C.P.F. Dell'Aqua¹, F.O. Papa,¹ M.D. Lopes¹

¹Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária, FMVZ, UNESP, Botucatu. CEP: 18618000. E-mail: luismagalhaesona@gmail.com

Introdução

O método utilizado para o armazenamento de células espermáticas em mamíferos, por longos períodos é a manutenção dessas células em temperatura de N₂ líquido. Tal manutenção de células é limitada pelos custos, já que o consumo de N₂ líquido pode tornar essa forma de armazenamento economicamente inviável. É necessário, portanto, viabilizar uma técnica de estocagem prolongada para as células espermáticas, a um custo mínimo, enquanto os espermatozoides se mantenham intactos estruturalmente para serem utilizados em técnicas de reprodução assistida. A liofilização é um método vantajoso, pois os espermatozoides podem ser armazenados por períodos prolongados e transportados a temperatura ambiente e serem recuperados com a cabeça contendo DNA íntegro e flagelo normal. O objetivo dessa pesquisa é viabilizar a técnica de liofilização nas células espermáticas de cães, permitindo seu transporte e armazenamento, a temperatura ambiente, por longos períodos.

Material e Métodos

Sêmen de três cães adultos foi coletado por manipulação digital, analisado e congelado em meio HTF e SOF de acordo com Chirinéa, (2006). O sêmen foi congelado a uma concentração final de 550 x 10³ espermatozoides totais em criotubo. As amostras foram encaminhadas para Laboratório de Microbiologia do IBB da Unesp onde foi submetido ao processo de liofilização no aparelho da Edwards do Brasil sob a temperatura de -40°C por 48 horas. As amostras liofilizadas foram ressuspendidas em 50µL de seus respectivos meios de congelamento. Em seguida, o material foi analisado para integridade de membrana e acrossoma, utilizando sondas fluorescentes de JC1, iodeto de propídeo e PSA, e para integridade de DNA usando acridina orange (Naves et al. 2008), em microscópio de fluorescência (Leica®, Alemanha) no aumento de 1000, e filtro XF35.

Resultados e Discussão

Foram analisadas 100 células espermáticas que apresentaram 84.5% de integridade do DNA. Já para integridade das membranas os resultados apresentaram média de 100% de lesão de membranas, com 70% de integridade acrossômica. Esses resultados permitem sugerir que a despeito das alterações de membranas causadas pelo método de congelamento e liofilização os resultados de integridade de DNA, ao contrário, são promissores permitindo o uso desse material em técnica de ICSI.

Referências bibliográficas

Chirinéa, V.H.; Martins, M.I.M.; Souza, F.F.; Tebet, J.M.; Papa, F.O.; Lopes, M.D. Características morfofuncionais do sêmen canino refrigerado e congelado, usando dois diferentes meios diluentes. *Ciência Animal Brasileira*, v.7, p. 407-415, 2006.

Naves, C.S.; Beletti, M.E.; Duarte, M.B.; Vieira, R.C.; Diniz, E.G.; Jacomini, J.O. Avaliação da cromatina espermática em equinos com azul de toluidina e “acridine orange”.

Palavras-chave: Sêmen, liofilizado, cão

Keywords: Semen, free-dried, dog.

153

Sertolioma associado a carcinoma prostático em cão criptorquida: relato de caso (*Sertolli cells tumor with prostate carcinoma in cryptorchid dog: a case report*)

R.C. Justino, M.I.M. Martins, M.B. Siliane, P.C. Camargo, G.W. Di Santis

Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Londrina. CEP 86061-570. Londrina, PR. E-mail: imartins@uel.br

Introdução

A principal consequência do criptorquidismo é a alteração celular do testículo retido, devido ao aumento de temperatura a

que este é submetido, predispondo a neoplasias testiculares. O sertolioma é tipo neoplásico mais comum, e a maioria são hormonalmente ativos levando o macho a quadros de hiperestrogenismo, que além da síndrome de feminilização pode levar a alterações hematopoiéticas e metaplasia escamosa da próstata. Esta última pode predispor a modificações estruturais pré-neoplásicas devido à estase secretória causada pela transformação do epitélio glandular prostático. Adenocarcinoma, carcinoma de células transicionais e carcinoma indiferenciado são os tipos mais comuns de neoplasias prostáticas em cães (Jonhston et. al., 2001). O intuito deste foi relatar um caso de criptorquidismo abdominal com sertolioma associado a carcinoma prostático.

Relato de caso

Um cão, 10 anos, 37 Kg, Pastor Alemão foi atendido devido a emagrecimento progressivo, decúbito esternal preferencial, anúria, adipisia, anorexia, vômito e aumento de volume abdominal. Ao exame detectou-se abdome tenso e dolorido, dispnéia restritiva, criptorquidismo esquerdo, desidratação moderada, anemia e trombocitopenia moderada, isostenúria e proteinúria. Decidiu-se pela laparotomia exploratória, sendo diagnosticado testículo ectópico em região meso e hipogástrica com 35 cm/25cm, pesando 4 kg. Não foram observadas aderências nem alteração macrascópica em outros órgãos, com exceção da próstata aumentada e irregular. Foi realizada a orquiectomia, citologia aspirativa da próstata e exame histológico dos testículos. O animal veio a óbito no mesmo dia, após intensa hemorragia na linha de sutura. Os laudos relataram sertolioma difuso em testículo ectópico e carcinoma prostático diferenciado.

Discussão

Decidiu-se pelo relato deste caso, devido à importância das complicações do sertolioma, secundário ao criptorquidismo. O que mais chamou a atenção foi que pelo tamanho do testículo neoplásico, a evolução foi longa, e como não havia compressão de nenhum órgão, no momento do diagnóstico as complicações secundárias eram tão graves que levaram o animal a óbito. Portanto, devemos conscientizar os proprietários da importância da intervenção nos casos de criptorquidismo, pois não basta retirar o animal da reprodução, por problemas de transmissão dessa característica, ele deve ser castrado assim que detectado o problema para evitar alterações neoplásicas hormonoddependentes, como o hiperestrogenismo, que pode levar à síndrome de feminilização, proporcionando uma melhor qualidade de vida ao animal.

Referências Bibliográficas

Johnston S.D., Kustritz M.V.R., Olson P.N.S. Disorders of the canine prostate, In: Canine and Feline Theriogenology, W B Saunders Co. p. 313-317. 2001.

Palavras-chave: Sertolioma, carcinoma prostático, criptorquidismo.

Keywords: Sertoli cell tumor, prostatic carcinoma, cryptorchidism.

154

Infertilidade secundária à Intermação em um cão reprodutor: relato de caso (*Secondary infertility in a dog breeder after heatstroke: case report*)

M.I.M. Martins, A.J. Coutinho, R.C. Justino, M.C. Sant'Anna, P.M. Pereira, A.P.F.R.L. Bracarense

Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Londrina. CEP 86061-570. Londrina, PR. E-mail: imartins@uel.br

Introdução

Intermação é uma emergência polissistêmica causada por elevações agudas da temperatura corporal, acima de 41°C. Os cães apresentam congestão de mucosas, taquicardia e taquipnéia, vômito e diarreia, desidratação, oligúria, microtromboses, necrose associada com a desnaturação protéica, proteinúria e choque. Como essas alterações acometem todo organismo, os testículos podem sofrer lesões degenerativas nos túbulos seminíferos, levando a infertilidade, porém se as células de Leydig forem preservadas o cão apresenta a libido normal (Kirk & Bistner, 1987 ; Feldman & Nelson, 1996). O presente relata o caso de infertilidade secundária ao quadro de intermação.

Relato de caso

Um reprodutor, Border collie, 4 anos, foi atendido pelo serviço de emergência com quadro de paresia de posteriores, hipertermia (41°C), mucosas congestionadas, taquipnéia, desidratação e petéquias na região abdominal, quadro desencadeado após exercícios físicos ao ar livre sob o sol em horário muito quente. Procedimentos emergenciais foram estabelecidos fluidoterapia, compressas frias, gelo e oxigenioterapia. O animal apresentou trombocitopenia, episódios de hematoemese e hematoquesia e epistaxe. Após 72 horas de tratamento foi observado edema no lado direito da bolsa escrotal, tratado com compressas frias. Após a recuperação do animal foi realizado ultrassom testicular sendo diagnosticado degeneração testicular no testículo direito e testículo esquerdo sem alterações. Decidiu-se pela orquiectomia do testículo alterado com a finalidade de prevenir uma lesão no contralateral. Necrose coagulativa difusa de túbulos seminíferos foi diagnosticada ao exame histopatológico. Dois meses após a orquiectomia foi realizada uma colheita de sêmen, apesar de apresentar libido normal, apresentou azoospermia, Nova colheita foi realizada após 2 meses, demonstrou melhora na libido mas manteve a azoospermia. A fosfatase alcalina do ejaculado permaneceu baixa (11U/L na primeira colheita e 16U/L na segunda).

Discussão

Apesar deste animal ter se recuperado do quadro de intermação, apresentou severa degeneração nos túbulos seminíferos, e obstrução epididimária levando o animal a infertilidade. Portanto, os proprietários devem ser orientados a proporcionar um manejo adequado aos cães evitando situações de estresse térmico para que a reprodução seja preservada.

Referências bibliográficas

Feldman E.C., Nelson R.W. Manual de Procedimentos e Tratamento de Emergência em Medicina Veterinária, 3ª ed., p. 80-81. 1996.

Kirk R.W. & Bistner S.I. Canine and Feline Endocrinology and Reproduction, 2ª ed., p. 699; 708-709. 1987.

Palavras-chave: Interação, Degeneração Testicular, Cães, infertilidade.

Keywords: Testicular Degeneration, heatstroke, dogs, infertility.

155

Síndrome de feminização, alopecia e metaplasia escamosa da próstata associados a tumor das células de Sertoli em cão Boxer (*Feminization syndrome, alopecia and squamous metaplasia of the prostate associated with Sertoli cell tumor in Boxer*)

F.A. Voorwald, L. Padilha, C.F. Tiosso, A.P.P. Jacintho, G.H. Toniollo, W.R.R. Vicente

Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal - FCAV/UNESP. E-mail: voorwald@gmail.com

Introdução

Os tumores testiculares são raros na maioria das espécies domésticas, mas são mais comuns em cães idosos. Os tumores testiculares mais freqüentes são os sertoliomas, seminomas e tumores das células de Leydig. Aproximadamente 15% dos cães acometidos por sertolioma localizado na bolsa escrotal e 70% na cavidade abdominal, manifestam sinais de hiperestrogenismo, caracterizado por atrofia de medula óssea, síndrome de feminização, hiperpigmentação cutânea e alopecia bilateral simétrica não pruriginosa (SAMPERA et al., 2002). A próstata pode apresentar metaplasia escamosa do epitélio e obstrução dos ductos prostáticos com estase secretória, predispondo a formação de cistos, infecção e abscedação. As metástases de neoplasias testiculares são raras, mas o sertolioma apresenta maior índice metastático quando comparado aos outros tipos de tumores de testículos (PAURA et al., 2004). A orquiectomia bilateral associada à ablação de bolsa escrotal é o tratamento de eleição para este tipo de afecção.

Relato de Caso

Foi atendido no Hospital Veterinário da FCAV/UNESP, um cão Boxer de treze anos, apresentando aumento de volume na bolsa escrotal há dois anos, hiporexia, disúria, disquesia e apatia. Ao exame físico observou-se alopecia simétrica bilateral grave, hiperpigmentação cutânea, ginecomastia, pênis e prepúcio atrofiados, redução da libido, bolsa escrotal pendular e testículos de consistência firme e aspecto nodular, medindo 15cm de comprimento. Foram realizados hemograma, que resultou em pancitopenia discreta, exames bioquímicos e dosagem hormonal. O exame ultra-sonográfico e radiográfico descartou a presença de metástases visíveis e permitiu confirmar a presença de neoplasia em ambos os testículos e metaplasia escamosa da próstata. Realizou-se orquiectomia bilateral e ablação da bolsa escrotal e posterior envio dos tecidos para análise histopatológica. A dosagem de 17 β -estradiol resultou em 96pg/ml, o exame histopatológico revelou proliferação de células neoplásicas originadas das células de Sertoli, com padrão intratubular e difuso. O animal encontra-se em ótimo estado, apresentando completa recuperação clínica, sem sinais de hiperestrogenismo, sendo avaliado periodicamente para descartar a ocorrência de metástases.

Resultados e Discussão

As células de Sertoli são responsáveis pela produção de 17 β -estradiol, a atividade estrogênica do sertolioma é a razão principal do quadro clínico do paciente. Lipowitz et al. (1973) relatam que cães da raça Boxer, apresentam maior incidência de sertolioma, quando comparado a outros tipos de neoplasias testiculares. Ressalta-se, com este trabalho, a importância do exame clínico do sistema reprodutor masculino para detecção precoce de afecções nos testículos e próstata de cães adultos e idosos.

Referências bibliográficas

Lipowitz, A. J., et al. Testicular neoplasm and concomitant clinical changes in the dog. Journal of the American Veterinary Medical Association, n.163, p.1364-8, 1973.

Paura, D.; Martins, C.B.; Ribeiro, A.P.C; Toniollo, G.H.; Vicente, W.R.R. Sertolioma em cães – Relato de caso. Rev. Bras. Med. Vet., v.26, n.4, p.173-176, 2004.

Sampera, N.; Masot, N.; Janer, M.; Romeo, C.; De Pedro, R. Oestrogen-induced bone marrow aplasia in a dog with a Sertoli cell tumor. J. Small Anim. Pract., v.43, p.365-369, 2002.

Palavras-chave: hiperestrogenismo, células de Sertoli, metaplasia escamosa da próstata.

Keywords: hyperestrogenism, Sertoli cell, squamous metaplasia of the prostate.

156

Análise da associação entre brucelose canina e alterações patológicas em cães machos em um Centro de Diagnóstico Veterinário do Rio de Janeiro (*Association Analysis's between canine brucellosis and pathologic alterations in dogs in a Center of Diagnosis Veterinary from Rio de Janeiro*)

A.C.N. Castro¹, V.L.T. Jesus², L.S.S. Castro³, J.V.B. Agottane⁴, M.J.S. Pereira⁵

¹Curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias- UFRRJ; ²Departamento de Avaliação e Reprodução Animal – UFRRJ; ³Curso de Graduação em Medicina Veterinária – UFP; ⁴Instituto de Tecnologia do Paraná; ⁵Departamento de Parasitologia Animal – UFRRJ. E-mail: anacris_castro@yahoo.com.br

Introdução

A brucelose canina é uma enfermidade transmissível que determina falha reprodutiva em machos caninos, acarretando prejuízos econômicos aos criadores, além de ser uma zoonose. Inicialmente tem caráter assintomático, mas tende a cronicidade apresentando sinais que nem sempre podem ser claramente identificados (MARASSI et al., 2004). Nos machos, os sintomas descritos são epididimite, orquite, dermatite escrotal e infertilidade (GONZÁLEZ et al., 2004). O objetivo deste estudo foi avaliar a associação entre alterações patológicas em órgãos do aparelho reprodutivo em cães machos e a soropositividade para brucelose canina.

Material e Métodos

No período de junho de 2007 a novembro de 2008, 212 machos caninos encaminhados ao Centro Veterinário Colina, no Rio de Janeiro, foram submetidos a exame clínico. Amostras de sangue foram coletadas de todos os animais. Após processamento, os soros foram enviados ao Instituto de Tecnologia do Paraná, onde foi realizado o exame de Imunodifusão em gel de Agar com antígeno de *Brucella ovis*. Os dados foram inseridos em um banco de dados elaborado no Programa EPIINFO 2002 e submetidos ao teste exato de Fisher.

Resultados e Discussão

Oito (3,8%) foram reagentes para brucelose canina. Nenhum animal brucélico apresentou alterações patológicas no pênis, na próstata e no prepúcio. Entre os animais positivos, dois apresentaram alterações nos testículos e epidídimos, mas sem associação estatisticamente significativa com a brucelose. Alterações na bolsa escrotal foram diagnosticadas em quatro cães brucélicos, observando-se associação significativa ($p < 0,05$) com a soropositividade. Neste estudo, 11,8% dos cães com distúrbios na bolsa escrotal foram reagentes. Resultado bem superior foi observado no México, onde 44,4% dos machos com patologias na bolsa escrotal eram brucélicos (GONZÁLEZ et al., 2004). Apesar da brucelose ter um caráter assintomático, um exame clínico bem realizado pode auxiliar no diagnóstico desta enfermidade.

Referências bibliográficas

Marassi, CD; Moraes, IA.; Lilenbaum, W. Comparação entre antígenos de *B. canis* e de *B. ovis* para o diagnóstico da brucelose canina em testes de imunodifusão em gel-agarose. Rev. Bras. de Rep. An., v.28, n.2, p.103-107, 2004.

Gonzalez, HB., Ramirez, RMP., Castro, RF., Guernes, FS. Problemas reproductivos em perros machos infectados com *Brucella canis*. Vet. Mex., v.35, n.2, p.121-128, 2004.

Palavras-chave: *Brucella canis*; cão, reprodução.

Keywords: *Brucella canis*; dog, reproduction.

157

Relato de caso – Pseudohermafroditismo feminino canino (*Related case – Canine female pseudohermaphroditism*)

M.C. Ernandes*, **D.P. Galles***, **T.D. Torres***, **D. Sereno***, **T.P. Fernandes****, **M.M. Silvio****, **N.A. Zanco****

Discentes* e Docentes ** do Curso de Medicina Veterinária da Faculdade de Saúde da Universidade Metodista de São Paulo (UMESP), São Bernardo do Campo, SP, Brasil. E-mail: mariane_vet@globo.com; tania.fernandes@metodista.br

Introdução

O hermafroditismo ou intersexo define-se quando um indivíduo possui dois sexos distintos anatômica e funcionalmente. As classificações baseadas na anatomia do intersexo são: hermafrodita verdadeiro: possui tecido testicular e ovariano, quase sempre o tecido testicular está intra-abdominal, de forma que a espermatogênese não ocorre; pseudohermafroditas masculinos: são animais com tecido testicular, mas com uma genitália externa semelhante ao de uma fêmea; e pseudohermafroditas fêmeas: apresentam tecido ovariano, mas com uma genitália externa semelhante à de um macho em menor ou maior grau. Objetivou-se a descrição dessa anormalidade congênita por representar uma condição incomum na espécie canina.

Materiais e Métodos

Foi atendido no Hovet-Umesp um animal da espécie canina, fêmea, SRD, 10 anos e verificou-se ciclos regulares, com atração de machos no proestro e estro, micção em posição de fêmea e presença de uma formação, com aspecto de um pênis, em região pélvica. A proprietária relatou que o animal nascera dessa forma e negou alteração em trato urinário inferior. Ao exame físico observou-se formação de consistência firme, recoberta por mucosa normocorada e presença de meato urinário. Os exames subsidiários realizados foram: ultrassom abdominal, raios-x e urinálise.

Resultados e Discussão

No ultrassom, constatou-se que em região dorsal à bexiga urinária existia a presença de estrutura de aspecto tubular que correspondia a um corpo uterino de dimensões preservadas, com 0,64 cm de diâmetro. Em região caudal ao rim esquerdo, visualizou-se estrutura tendendo a ovalada, medindo cerca de 0,72 cm de comprimento, correspondente ao ovário esquerdo. Aos raios-x observou-se uma estrutura de radiopacidade osso, medindo cerca de 3,3 cm de comprimento, localizada ventro-caudalmente ao osso isquiático, sugestivo de um pseudo-osso peniano. Essas evidências e a presença do pseudopênis não interferiam no funcionamento normal das gônadas femininas, determinando, assim, características de pseudo-hermafroditismo feminino.

Referências Bibliográficas

JOHNSTON, S.D.; KUSTRITZ, M.V.R.; OLSON, P.N.S. **Canine and feline theriogenology**. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 2001. 592 p.

Palavra-chave: pseudohermafroditismo, feminino, canino, intersexo, alterações congênitas

Keywords: *pseudohermaphroditism, female, canine, intersex, congenital abnormalities*

158

Correlação entre número de corpos lúteos e concentração máxima de progesterona em cadelas gestantes e no diestro – Resultados preliminares (*Correlation between number of corpora lutea and maximum progesterone concentration in pregnant and diestrous bitches – Preliminary results*)

M.R. Luz¹, M.D. Lopes², J.G. Giannotti¹

¹Centro de Ciências Agrárias – UFES - Alegre – ES, ² DRARV - FMVZ – UNESP – Botucatu – SP. E-mail: marceloluz@cca.ufes.br

Introdução

A manutenção da gestação em cadelas é dependente de progesterona (P4), secretada apenas pelos corpos lúteos (CLs), e não pela placenta, como em outros mamíferos. Em cadelas, mesmo na ausência de gestação, os CLs permanecem funcionais até por volta do dia 60 (ovulação = dia 2) do diestro (Luz et al., 2006). Até a presente data não há dados na literatura sobre correlação entre número de CLs e secreção de progesterona em canídeos. Portanto, objetivou-se estudar esta correlação em cadelas gestantes e no diestro.

Material e Métodos

Foram utilizadas nove cadelas, sem-raça-definida, com peso entre 5 e 16 kg, sendo GI (cadelas gestantes, n=4) e GII (cadelas no diestro, n=5). As cadelas do GI foram detectadas em estro, acasaladas ou inseminadas artificialmente e a gestação confirmada por ultrassonografia no D25. As cadelas do GII não foram acasaladas. A mensuração de P4 foi realizada em duplicata, a cada 5 dias, durante toda a gestação ou diestro, por radioimunoensaio (Luz et al., 2006). A contagem dos CLs foi realizada por laparotomia, ao final da gestação ou diestro. Para análise estatística, foi feito um estudo de correlação linear entre as variáveis corpo lúteo e progesterona. Para testar se o valor de *r* foi significativo utilizou-se o teste *t* de Student, com $P \leq 0,05$.

Resultados e Discussão

As cadelas do GI apresentaram de 3 a 6 CLs e as do GII de 4 a 7 CLs. A concentração máxima de P4 nas cadelas do GI e GII foi de $29,75 \pm 8,95$ ng/mL e $29,20 \pm 15,73$ ng/mL, respectivamente, e ocorreu nos dias 19 ± 1 e 15 ± 2 , respectivamente. Não foi encontrada correlação linear estatisticamente significativa entre número de CLs e concentração máxima de P4 nas cadelas gestantes e no diestro ($P \leq 0,05$). Assim, é possível que outros fatores além do número de ovulações (CLs) afetem a secreção de P4 em canídeos, como o peso corpóreo, massa luteal, ou como descrito por Songsasen et al. (2006), a eficiência na atividade luteal ou idade. Esses autores relataram que lobas (*Chrysocyon brachyurus*) jovens gestantes apresentaram maiores concentrações de P4 que lobas mais velhas. Nas condições deste estudo, conclui-se que não há correlação entre número de CLs e concentração máxima de P4 em cadelas gestantes e no diestro.

Referências bibliográficas

Luz MR, Bertan CM, Binelli M, Lopes MD. Plasma concentrations of 13,14-dihydro-15-keto prostaglandin F2-alpha (PGFM), progesterone and estradiol in pregnant and nonpregnant diestrus cross-bred bitches. *Theriogenology*, v. 66, p. 1436-1441, 2006.

Songsasen N, Rodden M, Brown JL, Wildt DE. Patterns of fecal gonadal hormone metabolites in the maned wolf (*Chrysocyon brachyurus*). *Theriogenology*, v. 66, p. 1743-1750, 2006.

Palavras-chave: corpo lúteo, progesterona, cadela.

Keywords: corpus luteum, progesterone, bitch.

159

Efeitos da aplicação do benzoato de estradiol na prevenção de gestação em cadelas (*Effects of estradiol benzoate on prevention of canine pregnancy*)

A.A.P. Derussi, M.D. Lopes, V.H. Chirinea, Y. Karaccas, F.C. Landim-Alvarenga, G.H.M Araujo, R.F Bittencourt
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”- FMVZ- Botucatu. E-mail: ana_pagnano@yahoo.com.br

Introdução

Diversas categorias de drogas são empregadas para a prevenção da gestação na cadela, porém, muitas vezes a falta de informação, os efeitos colaterais e o alto custo, dificultam sua utilização. (TSUTSUI et al, 2006). O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos do benzoato de estradiol na prevenção de gestação em cadelas recém-acasaladas.

Material e Métodos

Utilizou-se 24 fêmeas divididas em: *Grupo Experimental*: 12 cadelas que receberam uma única aplicação de benzoato de estradiol (0,2 mg/Kg), IM, entre o 2º e 7º dia da última cobertura. *Grupo Controle*: 12 cadelas que receberam solução oleosa diluente (0,2 ml/Kg) IM, no mesmo período que as fêmeas do grupo experimental. As cadelas foram submetidas a OSH e as tubas uterinas e o útero foram isolados e lavados para a recuperação de embriões, utilizando solução PBS, acrescida de álcool polivinil e heparina. Os embriões foram quantificados, corados com iodeto de propídeo e Hoechst 33342 e examinados em microscópio de contraste de fase e classificados quanto à fase de desenvolvimento. Avaliou-se

também: taxa de recuperação e degeneração ovocitária/ embrionária; viabilidade embrionária, a influência do fármaco sobre a migração, clivagem e implantação embrionária e os efeitos do benzoato de estradiol no sistema hematológico. Os dados foram avaliados a 5% de nível de significância.

Resultados e Discussão

A taxa de recuperação de estruturas no grupo experimental foi de 22,88 %, sendo: 2 mórulas, 01 blastocisto eclodidos, 8 ovócitos grau III e 11 estruturas degeneradas. No grupo controle, a taxa de recuperação de estruturas foi maior, de 65,85%, sendo: 54 estruturas recuperadas, entre elas, 01 mórula, 3 blastocistos iniciais, 19 blastocistos expandidos, 29 blastocistos eclodidos, 01 ovócitos grau III e 01 estrutura degenerada. Não houve influência do fármaco sobre a migração, clivagem e a viabilidade embrionária nos dois grupos avaliados, sendo a taxa de degeneração no experimental de 25% e no controle de 30,4%. Não foi detectada a presença de vesículas embrionárias implantadas em ambos os grupos, porém, acredita-se que as castrações foram realizadas precocemente. Os parâmetros hematológicos mostraram diferença significativa em relação ao volume globular e hemoglobina 15 dias após a aplicação do fármaco, porém, ao final do experimento todas as fêmeas apresentavam hemogramas normais.

Conclusão

O benzoato de estradiol, na dose utilizada, exerceu influência sobre a recuperação embrionária, sem provocar efeitos colaterais graves.

Referências bibliográficas

Tsutsui T, Mizutani W, Hori T, Oishi K, Sugi Y, Kawakami E. Estradiol benzoate for preventing pregnancy in mismatched dogs. *Theriog*, v.66, n. 6-7, p.1568-1572, 2006.

Palavras-chave: gestação, estradiol, benzoato.

Keywords: pregnancy, estradiol, benzoate.

FAPESP: 06/54612-3

160

Resistência elétrica da secreção vaginal e sua relação com o momento da ovulação em cadelas tratadas com deslorelina (*Electrical resistance of vaginal secretion and its relationship with ovulation timing in bitches treated with deslorelin*)

L.L. Lanna¹, M.R.P. Moura¹, R.M. Mascarenhas¹, A.P. Marques Júnior¹

¹Setor de Reprodução Animal da Escola de Veterinária da UFMG. E-mail: leonardollanna@gmail.com

Introdução

O aumento no interesse e os recentes avanços na reprodução canina demandam métodos eficientes e práticos de detecção da ovulação e do momento adequado para inseminação artificial, principalmente quando da utilização de sêmen resfriado ou congelado. Na cadela, as variações na resistência elétrica da secreção vaginal durante o proestro e o estro refletem as alterações hormonais. A ovulação na cadela ocorre no estro durante o pico de resistência elétrica da secreção vaginal, assim como observado em raposas (Møller et al., 1984). Mensurações seriadas podem ser úteis na identificação do melhor momento para deposição do sêmen no aparelho genital canino, sem a necessidade de dosagens hormonais, cujo uso é limitado muitas vezes pelo custo e disponibilidade. O objetivo do presente trabalho é descrever o perfil de resistência elétrica da secreção vaginal e sua relação com o momento da ovulação em cadelas com ciclo estral induzido pela deslorelina, um análogo sintético do GnRH.

Material e Métodos

Cinco cadelas sem raça definida foram tratadas durante o anestro com quatro aplicações em dias alternados de uma formulação líquida de 2.0mg de deslorelina para indução de estro. A resistência elétrica da secreção vaginal foi avaliada diariamente, assim como a concentração de progesterona, desde o dia anterior ao tratamento até o diestro, utilizando-se o detector de ovulação canina Draminski[®] (Draminski Electronics in Agriculture, Olsztyn, Polônia). O dia da ovulação foi definido como o dia em que a concentração plasmática de progesterona ultrapassou 4,0ng/mL, sendo a ovulação confirmada pela presença de corpos lúteos após ovariectomia realizada no diestro.

Resultados e Discussão

Apenas três das cinco cadelas apresentaram estro ovulatório, sendo incluídas nos resultados. Verificou-se elevação da resistência elétrica durante o proestro e o estro, alcançando um platô com duração variável de três a quatro dias entre os animais. O platô de resistência elétrica foi observado 14.3[±]1.5 a 17[±]1 dias após o início do tratamento. A ovulação nas cadelas que responderam ao tratamento com a deslorelina ocorreu 16[±]2 dias após a primeira aplicação. Em todas as cadelas a ovulação ocorreu durante o período de platô, embora a duração e o momento da ovulação dentro do platô tenha sido variável. Portanto, a avaliação da resistência elétrica da secreção vaginal foi considerada eficiente na estimativa do período periovulatório, podendo ser útil na determinação do momento adequado de inseminação na cadela tratada com deslorelina.

Referências bibliográficas

Møller OM, Mondain-Monval M, Smith A, Metzger E, Scholler R. Temporal relationships between hormonal concentrations and the electrical resistance of the vaginal tract of blue foxes (*Alopex lagopus*) at pro-oestrus and oestrus. *J Reprod Fert*, v.70, p.15-24, 1984.

Palavras-chave: resistência elétrica, secreção vaginal, cadela.

Keywords: electrical resistance, vaginal secretion, bitch.

161

Maturação nuclear oocitária intraovariana em fêmeas caninas em diferentes status reprodutivos (*Intraovarian oocyte nuclear maturation in bitches in different reproductive status*)

A.P.C. Ribeiro¹; W.R.R. Vicente²; E.A. Pires³; A.E. Alves⁴; M. Apparício⁵; S.S. Bastos⁶

^{1 e 6} Universidade Federal do Tocantins / Câmpus de Araguaína; ^{2,3,4 e 5} Universidade Estadual Paulista / Unesp – Câmpus de Jaboticabal - E-mail: apcribeiro@uft.edu.br

Introdução

Oócitos caninos são ovulados imaturos, em estágio de vesícula germinativa, enquanto as outras espécies ovulam oócitos em metáfase II (Luvoni et al., 2005). Apesar dessas informações, Hewitt & England (1998) estudaram a incidência de maturação nuclear intrafolicular de cadelas e encontraram oócitos em estágio de quebra de vesícula germinativa (QVG) e metáfase I (MI), provenientes de ovários de cadelas em diferentes fases do ciclo estral. Os autores relatam que tais achados não haviam sido descritos anteriormente. Assim, esse estudo objetivou investigar a incidência de maturação oocitária intraovariana de cadelas em anestro e estro.

Material e Métodos

A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Reprodução Animal, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp – Câmpus de Jaboticabal em parceria com a Universidade Federal do Tocantins. Para o presente estudo foram utilizados 108 oócitos, provenientes de 20 fêmeas caninas, em anestro e estro. Os oócitos foram obtidos por fatiamento ovariano e somente os oócitos com diâmetro superior a 110µm em COCs Grau I foram selecionados. Os mesmos foram imediatamente submetidos à coloração em protocolo utilizando bisbenzimid (Hoechst 33342) em glicerol (0,001%), para posterior análise da configuração nuclear.

Resultados e Discussão

Da população de oócitos avaliados, 26,78% e 19,23%, apresentaram-se em QVG, respectivamente nas fêmeas em anestro e estro. Também evidenciou-se progressão da meiose para MI (8,93% no anestro, 3,85% no estro) e ainda dois oócitos em A-T (anáfase-telófase), no estro. Quanto à influência da fase do ciclo estral sobre os diversos graus de maturação nuclear, constatou-se ausência de diferença significativa ($p < 0.05$). Hewitt & England (1998) observaram taxas de QVG de até 7,5% em fêmeas em estro, de 2% de MI em oócitos de cadelas em proestro., mas as fêmeas em anestro apresentaram oócitos com 100% de VG. Esses autores constataram influência positiva da fase do estro em detrimento do anestro na maturação nuclear, fato não confirmado em nosso estudo. Pode-se assim concluir, que há retomada e progressão da meiose em oócitos, no ambiente intrafolicular, sem influência dos estádios reprodutivos aqui avaliados.

Referências bibliográficas

Luvoni GC, Chigioni S, Allievi E, Macis D. Factors involved in vivo and *in vitro* maturation of canine oocytes. *Theriogenology*, v.63, p.41-59, 2005.

Hewitt DA, England GCW. Incidence of oocyte nuclear maturation within the ovarian follicle of the bitch. *Veterinary Record*, v. 143, p.590-591, 1998.

Palavras-chave: oócitos, ovário, maturação nuclear, cadelas, estro, anestro.

Keywords: oocytes, ovary, nuclear maturation, bitch, estrus, anestrus.

162

Peritonite pós-cobertura em cadela com síndrome de ovário remanescente (SOR): relato de caso (*Post breeding peritonitis in bitch with ovarian remnant syndrome: case report*)

R.R.D. Maziero, C.E.A. Biscarde, M.C.C. Mattos, G.A. Monteiro, G.H.M. Araújo, U.J.P. Stelmann, N.C. Prestes, S.D. Bicudo

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP – Botucatu-SP. E-mail: rosiaramaziero@yahoo.com.br, sony@fmvz.unesp.br

Introdução

A síndrome do ovário remanescente (SOR) é definida como a persistência da atividade ovariana em fêmeas castradas cirurgicamente (ovariosalpingohisterectomia - OSH), nas quais permanece parte ou todo o ovário que se vasculariza, tornando-se funcional. Não há relato na literatura sobre as consequências de uma possível cobertura, portanto descreve-se este caso com o objetivo de descrever uma peritonite desencadeada pós monta natural em cadela portadora de SOR, atendida no hospital veterinário da FMVZ – UNESP – Botucatu-SP.

Relato de caso

Uma cadela Boxer branca com 3 anos de idade, 30.5Kg foi atendida no ambulatório de pequenos animais da área de Reprodução Animal, com histórico de ter sido castrada há um ano em virtude de uma piometra. A queixa principal foi a presença de corrimento vaginal marrom e atração de machos. A suspeita de SOR confirmada pela citologia vaginal, na qual foram observadas mais de 80 % de células epiteliais superficiais e ao exame ultrassonográfico, em que foi observada uma área hipocóica próximo à base do rim direito e áreas hiperecóticas próximo ao pólo caudal do rim esquerdo.

Dezesseis dias após a primeira consulta, o animal retornou com histórico de ter sido coberta há 6 dias, apresentando apatia, hipodipsia, anorexia, FC: 124 bpm, FR: 40mpm, temperatura de 39.5°C, mucosas congestas, corrimento vulvar purulento. Ao exame ultrassonográfico foi observada elevada ecogenicidade da região caudal do abdômen. O hemograma e bioquímico sérico para uréia e creatinina indicaram azotemia e a laparotomia observou-se áreas de intensa hiperemia por toda a cavidade e líquido sero-sanguinolento acumulado encontrando o coto uterino rompido e aderido a bexiga. Ao examinar o pólo caudal do rim direito foi observado tecido ovariano com presença de folículos, procedendo-se a retirada do mesmo. Para tratamento da peritonite a cavidade abdominal foi lavada com 1 litro de solução fisiológica a 0,9% e administrado-se via intravenosa metronidazol® (10mg/kg) durante o procedimento cirúrgico. Ao final do procedimento a síntese da cavidade foi realizada com pontos em “x” tipo Sultan, reaproximação e redução de espaço morto do subcutâneo e sutura da pele com pontos simples separados. No pós-operatório foi receitado enrofloxacin (Baytril®-Bayer) (10mg/kg) durante 10 dias e uso de meloxicam (Maxicam®-Ouro Fino) (0,1mg/kg) durante 3 dias. O retorno foi marcado para retirada dos pontos cirúrgicos da pele, nesta ocasião o animal apresentou parâmetros clínicos e hemograma dentro da normalidade.

Discussão

O diagnóstico da SOR está relacionado aos sinais de estro aliado com referência de OSH prévia. Além disto, observa-se crescimento da glândula mamária e pseudociese recorrente. Células epiteliais superficiais cornificadas são observadas na citologia vaginal, assim como presença de corrimento vaginal e atração dos machos. A administração de GnRH ou HCG estimulando a resposta de um possível tecido ovariano, além da ultrassonografia para localização do órgão são métodos auxiliares no diagnóstico, porém o último se restringe a animais em estro ou diestro, pois nestas fases a presença de folículos ou corpos lúteos apresentando tamanho considerável facilita a sua visualização. Caso o animal não se encontre nestas fases do ciclo estral o exame ultrassonográfico será de pouca valia, logo o método para definir o diagnóstico e tratamento da SOR é laparotomia exploratória. Durante a fase de estro deve-se ter o cuidado em não deixar cadela acasalar, a fim de evitar uma possível ruptura de coto uterino e posterior peritonite.

Palavras chave: síndrome do ovário remanescente, peritonite, cadela.

163

Torção uterina de 540° durante a gestação em cadela da raça poodle (*Uterine torsion during pregnancy of 540° in bitch of the breed poodle*)

S. Bernardo¹, C.A.M. Bomfim²

¹Residência Méd-Veterinária, UNESP, Araçatuba-SP; ²Área de Reprodução Animal, UNESP, Araçatuba-SP. Email: simonevetuem@yahoo.com.br; cabomfim@fmva.unesp.br

Introdução

A torção uterina consiste numa rotação do útero sobre seu eixo longitudinal, podendo atingir de 90° a 540°. Cadelas com esta enfermidade podem apresentar locomoção rígida, coluna cifótica, contração e aumento da tensão da parede abdominal, associada à grande aumento de sensibilidade abdominal (Grunert, 1982). A torção severa pode causar obstrução do suprimento sanguíneo para o útero resultando em trombose ou rotura uterina, choque, morte materna e fetal (Johnston, 2001). O caso trata-se de torção uterina de 540° com envolvimento completo de um corno uterino e mais de 60% do outro, ocorrida durante a gestação em cadela.

Material e Métodos

Uma cadela plurípara da raça poodle (idade 4 a 8 meses) foi atendida pela área de reprodução animal da UNESP de Araçatuba-SP. Submetida a exame ginecológico, radiográfico, ultrasonográfico e após o diagnóstico realizou-se a cesariana radical. Utilizou-se análise macroscópica e documentação fotográfica digital.

Resultados e Discussão

Havia relato do proprietário que a cadela esteve em cio há aproximadamente 35 dias. Observou-se apatia, dor e distensão abdominal intensa, anorexia, hipotermia, taquipnéia, taquicardia, ausência de sinais prodômicos ou de parto. Nas radiografias havia imagens de aumento uterino sem formações ósseas em seu interior e na ultrasonografia vesículas e saculações com conteúdo anecóico, crânio fetal na região cranial do corno uterino direito sem definição clara de demais partes fetais e ausência de batimento cardíaco. Durante a cesariana, verificou-se que a porção cranial do corno uterino direito não apresentava torção, entretanto, a medial e caudal deste corno juntamente com todo o corno esquerdo apresentavam torção longitudinal em 540° sobre o corpo e colo uterino. Com exceção de um feto de tamanho 5,5cm encontrado na porção que não sofreu torção, os demais estavam em franco processo de autólise juntamente com seus envoltórios fetais sendo impossível determinar tamanho e número de fetos. Havia coágulos sanguíneos espalhados por toda a extensão da luz uterina. No útero havia presença de seis sítios placentários e com exceção da porção não rotacionada que estava com coloração normal (rôsea) as demais áreas do endométrio estavam enegrecidas. Assim, concluiu-se que se tratava de torção uterina de 540° desenvolvida durante o período gestacional.

Referências Bibliográficas

Grunert, E.; Birgel, E.H.; Obstetrícia Veterinária, 2ª edição, editora Sulina, Porto Alegre-RS, 1984.
Johnston, S.D., Kustritz, M.V.R., Olson, P.N.S.; Canine and Feline Theriogenology, 1ª edição, editora Saunders, Philadelphia-PA, 2001.

Palavras-chave: torção uterina, corno, cadela, gestação.

Keywords: uterine twist, horn, bitch, pregnancy.

164

Avaliação preliminar da metformina como droga para tratamento de cistos foliculares em cadelas (*Preliminary evaluation of metformin as a drug for follicular cyst treatment in the bitch*)

M.V.D. Almeida, J.C. Silva, E. Pavão, A.R. Lamounier, M.A. Rachid, H.A.M. Grandinetti, G.R. Valle

Medicina Veterinária PUC Minas-Betim. E-mail: guilhermerv@pucminas.br

Introdução

Os cistos foliculares são as patologias de ovário mais comuns em cadelas, no entanto a eficiência da terapia com hCG ou GnRH é baixa, restando a ovariectomia (Johnston et al., 2001). Nos seres humanos a terapia é também pouco efetiva, utilizando-se a Metformina em mulheres com Síndrome do Ovário Policístico por haver uma relação da hiperglicemia com a função ovariana (Silva et al., 2006). Assim, este experimento procurou verificar a tolerância de cadelas ao uso da Metformina como potencial droga para tratamento da doença ovariana cística.

Material e Métodos

Foram utilizadas 15 cadelas SRD em anestro (progesterona <1,0ng/mL sem sinais clínicos e citológicos de cio) distribuídas nos grupos: C (controle), sem tratamento durante 28 dias; MS, 250mg de Metformina SID *per os* / 7 dias seguido de 250mg BID / 21 dias; MD, 250mg SID *per os* / 7 dias, 250mg BID / 7 dias e 500mg BID / 14 dias. A cada 7 dias realizadas citologias vaginais para verificação da permanência em anestro e dosagens séricas de glicose, albumina, bilirrubina, creatinina, fosfato, Gamaglutamil transferase - GGT, proteínas totais, Transaminase Glutâmico-oxalacética - TGO, Transaminase Glutâmico-pirúvica - TGP e uréia. Ao final foram eutanasiadas, os ovários avaliados e fragmentos dos rins e fígado coletados para histopatologia. Os dados foram analisados por ANOVA e SNK (P<0,05). **Financiamento**

Fapemig/Probic.

Resultados e Discussão

Todas as cadelas permaneceram em anestro e não houve sinais significativos de toxicidade da droga pelas avaliações bioquímicas e histopatológicas, apenas em MS uma elevação dos níveis de fósforo no 21º dia (P<0,05). Por outro lado, os níveis de bilirrubina direta foram menores no MD em relação ao C no 28º dia (P<0,05), assim como no 21º dia menores níveis (P<0,05) de TGP em MS e MD em relação a C, mas todos dentro dos parâmetros de normalidade. Fígado e rins mostraram alterações discretas e não específicas nos três grupos. Tais achados mostram que a droga, mesmo na dose de 500mg/kg, não causou distúrbios renais ou hepáticos nos animais, inclusive podendo ter sido benéfico à função hepática, possibilitando avançar no estudo sobre sua utilidade na terapia da doença ovariana cística da cadela.

Referências bibliográficas

Johnston, S. D. et al. Disorders of the canine ovary. In: _____. Canine and feline theriogenology. Philadelphia: W. B. Saunders, 2001. cap.10, p.193-205.

Silva, R. C. et al. Síndrome dos ovários policísticos, síndrome metabólica, risco cardiovascular e o papel dos agentes sensibilizadores da insulina. Arq. Bras. Endocrinol. Metabol., v.50, n.2, p.281-290, 2006.

Palavras-chave: cadela, metformina, cisto folicular ovariano.

Keywords: Bitch, metformin, ovarian follicular cyst.

165

Método objetivo de classificação da hiperplasia cística endometrial em cadelas (*Objective method for cystic endometrial hyperplasia classification in bitches*)

C.L.F.G. Ramos¹, I.C.N. Cunha¹, E.C.Q. Carvalho¹, L. Moreira¹, J.L.G. Ramos¹, E. Shimoda²

¹Universidade Estadual do Norte Fluminense, CCTA - Campos dos Goytacazes-RJ; ²Universidade Cândido Mendes - Núcleo Pesq. Desenv., Campos dos Goytacazes-RJ. E-mail: cunhaicn@uenf.br

Introdução

A hiperplasia cística endometrial (HCE) é caracterizada pelo aumento no número de glândulas endometriais, aumento na atividade secretória e possível acúmulo de fluido estéril nas glândulas e no lúmen uterino. (FELDMAN & NELSON, 1996). Este trabalho propõe um sistema simples e objetivo para a classificação histopatológica da HCE em cadelas.

Material e Métodos

Foram avaliados e classificados 36 úteros seguindo o método proposto. De cada útero foram avaliados 07 segmentos provenientes do terço proximal, médio e distal de cada corno e do corpo uterino. As amostras foram fixadas, avaliadas histologicamente sob microscopia de campo claro e classificadas para HCE por um método somatório quanto aos seguintes parâmetros: I) Extensão e número de glândulas císticas no campo de avaliação (em objetiva 4x): **A** - 1 a 5 glândulas cística(s) e/ou com diâmetro(s) dilatado(s) 5 a 10 vezes mais que o diâmetro glandular normal; **B** - 5 a 10 glândulas císticas e/ou com diâmetros dilatados 10 a 20 vezes mais que o diâmetro glandular normal; **C** - mais de 10 glândulas e/ou 1 ou mais com diâmetro mais que o diâmetro glandular normal; II) Extensão de infiltrado neutrofílico no campo de avaliação (em objetiva 40x): **0** - ausência de neutrófilos; **1** - até 20 neutrófilos; **2** - entre 21 e 40 neutrófilos e **3** - superior a 40 neutrófilos e III) Distribuição da HCE ao longo do útero: **focal** - apenas um segmento com HCE; **multifocal**

- mais de um segmento com HCE e **difuso** - todos os segmentos com HCE. Cada útero recebeu uma classificação final, sendo esta aquela verificada no segmento que apresentava maior intensidade da lesão.

Resultados e Discussão

Dos 36 úteros, 15 (41,66%) apresentavam HCE nos achados histopatológicos. A ocorrência da HCE não diferiu em ambos os cornos uterinos, bem como entre os terços proximais, mediais e distais. As lesões císticas apresentaram 33,3% (n=5) de HCE multifocal, 66,7% (n=10) de HCE difusa e nenhuma focal. Dos úteros avaliados, 66,7% receberam grau C e 46,7% grau 3. Sugerimos com estes achados que a colheita de apenas um segmento uterino, sendo este de qualquer parte do útero, pode ser representativa para o diagnóstico da HCE em cadelas. Concluímos que a metodologia proposta reduz a subjetividade de classificação e permite o relato da extensão da lesão em casos individuais.

Referências bibliográficas

Feldman, E.C.; Nelson, R.W. Canine and feline endocrinology and reproduction. Philadelphia: W.B. Saunders, 1996, 785 p.

Palavras-chave: classificação, HCE, histopatologia, cadelas.

Keywords: classification, CEH, histopathology, bitches.

166

Caracterização microbiológica do conteúdo uterino e vesical de cadelas com piometra atendidas na região de São José do Rio Preto – resultado preliminar (*Microbiological characterization of uterine and vesical content of bitches with pyometra attended at the region of São José do Rio Preto – preliminary results*)

R. Volpato¹, R.C.Cardoso¹, F. Curti², D.B. de Sousa², M.D. Lopes¹

¹Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP/Botucatu; ²Centro Universitário de Rio Preto, UNIRP. E-mail: rodrigo.volpato@hotmail.com

Introdução

A bactéria isolada com maior frequência no útero de cadela com piometra é a *Escherichia coli*, encontrada em 57% a 96% das amostras uterinas. A origem destes microrganismos seria o próprio intestino e trato urinário do animal. Em 87,8% das culturas do conteúdo uterino de cadelas com piometra, houve o isolamento de algum agente. A *E. coli* é um bastonete gram negativo, com linhagens que apresentam movimentação devido a flagelos peritricos típicos das *Enterobacteriaceae*, o que justifica a sua capacidade de infecção ascendente. Os fatores de virulência nas estirpes de *E.coli* isolados do conteúdo uterino com piometra as caracterizam como uropatológicas. Estes fatores provocam destruição tecidual através das exotoxinas, produtos bacterianos que induzem resposta auto-imune e endotoxemias.

Material e Métodos

O objetivo deste trabalho é a identificação dos principais agentes bacterianos isolados do conteúdo uterino e vesical de cadelas com piometra. Realiza-se a semeadura das amostras em ágar sangue ovino 5% e ágar MacConkey, as quais são mantidas em aerobiose a 37°C, procedendo-se as leituras após 24 e 48 horas. Os agentes são então classificados de acordo com as características morfológicas, pigmentação, tipo e presença de hemólise, por provas bioquímicas específicas como catalase, para identificação de cocos gram positivo e Kit Meio Rugai e Araújo, modificado por Pessoa e Silva para identificação de bacilos gram negativo.

Resultados e Discussão

Das 31 amostras até o momento analisadas, 24 apresentaram crescimento bacteriano positivo para o conteúdo uterino, sendo isolados os agentes *E. coli* (66,7%), *Streptococcus* sp (12,5%), *Klebsiella* sp (16,7%) e *Staphylococcus* sp (4,1%). Quanto ao conteúdo vesical, 5 amostras foram positivas, sendo isolado *E. coli* (100%) que também foram isoladas do conteúdo uterino respectivamente. Como meta final deste trabalho, analisar-se-á 60 conteúdos uterinos e vesicais de cadelas portadoras de piometra.

Referências bibliográficas

Pretzer, S.D. Clinical presentation of canine piometra and mucometra: A review. *Theriogenology* v.70, p.359-63, 2008.

Sydow, A.C.M.D.G.V. Avaliação de ocorrência de fatores de virulência em estirpes de *Escherichia coli* em fezes de cães errantes. São Paulo, 2005. Dissertação (mestrado) Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, campus São Paulo, Universidade de São Paulo.

Weiss, R.R.; Calomeno, M.A.; Sousa, R.S.; Briersdorf, S.M.; Muradás, P. Avaliação histopatológica, hormonal e bacteriológica da piometra na cadela. *Archives of Veterinary Science* v.9, n.2, p.81-7, 2004.

Smith, F.O. Canine pyometra. *Theriogenology* v.66, p.610-2, 2006.

Oliveira, K.S. Cystic endometrial hyperplasia complex. *Acta Scientiae Veterinariae* v.35, n.2, p.270-2, 2007.

Palavras-chave: Piometra, conteúdo uterino, conteúdo vesical.

Keywords: Pyometra, uterine content, vesical content.

167

Estudo comparativo entre pectus excavatum e síndrome do cão nadador – relato de casos (*Comparative study of pectus excavatum and "swimming pups" syndrome – Related Cases*)

D.P. Galles, M.C. Ernandes, J.C.S. Smynniuk, D. Sereno, T.P.Fernandes, M. Kolber

Curso de Medicina Veterinária da Universidade Metodista de São Paulo (Umesp). E-mail: deborahgalles@hotmail.com;

Introdução

O *pectus excavatum* e a Síndrome do Cão Nadador são distúrbios do sistema respiratório envolvendo anormalidades congênitas da parede torácica de neonatos da espécie canina. O *pectus excavatum* consta de uma deformidade congênita do esterno e das cartilagens costais, que resultam em um estreitamento ventro-dorsal do tórax. Nessa afecção o esterno parece introduzir-se ou projetar-se no tórax. Os sintomas respiratórios podem estar presentes. A Síndrome do Cão Nadador descreve o filhote jovem com o tórax achatado e incapacidade para levantar-se ou manter-se em pé. Radiograficamente, a alteração é semelhante ao *pectus excavatum*, exceto pela ausência da curvatura do esterno e pelo achatamento mais difuso, além da abdução dos membros pélvicos prejudicando a ambulação. O objetivo desse estudo foi o diagnóstico diferencial.

Materiais e Métodos

Foram atendidos no Hovet-Umesp dois casos, sendo o primeiro, um cão, macho, de 30 dias, SRD. Em uma consulta para o acompanhamento da ninhada, a qual ele pertencia, observou-se um achatamento esternal à palpação e, segundo o proprietário, uma leve dispnéia. O segundo caso tratava-se de uma fêmea da espécie canina, com 30 dias, Shi-Tzu, com queixa principal de paresia, membros em abdução com consequente dificuldade de locomoção e tórax aprofundado. Realizou-se exame radiográfico para elucidação do diagnóstico nos dois casos.

Resultados e Discussão

No caso do *pectus excavatum*, constatou-se, após exame radiográfico, um deslocamento dorsal do esterno comprimindo a silhueta cardíaca, após um mês, foi realizada outra radiografia para controle e observou-se que a conformação da cavidade torácica voltara aos parâmetros normais. Neste caso, a cura foi espontânea sem necessidade de intervenção cirúrgica ou algum método de compressão. Já no caso da Síndrome do Cão Nadador, no exame radiográfico, visualizou-se a presença de 8ª esternébra em posição anômala o que não caracterizava *pectus excavatum*. Realizou-se o tratamento na casa do proprietário, sobre piso áspero facilitando a locomoção. As duas afecções afetam o sistema respiratório, acometem animais da mesma faixa etária, possuem prognósticos distintos e necessitam de exame radiográfico para diferenciação.

Referências bibliográficas

Fossum, T.W. et al. Cirurgia de pequenos animais. 2 ed. São Paulo: Roca, 2005. 1390 p.

Johnston, S.D.; Kustritz, M.V.R.; Olson, P.N.S. Canine and feline theriogenology. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 2001. 592 p.

Palavras-chave: *pectus*, cão, nadador, peito, escavado, *excavatum*.

Keywords: swimming, pups, *pectus*, *excavatum*, canine.

CAPRINOS

168

Avaliação da qualidade de sêmen de caprinos com escroto bipartido e sem bipartição em duas épocas do ano no Estado do Piauí (*Evaluation of the quality of goat semen with scrotum externally divided and non-divided in two season in Piauí State*)

F.T.S. Cardoso, R.J. Vieira, L.M. Azevedo, L.A.L. Cunha

Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da Universidade Federal do Piauí. E-mail: fernandatercia@hotmail.com

Introdução

Em temperaturas ambientais elevadas a separação do escroto em duas unidades distintas aumenta consideravelmente a superfície de evaporação de cada testículo (Nunes et al., 1983). Objetivou-se, avaliar a influência da conformação escrotal nas características físicas e morfológicas do sêmen de reprodutores caprinos criados no Estado do Piauí, visando a seleção de animais mais adaptados às condições adversas de temperatura elevada.

Material e Métodos

Utilizaram-se reprodutores caprinos (n=11) sem padrão racial definido, criados no Estado do Piauí, em idade reprodutiva (10 meses a 3 anos), sem alteração clínica comprovada através de exame andrológico, sendo divididos em: Grupo I (4 animais com escroto sem divisão externa); Grupo II (4 animais que apresentavam escroto com divisão externa de até 50% do comprimento testicular) e Grupo III (3 animais com escroto apresentando divisão externa maior que 50% do comprimento testicular). O sêmen foi colhido através de vagina artificial. Os parâmetros reprodutivos foram avaliados nos períodos seco (outubro a dezembro de 2005) e chuvoso (fevereiro a abril de 2006). Após cada colheita o ejaculado foi analisado quanto a volume, aspecto, movimento de massa (turbilhonamento), motilidade progressiva, vigor, concentração e patologias maiores e menores. Os resultados foram avaliados pelo programa estatístico SAS (1997) e as médias comparadas pelo teste de Duncan a 5%.

Resultados e Discussão

O volume do sêmen não indicou diferença significativa ($p > 0,05$) entre grupos, seja no período chuvoso quanto no seco. Os valores de turbilhonamento mostraram diferença significativa ($p < 0,05$) entre os Grupos (GI, GII e GIII), nos períodos chuvoso e seco, estes resultados estão em concordância com aqueles descritos por Mies Filho (1987), Nunes et al. (1997)

e Hafez & Hafez (2004). Os valores médios de vigor espermático para o período seco, no GIII se encontraram dentro dos preconizados por Mies Filho (1987), Nunes et al. (1997) e Hafez & Hafez (2004), enquanto os observados nos grupos GI e GII foram inferiores aos relatados por esses autores. A motilidade progressiva dos espermatozoides apresentou, no período chuvoso, percentual maior ($p < 0,05$) nos animais do grupo GI, em contrapartida, no período seco maiores percentuais ($p < 0,05$) foram observados no grupo GIII. O percentual de patologias espermáticas apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) entre os grupos apenas no período seco, com ocorrência de maiores percentuais ($p < 0,05$) de espermatozoides com patologias de cabeça nos ejaculados dos animais do GI. Independente do grau de divisão escrotal, o período chuvoso determina melhores condições para a produção espermática de caprinos criados no Estado do Piauí; assim como, no período de seca, deve-se utilizar, preferencialmente, animais que apresentem escroto com divisão externa maior que 50% do comprimento testicular.

Referências bibliográficas

Nunes, J. F. et al. Características espermáticas de caprinos Moxotó de acordo com a morfologia escrotal. Sobral: Embrapa/Caprinos, 1983. 11p. (Circular Técnica, 6).

Mies Filho, A. Reprodução dos animais e inseminação artificial. 4.ed., v. I, Porto Alegre: Livraria Sulina, 1987. 364p

Nunes, J. F.; Ciriaco, A. L. T.; Suassuna, U. Produção e reprodução de caprinos e ovinos. 2.ed., Fortaleza: Gráfica LCR, 1997. 199p.

Hafez, E. S. E; Hafez, B. Reprodução animal. 7.ed., São Paulo: Manole, 2004. 513p.

Palavras-chave: Escroto, termorregulação, bipartido, estacionalidade.

Keywords: Scrotum, thermoregulation, bipartide, seasonality.

169

Aspecto andrológico de caprinos Boer submetidos a prova zootécnica (*Aspect andrológico of goat Boer submitted the zootechnics proof*)

P.F.B.A. Lemos^{1,2}, A.T. Soares^{1,2}, F.F. Freitas¹, A.K.G. Andrade², J.L.F. Ramos¹

¹Emepa/PB, João Pessoa-PB, Brasil, ²Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária – UFRPE, Recife-PE, Brasil. E-mail: paula.emepa@hotmail.com

Introdução

A demanda por caprinos da raça Boer, no Brasil, tem aumentado significativamente nos últimos anos, principalmente nas Regiões Sudeste e Nordeste. Isto inclui a necessidade de utilização de reprodutores capazes de produzir progênes que atendam a demanda do mercado. Para suprir essa exigência, é necessária a implantação de um plano efetivo de avaliação individual de cabritos, candidato a reprodução, através de provas zootécnicas (SOUSA et al, 2006). O objetivo deste trabalho foi avaliar os aspectos andrológicos de caprinos Boer submetidos as provas zootécnicas, analisando o sistema genital e espermograma.

Material e Métodos

A prova zootécnica foi realizada no Parque de Exposição Henrique Vieira de Melo, em João Pessoa, PB, no período de 16/11/08 a 10/03/09, com a participação de 33 animais, com duração de 84 dias, precedido de uma fase de adaptação de 14 dias. Os animais foram alojados em lotes de 3 reprodutores de acordo com a idade e peso. Foi oferecida uma ração completa contendo 16,5% de proteína bruta e 2,92 Mcal/kg de energia metabolizável. No exame macroscópico no aparelho genital constou de avaliações na consistência e mensurações testiculares A coleta de sêmen foi realizada por eletroejaculador. Após a colheita, as amostras de sêmen foram submetidas a análise das características macroscópicas (cor e aspecto) e para avaliação microscópica (motilidade espermática, vigor, movimento de massa e concentração). O motilidade espermática, vigor, movimento de massa foram avaliados de forma subjetiva, através da observação em microscópio de luz, e o resultado foi expresso em porcentagem e em escala de 0 a 5. Em seguida, foi avaliada a concentração, em Câmara de Neubauer.

Resultados e Discussão

No exame clínico do sistema genital, a média da circunferência escrotal foi de $26,45 \pm 2,23$ e consistência normal. A análise macroscópica das amostras de sêmen, observou aspecto leitoso espesso e cor que variou de amarelo citrino e branco marmóreo. Na avaliação microscópica, evidenciou-se média de $76,56 \pm 9,01$ de motilidade progressiva, $3,81 \pm 0,89$ de vigor espermática e movimento de massa de $3,83 \pm 1,11$. A concentração espermática foi de $3,44 \times 10^9 \pm 1,01$. Os resultados deste trabalho estão de acordo com os valores recomendados pelo CBRA (1998), para os padrões de motilidade progressiva (70%), vigores (3) e movimento de massa (3). Concluímos que os reprodutores avaliados possuem padrões seminais desejáveis para efeito de seleção para monta natural.

Referências bibliográficas

CBRA. Manual para Exame Andrológico e Avaliação de Sêmen, 2 ed, BH, 1998,49.

Sousa Wh, Cunha Mgg, Cezar Mf, Bezerra Md, Souza -Junior Le, Lopes Rs. Provas zootécnicas: Avaliação de desempenho individual de reprodutores da raça Santa Inês. Campina Grande, PB: APACCO/EMEP/AMPA. 2006. 48p. il.

Palavras-chave: espermograma, caprino, circunferência escrotal.

Keywords: espermograma, goat, circumference scrotal.

Proteínas de membranas obtidas nos períodos de alto (AIP) e baixo (BIP) índice pluviométrico associadas à viabilidade de espermatozoides caprinos (*Membrane proteins obtained on high and low pluviometer index period associated with goat sperm viability*)

A.F. Souza^{1,2}, Z.F. Coletto¹, A.M. Batista¹, M.M.P. Guerra¹

¹Laboratório de Andrologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco; ²Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami, UFPE. E-mail: afsfoster@gmail.com

Introdução

As concentrações de moléculas protéicas no ejaculado dos animais estão sob controle da época do ano, em virtude das diferenças climáticas observadas entre as estações reprodutivas e não-reprodutivas (La Falci et al., 2002). É possível que a ausência ou a presença de algumas proteínas não seja deletéria à motilidade e morfologia espermática, contudo pode ser prejudicial a outras características do espermatozoide, como capacitação, reação do acrossoma e interação espermatozoide/ovócito (Killian, 1992). Objetivou-se avaliar as proteínas de membranas obtidas nos períodos de alto (AIP) e baixo (BIP) índice pluviométrico associadas à viabilidade de espermatozoides caprinos.

Material e Métodos

Foram colhidas 96 amostras de sêmen com vagina artificial de três reprodutores da raça Alpina Americana (24 a 48 meses), criados na região Agreste do Estado de Pernambuco. Após colheita, as amostras foram avaliadas quanto aos parâmetros macroscópicos e microscópicos (motilidade progressiva, vigor e integridade de acrossoma) e, a seguir, centrifugadas (600 X g) com a finalidade de separar os espermatozoides do plasma seminal. O perfil de proteínas das membranas espermáticas foi realizado através da análise de eletroforese bidimensional, após dosagem de proteína total para padronização da quantidade de proteínas aplicadas no gel de eletroforese. Para análise dos dados, foram obtidas a média e o desvio padrão e utilizados os testes estatísticos: F (ANOVA) para dois fatores e para um fator com comparações de Tukey; teste t-Student com variâncias iguais ou desiguais; teste de Mann-Whitney e teste de Kruskal-Wallis (Técnicas de estatística inferencial), com 5% de significância.

Resultados e Discussão

Não se observou diferença ($P > 0,05$) na motilidade (81,25%; 79,82%) e no vigor (4,00; 4,17) espermático nos períodos AIP e BIP, respectivamente, bem como entre animais. Foi observado maior ($P < 0,05$) percentual de espermatozoides com acrossomas íntegros no sêmen colhido no período AIP (90,25%) do que no BIP (80,26%). Foram detectados 56 *spots* de proteínas, sendo 26 no período AIP (25 a 97 kDa; pI de 3,36 a 8,90) e 30 no período BIP (29 a 103,0 kDa; 3,70 a 9,74 pI), com 13 *spots* comuns aos períodos, correspondendo a 57,7% de similaridade entre os *spots* analisados. Conclui-se que no período BIP encontra-se maior diversidade de proteínas de membranas espermáticas do que no AIP (26), sem interferir na viabilidade espermática.

Referências bibliográficas

La Falci VSN, Tortorella H, Rodrigues BA. Seasonal variation of goat seminal plasma proteins *Theriogenology*, v.57, p. 1035-1048, 2002.

Killian G. Fertility factors in seminal plasma. In: National Association of Animal Breeders Technical Conference, 14, Chicago, *Proceedings ...* 1992, p. 33-38.

Palavras-chave: Proteínas, membrana, espermatozoides, caprino.

Keywords: Proteins, membrane, spermatozoa, goat.

Efeito do diluidor e do método de congelação na viabilidade de sêmen caprino (*Effect of extender and freezing method on buck semen viability*)

D.C. Cunha¹, G.C. Araújo¹, V.S. Ferreira¹, A.G. Morais¹, R.S.X. Freitas¹, G.S. Santos¹, J.C. Ferreira¹, F.M. Torres², M.S. Ferreira¹, E.F.C. Lima¹, M.R.B. Mello¹

¹IZ, UFRRJ, Seropédica/RJ; ²USS, Vassouras/RJ. E-mail: mmello@ufrj.br

Introdução

A criopreservação do sêmen é um processo complexo sendo importante atentar para diversos fatores (Betini, 1998). Na criopreservação, o método de congelação pode ser realizado de duas formas: 1) congelação de sêmen de maneira manual (convencional), apesar de apresentar viabilidade apresenta dificuldade na realização do procedimento em padronizar as curvas de resfriamento e controlar a temperatura; 2) técnica automatizada de congelamento, a qual necessita de uma máquina de congelação eletronicamente programável que permite ter curvas de resfriamento padronizadas, porém esse procedimento requer a utilização de aparelho caro. Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivo avaliar dois métodos distintos de congelação (convencional x automatizado) e dois diluidores (citrato-gema x tris-gema) na congelação de sêmen caprino.

Material e Métodos

Foi coletado entre outubro de 2008 e março de 2009 sêmen de um bode adulto da raça Anglo-Nubiano utilizando vagina artificial. Em seguida avaliou-se: volume do ejaculado, turbilhonamento, motilidade, vigor e concentração espermática

para cálculo do número de doses. Após análise do sêmen, o ejaculado foi diluído em 2 diluidores (citrato-gema ou tris-gema). As palhetas foram submetidas a dois tipos de congelação: convencional, na qual se utilizava geladeira para resfriamento do sêmen (durante 4 horas) e vapor de nitrogênio líquido (N₂L) para congelação das palhetas. Já pela técnica automatizada, as palhetas foram colocadas na máquina eletronicamente programável (Cryogen[®]), cuja velocidade de resfriamento foi de 0,35°C/min até a temperatura de 5°C na qual as palhetas permaneceram por 80 minutos, sendo em seguida resfriadas a -135°C antes de serem imersas em N₂L. Após 24 horas, duas palhetas de cada partida foram descongeladas, reavaliadas e submetidas ao teste de termoresistência rápido (TTR). As médias de motilidade e vigor foram avaliadas pelo teste t pareado com nível de significância de 10%.

Resultados e Discussão

A motilidade e o vigor médio para o sêmen fresco, congelado na máquina, congelado na geladeira, TTR-máquina e TTR-geladeira foram, respectivamente, 76,25% e 3,62; 16,87% e 2,12; 19,58% e 2,25; 4,06% e 0,94; 5,41% e 1. Em relação aos diluidores, a motilidade e o vigor médio para o sêmen fresco, congelado em tris-gema, congelado em citrato-gema, TTR-tris e TTR-citrato foram, respectivamente, 76,25% e 3,62; 18,57% e 2,07; 17,5% e 2,28; 4,64% e 0,93; 4,64% e 1. Não houve diferença estatística entre os métodos de congelação nem entre os diluidores (P>0,1). A motilidade pós-descongelação para ambos os métodos de congelação e para os 2 diluidores foi menor comparada aos padrões necessários para o aproveitamento comercial do sêmen. Este fato pode estar associado à sensibilidade do animal a esses dois diluidores. As próximas etapas deste estudo incluem avaliar estes mesmos tratamentos com um número maior de animais para eliminar uma provável variação individual.

Referência Bibliográfica

Betini, C.M.; Moraes, G.V.; Rigolon, R.P. Efeito da congelação vertical e horizontal na qualidade do sêmen caprino. *Acta Scientiarum* 20 (3):361-365, 1998.

Palavras-chave: Sêmen, congelação, diluidores, bode.

Keywords: Semen, freezing, extenders, buck.

172

Uso de sondas fluorescentes para avaliação da viabilidade de espermatozoides congelados de caprinos utilizando diluentes à base de gema de ovo e leite desnatado (*Fluorescent probes to evaluate the goat sperm viability frozen with egg yolk-based and skim-milk based diluents*)

S.V. Silva, A.M. Batista, A.T. Soares, A. Wischral, M.M.P. Guerra

Laboratório de Andrologia – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife – PE. E-mail: sildivane@yahoo.com.br

Introdução

Na criopreservação de sêmen caprino, o leite desnatado é mais comumente usado devido à sua comprovada aplicabilidade e baixo custo. Entretanto, a gema de ovo mostra-se eficaz na manutenção das membranas espermáticas durante a refrigeração, havendo poucos estudos com congelação de sêmen (Aboagla e Terada, 2004). Objetivou-se com este experimento avaliar com sondas fluorescentes a viabilidade de espermatozoides congelados de caprinos utilizando diluentes à base de gema de ovo e leite desnatado.

Material e Métodos

Seis reprodutores caprinos foram usados para obtenção de ejaculados e formação de *pool*. O sêmen foi centrifugado em TRIS (1:9) e dividido em duas porções, visando a diluição em Tris-gema (G1) e leite desnatado (G2), na concentração de 240x10⁶/mL. Realizou-se a refrigeração/congelação em máquina TK-3000. Após descongelação (37°C, 30s), o sêmen foi avaliado quanto a motilidade progressiva (MP), vigor, integridade de acrossoma (iAC;FITC-PNA), de membrana plasmática (iMP; DCF/IP) e de DNA (iDNA;Acridina Laranja), bem como atividade mitocondrial (AM; JC-1). Foram realizadas quatro repetições de todo processo. Usou-se Análise de Variância e teste de Tukey para comparação das médias, com 5% de significância.

Resultados e Discussão

Após descongelação a MP não diferiu (P>0,05) entre G1(53,75±7,50%) e G2(53,75±7,50%), discordando dos relatos de Aboagla e Terada (2004), que obtiveram melhores resultados de MP em meio à base de gema, acrescido de Trealose. O vigor espermático mostrou-se superior (P<0,05) no G1(3,75±1,15), em relação ao G2 (2,50±1,00). Os parâmetros de iMP, AM e iDNA não diferiram (P>0,05) entre os grupos. O G2 (55,40±10,24%) apresentou maior porcentual (P<0,01) de gametas com iAC do que o G1 (49,93±9,37%), provavelmente devido ao fato da gema de ovo interferir na preservação de membranas, favorecendo a capacitação espermática (Purdy, 2006). Uma vez que o vigor espermático foi superior no G1, associado à menor integridade acrossomal, sugere-se ter havido criocapacitação destes gametas, onde se conclui que o leite desnatado preserva melhor a viabilidade de espermatozoides congelados de caprino.

Referências bibliográficas

Aboagla EM, Terada T. Effects of egg yolk during the freezing step of cryopreservation on the viability of goat spermatozoa. *Theriogenology*, v.62, p.1160-1172, 2004.

Purdy PH. A review on goat sperm cryopreservation. *Small Rumin. Res.*, v.63, p.215-225, 2006.

Palavras-chave: DNA, membrana plasmática, acrossoma, potencial de membrana mitocondrial.

Keywords: DNA, plasma membrane, acrosome, mitochondrial membrane potential.

Efeito dos métodos *Swim-up* e Percoll® sobre a viabilidade espermática de amostras criopreservadas de sêmen caprino

(Effects of *Swim-up* and Percoll® methods on the sperm viability of frozen-thawed goat semen)

A.M. Batista, S.V. Silva, A.T. Soares, A. Wischral, M.M.P. Guerra

Laboratório de Andrologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco. E-mail: mariannob@yahoo.com.br

Introdução

Métodos de processamento espermático são usados nos programas de fertilização *in vitro* de várias espécies, com o objetivo de remover plasma seminal/crioprotetores e aumentar a qualidade espermática (Dode et al., 2002). No entanto, preferencialmente utilizam-se os de diluição e lavagem; centrifugação em gradiente de densidade; filtração diferencial em lâ de vidro, esferas de vidro ou esferas de polissacarídeos; e técnicas de migração própria (*Swim-up*). Objetivou-se estudar a viabilidade espermática de amostras criopreservadas de sêmen caprino submetidas aos métodos *Swim-up* e Percoll®.

Material e Métodos

Amostras congeladas (n= 24) de sêmen, obtidas de seis reprodutores caprinos da raça Boer, foram descongeladas (37 °C, 30 s) e utilizadas para formação do *pool*. A seguir, foram avaliados motilidade progressiva (MP), concentração, integridade da membrana plasmática (DCF/IP), integridade do acrossoma (FITC-PNA) e potencial de membrana mitocondrial (JC-1), antes e após processamento espermático pelos métodos *Swim-up* e Percoll®. Foi utilizado Análise de Variância e o teste de Tukey para comparação entre as médias, com 5% de significância.

Resultados e Discussão

Antes do processamento das amostras observou-se 58,33 % de MP, 226,67 x 10⁶ spz/mL, 35,50% de membranas plasmáticas intactas (iMP), 58,75% de acrossomas intactos (iAc) e 40,33 % de células com alto potencial de membrana mitocondrial (PMM). Após o processamento com *Swim-up* e gradiente Percoll® constatou-se 30,00 e 65,83% de MP, 2,67 x 10⁶ e 6,67 x 10⁶ spz/mL, 11,25 e 32,25% de iMP, 33,33 e 54,83% de iAc e 6,25 e 32,25% de espermatozóides com alto PMM, respectivamente. Menores percentuais de espermatozóides portadores de MP (P<0,05) e com iMP (P<0,01) foram obtidos após uso do método *Swim-up*, em relação ao Percoll®, provavelmente devido ao estresse determinado aos gametas durante a realização do *Swim-up*, resultando em elevada taxa de mortalidade dos espermatozóides recuperados ou, ainda, devido ao “efeito diluição” (Khalifa e El-Saidy, 2006). Conclui-se que o método Percoll® preserva melhor a viabilidade de espermatozóides criopreservados de caprinos para uso na FIV.

Referências bibliográficas

Dode MAN, Rodovalho NC, Ueno VG, Fernandes CE. The effects of sperm preparation and co-incubation time in vitro fertilization of bos indicus oocytes. Anim. Reprod. Sci., v.69, p.15-23, 2002.

Khalifa TAA, El-Saidy BE. Pellet-freezing of Damascus goat semen in chemically defined extender. Anim. Reprod. Sc.i, v.93, p.303-315, 2006.

Palavras-chave: Preparação espermática, acrossoma, potencial de membrana mitocondrial.

Keywords: Sperm preparation, acrosome, mitochondrial membrane potential.

Características andrológicas estacionais de caprinos infectados naturalmente pelo lentivírus de pequenos ruminantes no estado do Ceará (Seasonal andrologic characteristics of goats naturally infected by small ruminant lentivirus in Ceará state)

N.R.O. Paula^{1*}, A. Andrioli², J.F.S. Cardoso³, R.R. Pinheiro², F.M.L. Sousa⁴, K.C. Souza⁴,

F.S.F. Alves², M.F.S. Teixeira⁵

¹Universidade Federal do Piauí – UFPI, Campus Profa. Cinobelina Elvas.; ²Embrapa Caprinos/CNPC; ³Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia – RENORBIO; ⁴Universidade Vale do Acaraú – UVA;

⁵Laboratório de Virologia - Labovir/ UECE.

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

Introdução

A manifestação da CAE em reprodutores e matrizes de alto valor genético tem acarretado problemas para os caprinocultores, pois a manutenção destes animais infectados no rebanho representa sérios problemas sanitários (Adrioli et al., 2006). Porém, o sacrifício em muitos casos é inviável, levando-se em consideração os prejuízos genético e econômico (Paula et al., 2008). Neste trabalho teve-se como objetivo verificar a influência da estação climática, da doença e descrever os parâmetros andrológicos de reprodutores infectados naturalmente pelo vírus da CAE no Ceará.

Material e Métodos

Foram utilizados reprodutores infectados das raças Saanen (n = 2) e Anglo Nubiana (n = 4). A avaliação andrológica consistiu da inspeção do pênis, prepúcio e bolsa escrotal, de medidas da circunferência escrotal, volume testicular e da consistência testicular e epididimária, volume do ejaculado, concentração, motilidade, vigor e morfologia espermática.

Resultados e Discussão

Os reprodutores apresentaram-se normais ao exame andrológico, mas no decorrer do período de avaliação foram

verificadas discretas alterações inflamatórias no pênis e prepúcio sem comprometimento dos parâmetros seminais. A circunferência foi significativamente inferior em três animais durante a estação chuvosa. O volume do ejaculado foi afetado pela estação climática em apenas um animal, com aumento significativo no período de transição. A motilidade espermática não foi afetada pela estação climática nem por variação individual. O vigor não sofreu influência da estação climática e durante a estação seca houve diferença significativa entre os animais. Não foi observada influência da estação climática sobre os defeitos menores. Conclui-se que reprodutores infectados naturalmente pelo LVPR apresentam características andrológicas compatíveis com uso de biotécnicas que possibilitem a eliminação do vírus no sêmen. Além disso, alguns animais podem sofrer influência ambiental sobre suas características andrológicas.

Referências bibliográficas

Andrioli A, Gouveia AMG, Martins AS, Pinheiro RR, Santos DO. Fatores de risco na transmissão do lentivírus caprino pelo sêmen. *Pesq. Agropec. Bras.*, v.41, p.1313-1319, 2006.

Paula NRO, Andrioli A, Cardoso JFS, Sousa FML, Souza KC, Pinheiro RR, Alves FSF, Teixeira MFS. Parâmetros clínicos e hematológicos de reprodutores caprinos infectados naturalmente pelo vírus da artrite encefalite caprina durante a transição da estação seca para chuvosa no Ceará. *Arq. Inst. Biol.*, v.75, p.141-147, 2008.

Palavras-chave: caprino, CAE, exame andrológico, sêmen.

Keywords: goat, CAE, andrologic evaluation, semen.

175

Caracterização morfológica do óstio da cérvix caprina mestiça de Bôer (*Morphological characterization of the external cervix of the crossbred Boer goats*)

J.F. Cruz, M.R. Teixeira Neto, L.E.B. Souza, M.H.C. Cruz, R.C.N. Ferraz, B.P. Vasconcelos

Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. E-mail: jfcruz@uesb.br

Introdução

Na espécie caprina, a via de inseminação e o local de deposição do sêmen no aparelho genital feminino influencia nos índices de fertilidade. A obtenção de fertilidade elevada após IA transcervical (IATC) na fêmea caprina está condicionada a ultrapassagem da cérvix, a qual, em função da sua estrutura rígida e da sua disposição em forma de anéis dificultam a passagem da pipeta inseminante. A morfologia do óstio cervical, projetado para dentro da vagina, difere entre os animais e é circundado por uma ou mais dobras de tecido fibroso, dificultando a sua visualização no momento da IA. A disposição dessas dobras é distintamente inconstante, o que pode justificar os diferentes resultados da IATC em cabras. Dessa forma, o objetivo deste estudo foi verificar a morfologia do óstio da cérvix em cabras mestiças de Boer.

Material e Métodos

Este estudo foi realizado na Fazenda Caboclo, município de Bom Jesus da Serra, Bahia (14°22'19" S; 40°30'14" O). Foram utilizadas 96 fêmeas caprinas mestiças da raça Boer, com idade média 32±4,0 meses e escore corporal de 3,4 ± 0,3. A caracterização anatômica do óstio da cérvix foi realizada através de visualização direta por meio de um espéculo, munido de uma fonte de luz. A classificação anatômica considerou cinco tipos de óstio cervical (Kershaw et al., 2005): a) bico de pato: duas dobras opostas de tecido cervical, protrusoras para a vagina com uma abertura horizontal e central; b) fenda: uma fenda, sem protrusão para a vagina, revelando a entrada do canal cervical; c) rosa: várias dobras cervicais, protrusoras para a vagina, mascarando a entrada do canal cervical; d) cratera: uma papila protrusa em ápice para a vagina; e) aba: uma dobra de tecido cervical, protrusa lateralmente para a vagina, semelhante a uma aba de chapéu.

Resultados e Discussão

A frequência dos tipos de óstio cervical cratera, aba, fenda, bico de pato, rosa foram 40,62%; 11,46%; 32,30% 9,37%; 6,25%, respectivamente. Essa distribuição dos diferentes tipos de óstio destoa dos achados de Aisen (2004) em estudo feito com cabras da raça Angorá, o qual encontrou maior frequência da forma de fenda (29,3%) e menores valores para cratera (12,8%) e bico de pato (2,7%). Aisen (2004) ressalta que o óstio do tipo fenda apresenta maior obstáculo à penetração da pipeta inseminante e maior refluxo de sêmen para o fundo da vagina. Admitindo-se que a forma do óstio cervical pode interferir nos resultados da IATC, a baixa frequência do tipo fenda, sugere que as cabras mestiças da raça Bôer são adequadas para programas de inseminação artificial transcervical.

Referências bibliográficas

Aisen, E.G., Reproducción ovina y caprina. 1ª ed. Buenos Aires: Inter-Médica, 2004. 216p.

Kershaw, C.M. et al., The anatomy of the sheep cervix and its influence on the transcervical passage of an inseminating pipette into the uterine lumen. *Theriogenology*, v.64, p 1225-1235, 2005.

Palavras-chave: Caprinos, Inseminação artificial, morfologia cervical.

Keywords: Goats, artificial insemination, cervical morphology.

176

Expressão da proteína e do RNA mensageiro para o fator de crescimento de fibroblastos-2 (FGF-2) em folículos ovarianos caprinos (*Protein and messenger RNA expression for fibroblastic growth factor-2 (FGF-2) in goat ovarian follicles*)

J.R.V. Silva, A.W.B. Silva, M.J. Passos, G.L. Vasconcelos, I.M.A. Frota, J.R. Figueiredo

Introdução

A foliologênese ovariana envolve o crescimento e a maturação oocitária, bem como a proliferação e a diferenciação das células da granulosa dos folículos em desenvolvimento. Em caprinos, estudos recentes demonstraram que o FGF-2 promove o crescimento de folículos primordiais *in vitro* (Matos et al., 2007). O objetivo deste trabalho foi quantificar a expressão do RNAm para o FGF-2 e da respectiva proteína em diferentes categorias foliculares de caprinos.

Material e Métodos

Ovários (n=30) caprinos foram coletados em abatedouros e fixados em paraformaldeído para imunohistoquímica ou utilizados para a coleta de folículos para PCR em tempo real. Para o PCR, folículos primordiais, primários e secundários foram isolados com auxílio do tissue chopper, enquanto os complexos cúmulos-oócito (CCOs) e amostras de células da granulosa muralis e da teca foram coletadas de pequenos (<3mm) e grandes folículos antrais (3-6 mm) após microdissecação. Após a extração do RNA total, a quantificação do RNAm para FGF-2 foi realizada utilizando uma solução contendo SYBR green e primers específicos para FGF-2, GAPDH e β -actina. Para localização das proteínas, secções histológicas de ovários foram incubadas com o anticorpo primário anti-FGF-2 (1:30). Após coloração, a reação para FGF-2, nas diferentes categorias foliculares, foi classificada como ausente, fraca, moderada ou forte. Os dados da expressão do RNAm foram comparados pelos testes t e de Kruskal-Wallis ($P < 0,05$).

Resultados e Discussão

Os folículos primordiais expressam relativamente maiores níveis de RNAm para FGF-2 do que folículos primários e secundários, mas as diferenças não foram significantes ($P > 0,05$). Comparando as duas categorias de folículos antrais, observou-se que os CCOs ou as células da granulosa/teca de pequenos e grandes folículos antrais expressaram níveis similares de RNAm para FGF-2. No entanto, células da granulosa/teca de grandes folículos antrais expressaram significativamente maiores quantidades de RNAm para FGF-2 do que os seus respectivos CCOs ($P < 0,05$), mas não foram observadas diferenças significativas para pequenos folículos antrais. A imunohistoquímica demonstrou uma moderada reação para proteína FGF-2 em oócitos e células da granulosa de folículos primordiais, primários e secundários, exceto em células da granulosa de folículos primordiais. As células da teca de folículos secundários apresentaram uma reação negativa para FGF-2. Em pequenos e grandes folículos antrais, os oócitos, as células da granulosa e as células da teca exibiram, respectivamente, reações forte, moderada e fraca para o FGF-2. Em conclusão, a proteína e o RNAm para FGF-2 são expressos em todas as categorias foliculares em caprinos e as células da granulosa / teca de grandes folículos antrais produzem maiores quantidades de RNAm para FGF-2 do que os respectivos CCOs.

Referências bibliográficas

Matos MH, Lima-Verde IB, Bruno JB, Lopes CA, Martins FS, Santos KD, Silva JR, Bão SN, Figueiredo JR. Follicle stimulating hormone and fibroblast growth factor-2 interact and promote goat primordial follicle development in vitro. *Reprod Fertil Dev*, v.19,p.677-684, 2007.

Palavras-chave: caprinos, FGF-2, folículos ovarianos, proteína, RNAm.

Keywords: goat, FGF-2, ovarian follicles, protein, mRNA.

177

Parâmetros reprodutivos de fêmeas caprinas jovens suplementadas com sal mineral adicionado ou não com ionóforos (*Reproductive parameters of young goat females supplemented with mineral salt added or not with ionophores*)

A.A. Simplicio¹, T.S. Castelo², A.R. Silva², A.C. Mota Filho², L.L.M. Costa², V.X.M. Lima²

¹CNPq /FAPERN /EMPARN, Natal, RN; ²Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Departamento de Ciências Animais, Mossoró, RN. E-mail: aa.simplicio@uol.com.br

Introdução

Os minerais favorecem o equilíbrio hormonal e o desempenho reprodutivo e produtivo dos ruminantes (Madibela et al., 2002). Os ionóforos melhoram a fermentação no rúmen e exercem controle de alterações digestivas e de doenças (Oliveira et al. 1997; Afonso et al., 2000; Vieira et al., 2004, 2005). A monensina sódica aumentou em 10,0% a proteína do leite de cabra (Brown e Hogue, 1985). O objetivo do trabalho foi conhecer o efeito da monensina sódica e da salinomicina na idade, peso e taxa de ovulação à puberdade em fêmeas caprinas.

Material e Métodos

O experimento foi realizado no município de Mossoró, RN a LS 05°10' e a LO 37°10'; altitude de 50 a 70 metros. A média pluvial anual no município é de 675 mm, mas em 2007 foi de 946,1 mm. O regime de manejo das mães e crias era o semi-intensivo e a caatinga o suporte alimentar. Foram usadas 33 cabritas mestiças de raças paternas de corte com cabras SPRD, sendo 27 de Boer. Nascidas e desmamadas na época seca. A partir do desmame as crias foram confinadas, recebendo purinafós, feno de Capim-Tifton 85 e concentrado a base de milho e farelo de soja. Na faixa etária de 82 a 124 dias, foram pesadas e sorteadas para os tratamentos: T₀; T_I e T_{II} com 11 fêmeas cada um. T₀ - caprinofós, ao T_I e T_{II} foi ofertado, *ad libitum*, o mesmo sal com 1,5% de salinomicina e 1,5% de monensina sódica, nessa ordem. Os animais eram pesados a cada 28 dias e amostras de fezes colhidas para monitoramento do n^o de ovos e de oocistos por grama de fezes. Na terceira semana do início da época chuvosa as fêmeas tiveram acesso à caatinga na razão de 0,63 hectares por animal e eram acompanhadas por rufões na razão de 1:11. Estes tinham o esterno e axilas untadas com a mistura de tinta em pó e graxa lubrificante. A partir de junho os animais recebiam milho em grão e em julho voltaram a receber feno de Capim-

Tifton 85. Ao estro a fêmea era pesada e entre o quarto e oitavo dia após submetida a laparotomia e os ovários avaliados quanto à presença e nº de CAs e CLs. Os dados foram submetidos à ANOVA. A comparação entre médias, feita pelo Teste de Turkey a $P < 0,05$.

Resultados e Discussão

Duas cabritas morreram. O peso e a idade, ao primeiro estro, não diferiram entre T_0 , T_I e T_{II} ($P > 0,05$). O peso médio (kg) foi: T_0 19,5±1,0; T_I 19,8±0,9 e T_{II} 19,8±1,0. A idade (dia), a média foi: T_0 339,1±18,5; T_I 335,9±17,5 e T_{II} 323,7±18,5, superiores as descritas por Salles et al., 2001 e Freitas et al., 2004. Das 31 cabritas, 25 apresentaram estro clínico. Oito do T_0 , nove do T_I e oito do T_{II} . Dezoito das 25 mostraram estro e ovulação enquanto sete, duas do T_0 , duas do T_I e três do T_{II} apresentaram estros anovulatórios. Estes resultados corroboram com Simplicio et al. (1990). Em nove das 25, três do T_0 , cinco do T_I e uma do T_{II} foram encontrados CÃs à primeira laparotomia. As taxas de ovulação para o primeiro e segundo estros foram de 1,00 e 1,33; 1,14 e 1,14; 1,00 e 1,00 para T_0 , T_I e T_{II} , nessa ordem. Independente de tratamento, a TO foi de 1,10 sendo de 1,05 e 1,15 para o primeiro e segundo estros, respectivamente. Também, dos 42 CLs, 20 estavam no ovário direito e 22 no esquerdo. Dos 46 estros, 32 e 14 ocorreram pela manhã e à tarde, nessa ordem. Os dois ionóforos disponibilizados do desmame a puberdade, não favoreceram o ganho de peso e nem a idade e o peso à puberdade em fêmeas caprinas.

Referências bibliográficas

Afonso JAB et al. CFMV, Brasília, n.20, p.29-36, 2000. Brown DL e Hogue DE. J. Dairy Sci., v.68, p.1141-1147, 1985. Freitas VJF et al. Small Rum. Res., v.53, p. 167-172, 2004. Madibela OR et al. South African J. Anim. Sci., v.32, n.1, p.15-22, 2002. Oliveira PR et al. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., v.49, n.3, p.291-296, 1997. Salles HO et al. Ciênc. Vet. Tróp., v.4, n.2 e 3, p.303-309, 2001. Simplicio AA et al. Agropec. Bras., v.25, n.3, p.455-459, 1990. Vieira LS et al. Ciênc. Rural, v.34, p.873-878, 2004. Vieira LS et al. Ciênc. Anim., v.15, n.1, p.25-31, 2005.

Palavras-chave: Caprino, fêmea, sal mineral, aditivo, puberdade.

Keywords: Goat, female, mineral salt, addictive, puberty.

178

Colheita oocitária por laparoscopia (COL) em cabras não estimuladas hormonalmente (*Laparoscopic oocyte recovery (LOR) in hormonally non-stimulated goats*)

S.R.G. Avelar, K.C. Almeida, A.F. Pereira, F.C. Sousa, R.R. Moura, A.S. Alcântara Neto, A.C.A. Teles Filho, L. M. Melo, D.I.A. Teixeira, V.J.F. Freitas

Laboratório de Fisiologia e Controle da Reprodução - Universidade Estadual do Ceará, Av. Dedé Brasil, 1700, 60740-903. Fortaleza-Ceará. E-mail: suelyavelar@gmail.com

Introdução

A produção *in vitro* de embriões em caprinos pode ser uma valiosa ferramenta para o rápido melhoramento genético do rebanho. A colheita oocitária por laparoscopia (COL) apresenta-se como uma fonte de oócitos em quantidade e qualidade; no entanto, este processo é normalmente realizado após estimulação hormonal nas fêmeas doadoras (Gibbons *et al.* 2007). O objetivo deste trabalho foi avaliar parâmetros quanti-qualitativos de oócitos recuperados por COL, em fêmeas caprinas não estimuladas hormonalmente, e submetidos à maturação *in vitro* (MIV).

Material e Métodos

Foram utilizadas oito cabras adultas cíclicas as quais foram submetidas a jejum hídrico-alimentar e anestesia. O sistema de colheita consistiu de uma agulha 22G e uma bomba de vácuo a 30 mmHg. Os folículos (≥ 2 mm) foram contados e aspirados. Os complexos *cumulus*-oócito (CCOs) foram recuperados em TCM199 acrescido de HEPES, heparina e gentamicina. Os CCOs foram classificados em graus (I a IV) quanto à presença de células do *cumulus* e homogeneidade do citoplasma. Para a MIV, CCOs de grau I e II foram incubados em TCM199 suplementado com cisteamina, EGF e gentamicina a 5% de CO_2 , 38,5 °C por 24 h. A verificação da maturação foi realizada pela marcação dos oócitos com Hoechst 33342 em microscópio de epifluorescência. Os dados foram expressos como média \pm e.p.m.

Resultados e Discussão

Foram verificados 4,7 \pm 2,6 e 1,9 \pm 0,4 folículos visualizados e oócitos recuperados por cabra, respectivamente, resultando numa taxa de recuperação de 39,5%. Dos oócitos colhidos, 6,6, 53,3 e 40,1% foram classificados como grau I, II e III, respectivamente. Estes resultados mostram-se similares aos citados na literatura (Aguillar *et al.*, 2002). Após MIV, observou-se 77,7% de taxa de maturação. Assim, a COL a partir de cabras não estimuladas pode se apresentar como uma opção para a obtenção de oócitos competentes à MIV.

Referências bibliográficas

Aguillar, B.; Roche, A.; Olivera, J.; Folch, J.; Alabart, J. L. Oocyte retrieval after repeated *ovum pick-up* in unstimulated sheep and goat. In: Proceedings of the 18th Meeting Association Européenne de Transfert Embryonnaire (AETE), 2002. Gibbons, A.; Pereyra-Bonnet, F.; Cueto, M.I.; Catala, M.; Salamone, D.F.; Gonzalez-Bulnes, A. Procedure for maximizing oocyte harvest for *in vitro* embryo production in small ruminants. *Reprod. Domest. Anim.*, v. 59, p.423-426, 2007.

Palavras-chave: oócito; laparoscopia; caprino.

Keywords: oocyte; laparoscopy; goat.

Avaliação da proporção reprodutor/fêmea sobre o desempenho reprodutivo de cabras da raça Anglo-Nubiana em época seca (*Evaluation of the proportion buck/female about the reproductive performance of goats of the race Anglo-Nubiana in the dry station*)

J.M. Almeida-Irmão¹, T.F. Teixeira¹, C.R. Aguiar Filho¹, L.M. Freitas Neto¹, R.M. Chaves¹, P.F. Lima¹, M.A.L. Oliveira¹

¹Laboratório de Biotécnicas da Reprodução do Departamento de Medicina Veterinária/UFRPE. E-mail: maloufrpe@uol.com.br

Introdução

Com relação ao mau desempenho reprodutivo de fêmeas caprinas, não pode ser explicado simplesmente por fatores fisiológicos como atividade ovariana ou inadequada secreção hormonal ou fatores externos como, meio ambiente e nutrição. Porém, pode estar relacionado com a capacidade do reprodutor em atrair e estimular o comportamento reprodutivo influenciado pelo estímulo de feromônio (odor) liberados pelo reprodutor (Gelez et al., 2004). Partindo deste pressuposto, o conhecimento das respostas reprodutivas aos mecanismos de interação sócio-sexuais constitui um passo importante em direção à utilização da bioestimulação em substituição à aplicação de hormônios exógenos, para controlar e estimular a atividade reprodutiva da cabra (Martin et al., 2004). Diante deste contexto, objetivou-se verificar a influência da proporção macho/fêmea e do efeito da introdução do reprodutor no rebanho após um período de isolamento, sobre a indução do estro, fertilidade e prenhez.

Material e Métodos

Este trabalho foi conduzido no Município de Sertânia-PE, em época seca e a alimentação dos animais consistia de vegetação nativa do tipo caatinga arbustiva e suplementação com silagem de sorgo no período da tarde, além de sal mineral e a água *ad libitum*. Foram utilizadas cabras da raça Anglo-Nubiana (n = 38) com média de 84 dias de paridas, escore de condição corporal de $3,08 \pm 0,27$, peso de $37,63 \pm 4,62$ e com idade entre 25 e 60 meses, sendo o “status” reprodutivo das fêmeas avaliado através da ultrassonografia e vaginoscopia. O reprodutor foi avaliado através de exame andrológico, permanecendo afastado a 300m das fêmeas durante 60 dias sem contato visual, olfativo e auditivo e introduzido no rebanho para estação de monta de 45 dias. Os resultados foram analisados através da estatística descritiva e do teste de Tukey.

Resultados e Discussão

A indução do estro ocorreu em 65,78% (25/38) cabras, no entanto, as fêmeas apresentaram estro de forma dispersa no intervalo entre o primeiro e o 21º dia após a introdução do macho, não sendo mais observada nenhuma sintomatologia de estro. Verificou-se que 20% (5/25) apresentaram estro de curta duração, com média de 10,60 dias, sendo o intervalo entre estros, de 9 a 13 dias. A fertilidade foi de 39,5% (15/38) e a taxa prenhez de 60% (15/25), sendo 89,6% (13/15) no primeiro e 2/15 (13,4%) no segundo serviço. Estes resultados podem ser creditados ao baixo estímulo sexual proporcionado pelo número reduzido de reprodutores (2,5%), pois Chemineau (1987) relata que o aumento do número de fêmeas em estro seguido de ovulação pode ser obtido utilizando-se uma relação de 5% a 10% de machos. Nas condições em que foi realizado o estudo, a relação macho/fêmea (1:40) não deve ser recomendada para caprinos da raça Anglo-Nubiana em época seca.

Referências bibliográficas

Chemineau P. Possibilities for using bucks to stimulate ovarian and oestrous cycles in anovulatory goats. A review. Liv Prod Sci, v.17, p.135-147, 1987.

Gelez H, Archer E, Chesneau D, Campan R, Fabre-Nys C. Importance of learning in the response of ewes to male odor. Chem Senses, v.29, p.555-563, 2004.

Martin GB, Rodjer J, Blache D. Natural methods for increasing reproductive efficiency in small ruminants. Anim Reprod Sci, v.82, p.231-246, 2004.

Palavras-chave: bioestimulação, estação de monta, reprodução.

Keywords: biostimulation, station of reproduction, reproduction.

Avaliação ovariana através da ultrassonografia em caprinos superestimulados com diferentes tratamentos hormonais (*Ovarian evaluation through the ultrasonography in goats superstimulated with different hormonal treatments*)

C.H.S. Melo¹, A.C.A. Teles-Filho¹, F.C. Sousa¹, S.R.G. Avelar¹, D.H. Soares¹, V.J.F. Freitas¹, D.I.A. Teixeira¹

¹Laboratório de Fisiologia e Controle da Reprodução, Universidade Estadual do Ceará. E-mail: diat@uece.br

Introdução

A ultrassonografia destaca-se por ser um método de avaliação não invasivo, que contribui para o esclarecimento da fisiologia ovariana. Animais superestimulados têm sido utilizados como doadores de oócitos para a produção *in vitro* de embriões, mas, devido às variações de resposta ovariana, torna-se difícil prever o número de estruturas a serem puncionadas. Assim, o objetivo deste trabalho foi utilizar a ultrassonografia para avaliar protocolos de superestimulação.

Material e Métodos

O experimento foi efetuado utilizando-se cinco cabras SPRD. A sincronização do estro consistiu na inserção, por onze dias, de esponjas intravaginais contendo 60 mg de MAP. No oitavo dia do tratamento, foi administrada PGF_{2α} na dose de 50 µg (IM). Os animais foram distribuídos em dois grupos experimentais, ambos recebendo 120 mg de pFSH (IM). O primeiro grupo (TP) recebeu um tratamento padrão contendo cinco doses decrescentes de pFSH ($n = 2$) diluído em solução salina. As aplicações foram iniciadas no oitavo dia do tratamento progestágeno. O segundo grupo (AL) recebeu uma dose de pFSH diluído em 3ml de Al-gel[®] ($n = 3$), 36 horas antes da retirada das esponjas. Os exames de ultrassom foram realizados antes da laparoscopia, utilizando-se o equipamento Falco 100 acoplado a um transdutor (6/8 MHz). As imagens foram gravadas com um computador para contagem dos folículos. A confirmação dos resultados foi obtida através da laparoscopia, na qual foi utilizado um endoscópio. O número de folículos foi expresso como média ± EP. Para comparação entre as médias, foi utilizado o teste do χ^2 .

Resultados e Discussão

Quanto ao TP, foram visualizados, por ultrassonografia, $12,5 \pm 0,75$ folículos por animal, e, por laparoscopia, $16 \pm 1,47$. No tratamento AL, foi verificado, por ultrassonografia, $10 \pm 1,06$, e, por laparoscopia, $18 \pm 2,27$. Não foi observada diferença significativa ($P < 0,05$) no número de folículos visualizados no TP nem no AL nos diferentes métodos utilizados. Baril et al. (1999) verificaram que o método de ultrassonografia transretal é confiável para a identificação e a avaliação de folículos ≥ 4 mm de diâmetro. Já Simões et al. (2005) descreveram a ultrassonografia transretal como uma técnica confiável que permite a identificação e a avaliação do crescimento de folículos ≥ 3 mm em cabras serranas. Em conclusão, o método de ultrassonografia transretal mostrou ser uma ferramenta eficiente para se estabelecer o número de folículos presentes em animais superestimulados com diferentes tratamentos hormonais.

Referências Bibliográficas

Baril, G.; Touzé, J. L.; Pignon, R.; Fontaine, J.; Saumande, J. Utilization de l'échographie pour suivre l'activité ovarienne chez la chèvre. *Revue Méd.Vét.*, v.150, p.261-264, 1999.

Simões J.; Potes J.; Azevedo J.; Almeida J.C.; Fontes P.; Baril G.; Mascarenhas R. Morphometry of ovarian structures by transrectal ultrasonography in Serrana goats. *Animal Reproduction Science*, v 80, p. 263-273, 2005.

Palavras-chave: Ultrassonografia, Ovário, Caprinos.

Keywords: Ultrasonography, Ovary, Goat.

181

Efeito da utilização do mesmo CIDR por até três vezes sobre o comportamento estral e a fertilidade de cabras leiteiras: resultados parciais (*Effect of use of the same CIDR for up to three times on estrus behavior and fertility of dairy goats: preliminary results*)

L.C. Magalhães¹, D.M. Nogueira², E.S. Lopes Júnior³, R.M. Peixoto⁴, M. Christilis⁵, A.P.O. Monte¹, S.R. Martins⁶

¹Acadêmica de Medicina Veterinária – UNIVASF; ²Pesquisador da Embrapa Semi-Árido; ³Professor Adjunto II – Colegiado de Medicina Veterinária – UNIVASF; ⁴Estudante de Mestrado – PPGCA – UNIVASF; ⁵Estudante de Mestrado – PPGCA – UFMG; ⁶Acadêmica de Zootecnia – UNIVASF. E-mail: edilsonlopesjunior@yahoo.com.br

Introdução

Embora ofereça vantagens importantes, a sincronização do estro com CIDR é de alto custo e, por isso, tem sido avaliada a reutilização do CIDR com o propósito de reduzir os custos, sem alterar o desempenho reprodutivo. O objetivo desse trabalho foi avaliar a utilização do mesmo CIDR por até três vezes sobre o comportamento estral e a fertilidade de cabras leiteiras.

Material e Métodos

Trinta cabras de raças leiteiras (Saanen e Alpina) foram utilizadas em dois grupos homogêneos. No grupo CIDR1x ($n=15$), as fêmeas foram tratadas por 9 dias com um CIDR novo e, dois dias antes da remoção do dispositivo, foi aplicado, intramuscularmente, 75 µg de d-cloprostenol e 300 UI de eCG. No grupo CIDR3x ($n = 15$), o mesmo protocolo foi utilizado, porém, com CIDR já utilizados por duas vezes em outros animais. A inseminação artificial (IA) ocorreu com sêmen fresco de um bode Alpino, entre 16 h e 20 h após o início do estro, pela via transcervical. Os intervalos entre a retirada do CIDR e o início do estro foram analisados pelo procedimento ANOVA e as comparações entre médias pelo teste Tukey, adotando $P < 0,05$.

Resultados e Discussão

Não houve diferença significativa ($P>0,05$) entre os grupos CIDR1x e CIDR3x quanto ao intervalo entre a retirada do CIDR e início do estro ($13,3 \pm 1,1$ vs. $13,3 \pm 1,4$, respectivamente). Essa igualdade da resposta estral está de acordo com Oliveira et al. (2001). Não foi verificada diferença significativa ($P > 0,05$) entre CIDR1x e CIDR3x quanto à fertilidade (93,3% e 80%, respectivamente). A alta fertilidade foi, dentre outros fatores, devida ao momento e ao método da IA. De acordo com Maffili et al. (2006), a ovulação em caprinos ocorre $25,0 \pm 7,0$ h após o início do estro. Em conclusão, a utilização CIDR por até três vezes foi eficaz na sincronização do estro e na fertilidade de cabras leiteiras.

Referências Bibliográficas

Maffili VV, Torres CAA, Bruschi JH, Fonseca JF, Viana JHM. Indução de estro em cabras da raça Toggenburg com dois diferentes dispositivos intravaginais. *Arq Bras Med Vet Zoo*, v. 58, p. 367-372, 2006.

Oliveira MAL, Guido SI, Lima PF. Comparison of different protocols used to induced and synchronize estrus cycle of

Saanen goats. Small Rum Res, v. 40, p. 149-153, 2001.

Palavras-chave: cabras, CIDR, inseminação artificial.

Keywords: artificial insemination, CIDR, goats.

182

Utilização de protocolos hormonais curtos para programar receptoras caprinas (*Use of short hormonal protocols to program recipient goats*)

S.I. Guido¹, F.C.L. Guido², O. Bezerra¹, A.S. Santos Filho¹

¹Instituto Agrônomo de Pernambuco – IPA/FACEPE; ²Médica Veterinária Autônoma. E-mail: guido@ipa.br

Introdução

Na espécie caprina os protocolos de sincronização do estro variam de 06 a 11 dias (GUIDO et al., 2005). Todavia, protocolos de longos têm sido associados à baixa fertilidade, bem como, os curtos têm sido utilizados apenas para IA (MENEGATOS et al., 1996). Portanto, considerando que a taxa ovulatória (TO) respalda a utilização da receptora em programas TE (GUIDO et al., 2003), neste trabalho avaliou-se protocolos hormonais de curta duração para sincronizar o estro e a ovulação de receptoras caprinas.

Material e Métodos

Foram utilizadas 60 cabras cíclicas, distribuídas aleatoriamente em dois grupos (GI e GII). No GI (n=30) receberam um CIDR contendo 0,3g de progesterona por 5 dias e na sua retirada 300 U.I. de eCG e 0,05 mg de cloprostenol, por via IM. As do GII (n=30) receberam uma esponja intravaginal com 50 mg de MAP por 5 dias e na sua retirada 300 U.I. de eCG e 0,05 mg de cloprostenol, por via IM. O estro foi monitorado nas 72 horas após a retirada dos dispositivos, através de machos vasectomizados. No 7º dia depois de iniciado o estro, todas as fêmeas foram submetidas à laparotomia para avaliação da TO e inovação dos embriões. Os dados foram analisados através do SAS (1999), com 5% de probabilidade pelo teste F.

Resultados e Discussão

A ocorrência de estro foi de 100% no GI e 90% no GII, não sendo registrada diferença. Resultado que corrobora o observado por Guido et al. (2005) com CIDR em receptoras caprinas.

Na avaliação da TO foram registradas taxas de $1,5 \pm 0,22$ no GI e de $0,7 \pm 0,33$ no GII, sendo o resultado do GI superior ($P < 0,05$) ao do GII. Todavia, não houve diferença na taxa de prenhez que foi de 56,7 % no GI e de 50,0 % no GII. A presença de folículos anovulatórios foi observadas na maioria das receptoras de ambos os grupos (GI e GII), fato não relatado por Guido et al. (2003) e Guido et al. (2005) utilizado protocolos semelhantes por períodos mais longos. Portanto, conclui-se que em receptoras caprinas o protocolo do GI induz uma melhor resposta ovulatória.

Referências bibliográficas

Guido, S.I., Guido, F.C.L., Nascimento Filho, E.V. et al. Protocolos de sincronização do estro e da ovulação em receptoras caprinas. Acta Sc. Vet., v. 33, p.250, 2005.

Guido, S.I.; Andrade, J.C.O.; Guido, F.C.L.; et al. Avaliação de corpos lúteos de receptoras caprinas. Rev. Bras. Reprod. Anim., v. 27, n. 3, p. 491-492, 2003.

Menegatos, J.; Chadio, S.E.; Karzas, G. et al. Progesterone levels throughout progestagen treatment influence the establishment of pregnancy in the goat. Theriogenology, v. 43, n. 8, p. 1365-1370, 1996.

SAS. SAS/STAT User's guide. Version 8. Cary: 1999. 1464p.

Palavras-chave: caprino, estro, ovulação.

Keywords: goats, oestrus, ovulation.

183

Estrus and fertility of anestrus Anglo-Nubian goats submitted to different synchronous protocols and given hCG five days after artificial insemination (*Estro e fertilidade de cabras Anglo-Nubianas em anestro estacional submetidas a diferentes protocolos de indução de estro sincronizado e administração de hCG cinco dias após a inseminação artificial*)

J.F. Fonseca^{1*}, J.M.G. Souza², A.C. Ribeiro³, S.D.A. Ribeiro³, J.H.M. Viana⁴, O. Facó¹

¹Embrapa Goats and Sheep, ²Federal University of Viçosa, ³Unipinhal, ⁴Embrapa Dairy Cattle. *E-mail: jeferson@cnpq.embrapa.br

Introduction

A great variation in the duration of protocols and in the moment of hormone administration respective to device introduction or removal has been reported to induce estrus in goats. In addition, hCG administration five days after breeding has been shown to have beneficial effects on goat fertility (Fonseca et al. 2005). The objective of this study was to check the efficiency of estrous induction with 6, 9 and 12 days progestagen protocols and hCG administration five days after timed artificial insemination (TAI) on fertility in anestrus Anglo-Nubian goats.

Materials and Methods

This study was done in September (non-breeding season) of 2008 in Espírito Santo do Pinhal – SP, Brazil. Nulliparous and pluriparous Anglo-Nubian goats were randomly assigned into three treatments according to time of progestagen

exposure: 6 (n=20), 9 (n=21) and 12 days (n=20). All goats received (Day 0) MAP 60 mg intravaginal sponges (Progespon[®], Schering Plough Animal Health, São Paulo, Brasil) and 50 mg d-cloprostenol (Ciosin[®], Schering Plough Animal Health) i.m. plus 200 IU eCG (Novormon 5000[®], Schering Plough Animal Health) i.m 24 hours before sponge removal. Estrus was monitored twice daily (06:00 and 18:00 h) for 48 h after sponge removal. Goats in estrus were artificially inseminated at fixed time and randomly assigned to receive 250 IU hCG (Vetecor[®], Hertape-Calier do Brasil, São Paulo, Brasil) or not (Control). Statistical analysis was performed using all tests at the 95% confidence interval.

Results and Discussion

There was no difference ($P>0.05$) among protocols on estrous parameters or fertility of the goats (Table 1).

Table 1. Effects of time of exposure to progestagen and hCG administration five days after timed artificial insemination (TAI) on estrus and fertility in anestrus Anglo-Nubian goats

Parameter	6 days	9 days	12 days	Total
Estrous response (%)	80.0 (16/20)	76.2 (16/21)	80.0 (16/20)	78.7 (48/61)
Interval to estrus (h)	33.7 ± 10.9	29.2 ± 8.7	30.7 ± 9.8	31.2 ± 9.8
Interval (h) to AI after estrous onset after sponge removal	17.5 ± 11.2	22.1 ± 8.3	20.3 ± 9.5	20.0 ± 9.7
Pregnancy (%)				
Control	44.4 (4/9)	50.0 (3/6)	25.0 (2/8)	37.5 (9/24)
hCG	57.1 (4/7)	50.0 (5/10)	50.0 (4/8)	52.0 (13/25)
Total	50.0 (8/16)	50.0 (8/16)	35.3 (6/16)	44.9 (22/49)

Only animals with estrus up to 48 h after sponge removal were considered, which explain the low estrous response in the present study. Animals in estrus after 48 h were not considered because they were not adequate to TAI. Time of exposure to progestagen did not affect the efficiency of estrous induction and fertility in goats. Future studies should consider administration of hCG for increasing fertility after TAI in goats.

References

Fonseca JF, Torres CAA, Costa EP, Maffili VV, Carvalho GR, Alves NG, Rubert MA. 2005. Progesterone profile and reproductive performance of estrous-induced Alpine goats given hCG five days after breeding. *Anim Reprod*, 2 (1):54-59. Financial support: Embrapa Goats and Sheep, Schering Plough Animal Health, CAPRITTEC.

Keywords: estrous induction, artificial insemination, hCG, fertility, goat.

Palavras-chave: indução de estro, inseminação artificial, hCG, fertilidade, caprino.

184

Reutilization of autoclaved intravaginal progesterone device to estrous induction in Toggenburg goats (*Reutilização de dispositivos intravaginais de progesterona autoclavados para indução de estro em cabras da raça Toggenburg*)

J.M.G. Souza^{1*}, C.A.A. Torres¹, A.L.R.S. Maia², F.H. Martins², J.H. Bruschi², J.H.M. Viana², J.F. Fonseca³

¹Universidade Federal de Viçosa, Viçosa – MG; ²Embrapa Gado de Leite, Coronel Pacheco – MG; ³Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral – CE. *E-mail: joannavet@gmail.com

Introduction

Intravaginal devices impregnated with natural or synthetic progesterone are used worldwide for estrous induction in sheep and goats. As protocols for estrous induction shortened the time of exposure to progesterone, devices were able to be reused until three times to induce estrus (Zambrini et al., 2005). However, despite a good cleaning has been employed, there is no total warranty that all microorganisms are eliminated. Thus, sanitary risks are associated with devices reutilization. The purpose of this study was to evaluate the effect of autoclaving on efficacy of reutilization of intravaginal progesterone devices for estrous induction in Toggenburg goats.

Materials and Methods

This study was done in October of 2008, in Coronel Pacheco, MG, Brazil. Forty two Toggenburg nulliparous (n=20; 35.2±7.0 kg and 3.5±0.2) and pluriparous (n=22; 50.3±10.2 kg and 3.4±0.3) goats were equally assigned according to weigh and body condition score into three treatments. Animals received new devices containing 0.33g progesterone (Eazi-Breed CIDR[®], Pfizer do Brasil Saúde Animal, São Paulo, Brasil; n=17, 41.5±8.5 kg, 3.4±0.2), autoclaved devices previously used for 6 days (n=13, 43.5±11.0 kg, 3.5±0.3) or 12 days (n=12, 44.9±16.1 kg, 3.5±0.2). Additionally, 5 mg dinoprost (Lutalyse[®], Pfizer do Brasil Saúde Animal) latero-vulvar were administered on the day of device insertion, whereas, 200 IU eCG (Novormon 5000[®], Sintex Indústria Bioquímica, Buenos Aires, Argentina) latero-vulvar 24 h before the device removal. Devices remained for 6 days period in all treatments. After removal goats were bred twice daily with fertile bucks at estrous onset and 24 h later if they were still in estrus. Statistical analysis were performed using all tests for statistical significance at the 95% confidence interval.

Results and Discussion

The estrous response and conception rate did not differ ($P>0.05$) among new device (86.6/60.0%), 6 (100.0/58.3%), and 12 days (100.0/66.7%) treatments, respectively. Two goats of new device lost their inserts and a doe from 6 days got sick; these animals were taken out of the experiment. Interval to estrus was similar ($P>0.05$) for animals of new device (35.1±14.3 h), 6 (33.8±10.4 h) and 12 days (32.0±9.3 h) treatments or between nulliparous (33.5±11.0 h) and pluriparous

(32.7±11.2 h) goats. The estrous duration was the same ($P>0.05$) in all treatments (32.3±9.0 h; 32.0±10.7 h; 32±9.4 h, for new devices, 6 and 12 days treatments, respectively) and for nulliparous (27.5±12.6 h) or pluriparous (28.0±10.1 h). All treatments were efficient to induce estrus in Toggenburg goats in nonbreeding season. The autoclaving process did not affect the efficiency of reutilizing intravaginal progesterone devices for Toggenburg goats. This technique can be a simple and valuable tool to reduce sanitary risks of disease transmission without altering fertility in goats.

References

Zambrini FN, Fonseca JF, Bruschi JH, Viana JHM, Palhão MP, Santos AFA. Induction estrus in goats using reused intravaginal devices. *Acta Scientiae Veterinarie* 33 (Supplement 1), 2005.

Keywords: autoclaved CIDR, estrous induction, goats, anestrous.

Palavras-chave: CIDR autoclavado, indução de estro, cabras, anestro.

Financial Support: CNPq, Pfizer do Brasil, EMBRAPA Goats and Sheep.

185

Sobrevivência embrionária de embriões vitrificados em *tips* comparativamente a embriões frescos em caprinos (*Goat embryos survival vitrified in micropipette tips compared to fresh embryos*)

A.S. Traldi¹, R.O.C. Silva², D.R. Catto²; D. Pugliesi²; F. Pereyra-Bonnet¹; A. Gibbons³

¹Departamento de Reprodução Animal, FMVZ-USP; ²Fertiliza Embriões; ³Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Estación Experimental Bariloche, Argentina. E-mail: astraldi@usp.br

Introdução

A vitrificação permite a criopreservação de embriões por solidificação da solução em contato com o nitrogênio líquido (N₂), sem a formação de cristais intra e extra-celulares. Para seu uso a campo, é fundamental uma simplificação no método. Nosso objetivo foi comparar a viabilidade de embriões de caprinos transferidos frescos (FR), ou vitrificados (VITRI) em *tips* de micropipetas, manipulados e mantidos em temperatura ambiente (28 a 30°) da colheita à vitrificação, e da rehidratação até o momento de sua transferência às receptoras.

Material e métodos

Quatro doadoras da raça Boer (Grupo FR) e sete sem raça definida (Grupo VITRI) foram sincronizadas com protocolo de 10 dias e superovuladas com 250UI de pFSH (Pluset, Calier, Brasil). Os acasalamentos foram efetuados por quatro reprodutores Boer, 12 e 24 horas após o início do estro, e as colheitas realizadas por via cirúrgica entre o oitavo e nono dia após o final do tratamento hormonal. Grupos de dois a três embriões nos estágios de mórula compacta a blastocisto eclodido foram vitrificados segundo método descrito para caprinos por Traldi *et al.* (1999), que se divide em duas etapas de equilíbrio de 5 min e uma etapa final em solução de vitrificação (25% glicerol/25% etileno glicol), na qual os embriões foram rapidamente aspirados em 1µl da solução por *tips* de 10 µl, submergidos em criotubos com N₂ dentro de 30 seg. O reaquecimento foi efetuado por rolamento dos *tips* entre os dedos durante 6 seg. Para eliminação do crioprotetor, os embriões foram transferidos à uma solução com 12.5% glicerol/12.5% etileno glicol/0.5M de sacarose (5 min), e sequencialmente a soluções de 0.25 M (5 min) e 0.125 M (5 min) de sacarose, finalizando com duas lavagens em DPBS com 20% de soro fetal bovino (Nutricell, Brasil), meio onde foram mantidos até a inovulação. Por via semi-laparoscópica, um a dois embriões FR ou dois a quatro VITRI, de semelhante grau de desenvolvimento, foram transferidos a receptoras sincronizadas com 75µg de cloprostenol e 250UI de eCG (Novormon, Syntex, Argentina) aplicados no oitavo dia de protocolo de 10 dias.

Resultados e Discussão

A taxa de gestação e sobrevivência embrionária para ambos os grupos foi de 85% (17/20) e 65,7% (23/35) para os FR e de 86% (12/14) e 70% (21/30) para os VITRI ($p>0,5$). Em adição, obteve-se uma média de 1,75 crias por receptora parida (21/12) e 1,5 por receptora tratada (21/14) no grupo VITRI e, no grupo FR, 1,35 (23/17) e 1,15 (23/20) por receptora parida e tratada, respectivamente. Os resultados demonstraram que a manipulação dos embriões em temperatura ambiente, e em condições de campo, permite adequada sobrevivência embrionária tanto para embriões frescos quanto vitrificados. Sem dúvida, o pequeno volume de crioprotetor, somado à seleção das receptoras, aos cuidados pré e pós-transferência, e ao treinamento do profissional na manipulação dos embriões, faz do *tip* um instrumento adequado para a vitrificação de embriões de caprinos.

Referências bibliográficas

Traldi AS, Leboeuf B, Cognié Y, Poulin N, Mermillod P. Comparative results of *in vitro* and *in vivo* survival of vitrified *in vitro* produced goat and sheep embryos. *Theriogenology*, v. 51, p. 175, 1999.

Palavras-chave: caprinos, embriões, vitrificação, *tips*.

Key-words: goat, embryos, vitrification, *tips*.

186

Avaliação de protocolos hormonais para inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF) em cabras (*Hormonal evaluation of protocols for fixed-time artificial insemination (IATF) in goat*)

N.M. Souza, P.F. Lima, S.I. Guido, M.A.L. Oliveira, M.V. Azevedo

Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE. E-mail: nataliams_vet@hotmail.com

Introdução

Apesar de numericamente expressivos, a grande maioria dos rebanhos caprinos do Nordeste apresenta resultados insatisfatórios de desempenho provocado pela ausência marcante de tecnologia que caracteriza seus sistemas de produção. Por isso percebe-se a necessidade de investir nessa cultura criando métodos mais eficazes de reprodução desses animais, tais como a sincronização do estro e a inseminação artificial em tempo fixo.

Material e Métodos

Foram utilizadas 15 fêmeas, nulíparas e pluríparas, com 12 à 60 meses de idade e escore corporal entre 2,0 e 3,5, além de dois machos vesectomizados. Essas fêmeas foram selecionadas através do exame ultrassonográfico e foram divididas em três grupos. G1 foi tratado com CIDR por 11 dias, eCG e PGF_{2α} no 9º dia e 48 horas após inseminou. G2 e G3 tiveram o mesmo tratamento no qual utilizou-se CIDR por 7 dias, no sétimo dia aplicou eCG e PGF_{2α}, 48 horas depois inseminou. 30 dias após as inseminações foi realizado o exame ultrassonográfico para verificar a ocorrência de prenhez.

Resultados e Discussão

No grupo 1, o índice de prenhez foi de 40% destas prenhes verificou-se que 100% delas tiveram deposição do sêmen no 1º anel cervical. No grupo 2, 60% de prenhez, das quais 66,67% delas tiveram deposição do sêmen no 2º anel cervical e 33,33% tiveram deposição intra-uterina. No grupo 3, 40% de prenhez, destas prenhes 50% delas tiveram deposição do sêmen no 1º anel cervical e 50% tiveram deposição intra-uterina. Totalizando-se os resultados obtive-se 46,67% de cabras prenhes. Quanto à ocorrência de estro, observou-se que 100% dos animais tratados demonstraram os sinais de estro o que é justificado pela administração de gonadotrofinas (Anel-Rodríguez, 1984). O estro teve duração média de 30 horas e está dentro dos padrões segundo Van Rensburg, 1971.

Referências bibliográficas

Anel-Rodríguez, et al. Efecto macho, FGA + PMSG, FGA + PMSG + GnRH em la inducción del celo de la cabra Murciano-Granadina durante el anestro estacionário y em ordeno.

Van Rensburg, S.J. Reproductive physiology and endocrinology of normal habitually aborting Angora goats.

Palavras-chave: Inseminação Artificial, Cabras, Reprodução, Estro.

Keywords: Artificial insemination, Goats, Reproduction, Estrus.

187

Sincronização de estro em cabras da raça Toggenburg após a utilização de protocolos hormonais de curta, média e longa duração (*Oestrous synchronization in Toggenburg after use of long, médium and short-term protocols*)

P.M.P. Nascimento¹, F.Z. Brandão¹, A.P. Oliveira², M.E.F. Oliveira³, J.H.M. Viana⁴, J.H. Bruschi⁴, J.F. Fonseca⁵

¹UFF – Niterói – Rio de Janeiro; ²EPAMIG – Belo Horizonte – Minas Gerais; ³FCAV-UNESP – Jaboticabal – São Paulo ; ⁴Embrapa Gado de Leite – Juiz de Fora – Minas Gerais; ⁵Embrapa Caprinos e Ovinos – Sobral – Ceará

E-mail: paulampn@gmail.com

Introdução

O desenvolvimento da caprinocultura vem apresentando um ciclo de crescimento mundial, havendo ampla necessidade de se assistir a reprodução destes animais (FONSECA, 2005). Neste panorama o trabalho teve como objetivo estudar o efeito da duração do tratamento hormonal (6, 9 e 12 dias) na estação de acasalamento sobre a dinâmica ovulatória, bem como o comportamento sexual e a fertilidade de cabras da raça Toggenburg.

Material e Métodos

Foram selecionadas 66 cabras Toggenburg sendo nulíparas, pluríparas lactantes e pluríparas secas, divididas em 2 grupos homogeneamente, de acordo com o método de acasalamento: monta natural (MN) e inseminação artificial (IA). Cada método de acasalamento possuía 3 tratamentos, que variavam de acordo com a permanência do implante intravaginal (CIDR-G® - Pfizer-Saúde Animal, Argentina) de 6 (T1), 9 (T2) e 12 (T3) dias. No momento da inserção do implante todos os animais receberam injeção paravulvar de 12,5mg de dinoprost (Lutalyse® - Pfizer – Saúde Animal, Brasil) e 24 horas antes da retirada do implante, foi administrado por via intramuscular (IM) 200UI de eCG (Shering-Plough Animal Health, Brasil). A avaliação do estro foi iniciada 12 horas após a retirada do implante, com o auxílio de bodes. O acompanhamento ultra-sonográfico transretal iniciou-se no momento da retirada do implante, com o auxílio de aparelho Aloka SSD 500 (Aloka Co., Japão) e era realizado a cada 8 horas até o momento da confirmação da ovulação. A MN ocorreu tanto quanto as fêmeas aceitassem a cópula pelos machos e IA 53 horas após o início do estro. O diagnóstico de gestação foi realizado 45 dias após o acasalamento.

Resultados e Discussão

O estro foi detectado em 72,3% (16/22), 81,8% (18/22), 73,3% (17/22), o intervalo entre a retirada do implante ao início de estro 33,0±7,4, 31,7±9,7, 33,9± 8,6 horas e a duração do estro foi 33,7±10,3, 34,6±10,2, 36,3±13,4 horas, para T1, T2 e T3, respectivamente. Os animais do T1 apresentaram estro mais precocemente por serem nulíparas e desta forma responderem mais facilmente ao tratamento. Em relação ao acompanhamento ultra-sonográfico, 95,5% (21/22), 81,0% (18/22) e 86,0% (19/22) para T1, T2 e T3, respectivamente apresentaram ovulação. Da retirada do implante a ovulação 55,7±9,5, 51,1±7,2, 51,6±4,3 horas e intervalo do início do estro a ovulação 29,8 ±12,7, 24,4±6,2, 22,9±7,1 horas, respectivamente. A taxa de gestação não diferiu (p > 0,05) entre os tratamentos; (8/22), (11/22), (14/22), T1, T2 e T3, respectivamente. Levando-nos a sugerir a utilização dos 3 tratamentos, independente do tempo de exposição a

progesterona intravaginal.

Referências bibliográficas

Fonseca, J.F. Estratégias para o controle do ciclo estral e superovulação em ovinos e caprinos. Revista Brasileira de Reprodução Animal, v.16, p.1-9, 2005.

Palavras-chave: progesterona, sincronização, cabras, ultra-sonografia, IA.

Keywords: progesterone, synchronization, goats, ultrasonography, AI.

188

Inseminação artificial em caprinos leiteiros na região do semi-árido paraibano (*Artificial insemination in dairy goats in the region from the semi-arid paraibano*)

A.T. Soares^{1,2}, **P.F.B.A. Lemos**^{1,2}, **S.V. Silva**², **F.F. Freitas**¹, **J.A. Vianna**¹, **A.K.G. Andrade**², **A.M. Batista**², **M.M.P. Guerra**²

¹EMEPA-PB, João Pessoa-PB, Brasil; ²Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, UFRPE, Recife-PE, Brasil. E-mail: adrianatsoares@hotmail.com

Introdução

A sincronização de estro pode ser obtida pela redução da fase luteal do ciclo estral, utilizando-se prostaglandina ou seus análogos, ou pelo alongamento artificial desta fase com o uso de progesterona ou progestágenos ou, ainda, associando-se esses elementos. A sincronização por progestágenos baseia-se na manutenção do dispositivo de liberação lenta por tempo que pode variar de cinco a 20 dias. O objetivo deste trabalho foi avaliar a fertilidade de cabras leiteiras submetidas à inseminação artificial usando dois protocolos de sincronização do estro e ovulação

Material e Métodos

Utilizou-se 220 cabras mestiças leiteiras distribuídas em dois grupos: GI= esponjas vaginais contendo 60mg de acetado de medroxiprogesterona (MAP), durante dez dias, e aplicação de 200UI de eCG e 50µg de cloprostenol 48 horas antes da remoção das esponjas (n=116); GII= esponjas vaginais contendo 60mg de MAP e 50µg de cloprostenol (dia 0), no 7º dia, removeu-se os pessários e administrou-se 200UI de eCG (n=114). Após 18 e 24 horas da detecção do estro, as cabras (GI e GII) foram inseminadas com sêmen resfriado (150×10^6), durante três a nove horas. Os dados foram submetidos à análise de variância e teste de Tukey a 5% de significância.

Resultados e Discussão

Os momentos da detecção do estro após a retirada das esponjas não diferiu ($P > 0,05$) no GI Ambos os tratamentos foram eficazes na resposta de indução do estro, 100,0%. Resposta superior a de Fonseca et al. (2005), trabalhando com cabras sincronizadas com 60mg de MAP durante seis e nove dias (89,5% e 84,2%, respectivamente). Os autores ressaltaram que a diminuição no período de tratamento progesterônico facilita o manejo, minimiza os riscos de infecção vaginal e contribui para o aumento das taxas de fertilidade, corroborando com os dados do presente trabalho, que obteve taxas de fertilidade de 60,34% e 73,10%, ($P < 0,05$), para GI e GII, respectivamente. Siqueira (2006) conseguiu obter índices de concepção de 55,56% e 42,86% com sêmen resfriado armazenado durante 12 e 24 horas, respectivamente. Não foi observada diferença estatística ($P > 0,05$) para os momentos da detecção do estro após a retirada das esponjas: $30,12 \pm 2,97$ h no GI e $32,17 \pm 4,9$ h no GII. No presente trabalho, o protocolo de sincronização do estro e ovulação com duração de sete dias promoveu resultados satisfatórios quanto às taxas de concepção em relação ao protocolo com dez dias de duração.

Referências bibliográficas

Fonseca JF, Bruschi JH, Santos ICC, Viana JH, Magalhães AC. Induction of estrus in non-lactating goats with different estrus synchrony protocols. Anim. Reprod. Sci., v.85, p.117-124, 2005.

Siqueira AP. Inseminação artificial em caprinos com sêmen resfriado. 2006. 106 f. (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Minas Gerais.

Palavras-chave: Caprino, sincronização do estro, inseminação artificial, sêmen resfriado

Keywords: Goats, synchronization of oestrus, artificial insemination, cooled semen.

189

Influência da condição reprodutiva na taxa de gestação e prolificidade de cabras inseminadas artificialmente (*Influence of reproductive condition on pregnancy rate and prolificacy of artificially inseminated goats*)

R.S. Souza¹, **L.P. Barbosa**², **J.D. Guimarães**³, **C.J.B. Espescht**³, **E.P. Costa**³, **B.M. Cardoso Neto**¹, **L.E.P. Martins**¹, **P.A. Dutra**¹

¹Universidade Federal da Bahia – UFBA, Salvador/BA; ²Universidade Federal do Recôncavo da Bahia – UFRB, Cruz das Almas/BA; ³Universidade Federal da Viçosa – UFV, Viçosa/MG. E-mail: lpres73@yahoo.com.br

Introdução

A dificuldade de realização de inseminações em cabras jovens comparadas com cabras adultas, devido a natureza anatômica do cérvix ou simplesmente pela dificuldade de observação da abertura cervical pode influenciar na taxa de gestação e prolificidade nessa espécie. Azevedo et al. (1998) mencionaram que a participação de fêmeas nulíparas em programas de inseminação artificial deve ser bem avaliada, devido à condição reprodutiva influenciar na fertilidade. Desta

forma, objetivou-se avaliar a influência da condição reprodutiva na taxa de gestação e prolificidade de cabras inseminadas artificialmente.

Material e Métodos

Foram usadas 67 cabras nulíparas e 154 pluríparas da raça Alpina. Foi utilizado estro natural com detecção por rufiação. Cabras que apresentaram estro pela manhã foram inseminadas à tarde e as que apresentaram estro à tarde foram inseminadas na manhã do dia seguinte. O diagnóstico de gestação foi realizado por meio de exame ultrasonográfico transabdominal, a partir dos 25 dias pós-inseminação. Para análise dos dados de taxa de gestação utilizou-se o teste Qui-quadrado e ANOVA para prolificidade, com 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão

O status reprodutivos das cabras não influenciou na taxa de gestação e prolificidade, sendo de 26,86% para nulíparas e de 33,11% para pluríparas inseminadas artificialmente, com prolificidade de 1,38 e 1,78, respectivamente. Esses resultados diferiram dos reportados por Ritar et al. (1990), em que houve superioridade na taxa de gestação das fêmeas multiparas. Dessa forma, conclui-se que fêmeas de primeira cria podem ser incluídas em programas de inseminação artificial, pois não apresentaram diferença na taxa de gestação e prolificidade em relação às fêmeas pluríparas.

Referências Bibliográficas

Azevedo OI, Machado R, Simplicio AA Efeito da nuliparidade sobre a fertilidade de cabras Moxató inseminadas artificialmente pela via transcervical. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 35. 1998: Botucatu. Anais. Botucatu. 1998. p.132-133.

Ritar AJ, Ball PD, O May PJ Examination of methods for the deep freezing of goat semen. *Reprod. Fert. Dev.*, v.2, n.1, p.27-34, 1992b.

Palavras-chave: caprino, inseminação artificial, status reprodutivo.

Keywords: goat, artificial insemination, reproductive status.

190

Influência do local de deposição do sêmen no trato reprodutivo na taxa de gestação e prolificidade de cabras inseminadas artificialmente (*Influence of site of deposition of semen in the reproductive tract on gestation rate and prolificacy of artificially inseminated goats*)

L.P. Barbosa¹, J.D. Guimarães², C.J.B. Espescht², E.P. Costa², R.S. Souza³, P.A. Dutra³, L.E.P. Martins³, B.M. Cardoso Neto³

¹Universidade Federal do Recôncavo da Bahia – UFRB, Cruz das Almas/BA; ²Universidade Federal da Viçosa – UFV, Viçosa/MG; ³Universidade Federal da Bahia – UFBA, Salvador/BA. E-mail: lpires73@yahoo.com.br

Introdução

A inseminação artificial em caprinos, devido a natureza anatômica do cérvix, especialmente em fêmeas jovens, impossibilita algumas vezes a deposição intra-uterina do sêmen. Segundo Ritar et al. (1990), melhores taxas de concepção são obtidas quando a deposição é realizada em sítios mais profundos do sistema reprodutor. Desta forma, objetivou-se avaliar a influência do local de depósito do sêmen no trato genital sobre a taxa de gestação e prolificidade de cabras inseminadas artificialmente.

Material e Métodos

Foram inseminadas 221 cabras da raça Alpina, em estro natural com detecção por rufiação. Cabras que apresentaram estro pela manhã foram inseminadas à tarde (17h) e as que apresentaram estro à tarde foram inseminadas na manhã (7h) do dia seguinte. Foi realizada inseminação transcervical considerando os locais de deposição do sêmen: intravaginal (IV), cervical superficial (ICS), cervical profunda (ICP) ou intra-uterina (IU). O diagnóstico de gestação foi realizado por meio de exame ultrasonográfico, a partir dos 25 dias pós-inseminação. Para análise dos dados de taxa de gestação utilizou-se o teste Qui-quadrado e para prolificidade utilizou-se análise de variância, com 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão

A incidência dos locais de deposição do sêmen no trato genital das cabras foi de 2,46% para inseminações IV; de 25,08% para ICS; de 10,41% para ICP e de 62,05% para IU. Não houve gestação em inseminações IV. Não houve diferença na taxa de gestação em relação ao local de deposição do sêmen no trato genital, sendo 28% para inseminações ICS; de 26,08% para ICP e de 34,26% para IU. Contudo, a prolificidade foi menor quando inseminações ICS foram realizadas (1,28), em relação à ICP (2,00) e IU (1,75). Deve-se realizar deposições de sêmen, pelo menos, em sítios profundos do sistema reprodutivo de cabras inseminadas artificialmente.

Referências bibliográficas

Ritar AJ, Ball PD, O May PJ. Artificial insemination of Cashmere Goats: Effects on fertility and fecundity of intravaginal treatment, method and time of insemination, semen freezing process, number of motile spermatozoa and age of female. *Reprod. Fert. Dev.*, v.2, n.4, p.377, 1990.

Palavras-chave: Caprino, inseminação artificial, fertilidade.

Keywords: Goat, artificial insemination, fertility.

Maturação *in vitro* de oócitos caprinos recuperados pela técnica de fatiamento “slicing” (*In vitro maturation of goat oocytes obtained by the technique of slicing*)

T.F. Teixeira, E.R. Santos Junior, C.R. Aguiar Filho, R.M. Chaves, P.F. Lima, M.A.L. Oliveira

Laboratório de Biotécnicas Reprodutivas do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). E-mail: maloufrpe@uol.com.br

Introdução

A aplicação de tecnologias de reprodução assistida possibilita o incremento no desempenho do melhoramento genético. Algumas dessas técnicas aumentam a seleção diferencial, como a inseminação artificial e a transferência de embriões, enquanto outras aceleram o progresso encurtando o intervalo entre gerações, como a produção *in vitro* de embriões a partir de animais pré-púberes (Baldassarre e Karatzas, 2004). Diante do exposto, objetivou-se desenvolver uma técnica viável para maturação *in vitro* de oócitos caprinos, possibilitando sua utilização em programas de fertilização *in vitro*

Material e Métodos

Foram utilizados 254 ovários de cabras, obtidos no abatedouro da cidade do Paulista, Região Metropolitana de Recife-PE, de novembro de 2008 a janeiro de 2009. Em um período máximo de uma hora, os ovários foram transportados ao laboratório em garrafa térmica contendo solução fisiológica acrescida de 30µg/mL de sulfato de gentamicina a 30°C. Os complexos cumulus-oócito (CCOs) foram colhidos dos folículos ovarianos com 2 a 6 mm de diâmetro pela técnica de fatiamento “slicing”. O líquido folicular foi acondicionado em placa de Petri contendo 100 mL de meio de colheita [Tissue Culture Medium-199 (TCM-199) - HEPES (Gibco) contendo 10% de Soro Fetal Bovino (SFB) e 50 µg/mL de gentamicina]. Para sedimentação e obtenção dos CCOs, o referido líquido folicular permaneceu em repouso durante 15 minutos a 39° C. Após desprezar-se o sobrenadante, os CCOs foram depositados em placa de Petri para recuperação e seleção dos oócitos.

Resultados e Discussão

Dos 254 ovários recuperaram-se 1442 CCOs, que foram classificados de acordo com a sua morfologia, segundo Lonergan et al. (1994), sendo 196 considerados de qualidade I, 288 qualidade II, 412 qualidade III e 546 qualidade IV. Dentre os classificados, ao fim do processo de maturação (24 horas em estufa a 38,5°C, 100% de umidade e atmosfera de 5% de CO₂ em ar), considerou-se 769 (53,32%) como oócitos maturados, obtendo assim uma relação de 5,67 oócitos recuperados/ovário e de 3,02 oócitos maturados/ovário. Resultados superiores aos relatados por Cognié e Baril (2002) que encontraram uma porcentagem de maturação *in vitro* de 35 a 50% e a taxa de oócitos recuperados/ovário ficou entre 5 e 7.

Referências bibliográficas

Baldassarre H, Karatzas CN. Advanced assisted reproduction technologies (ART) in goats. *Anim Reprod Sci*, v.82/83, p.255-266, 2004.

Cognié Y, Baril G. Le point sur la production et le transfert d’embryons obtenus in vivo e in vitro chez la bebris e la chèvre. *Prod Anim*, v.15, p.199-207, 2002.

Lonergan P, Monaghan P, Rizos D. Effect of follicle size on bovine oocyte quality and development competence following maturation, fertilization and culture *in vitro*. *Mol Reprod Dev*, v.37, p.48-53, 1994.

Palavras-chave: ovários, folículos ovarianos, complexo cumulus oócitos.

Keywords: ovaries, ovarian follicle, cumulus oocyte complex.

Efeito do diâmetro folicular sobre a qualidade dos oócitos obtidos de ovários de ovelhas (*Ovis aries*) e cabras (*Capra hircus*) (*Effect of follicular diameter on the quality of obtained oocyte of ovaries sheeps (*Ovis aries*) and goats (*Capra hircus*)*)

R.M. Chaves¹, C.R. Aguiar Filho¹, E.R. Santos Junior¹, J.M. Almeida-Irmão¹, J.T. Paula², L.R. Sacramento², R.E. Melo², P.F. Lima³, M.A.L. Oliveira^{3(*)}

¹Pós-Graduação UFRPE, ²Graduação UFRPE, ³Lab. Rep. Animal, UFRPE. E-mail: malo@ufrpe.br

Introdução

A biotécnica de produção *in vitro* de embriões em pequenos ruminantes obteve avanços consideráveis e está sendo rapidamente incorporada a reprodução destas espécies. A influência do tamanho folicular na qualidade e competência oocitária para o desenvolvimento *in vitro* tem sido exaustivamente estudada em bovinos, embora indiquem que folículos maiores geram oócitos com melhor competência (Seneda et al., 2001). Objetivou-se com este experimento avaliar a influência do diâmetro folicular sobre a qualidade dos oócitos obtidos de ovários de fêmeas ovinas e caprinas abatidas em fase aleatória do ciclo estral.

Material e Métodos

Os ovários foram obtidos de fêmeas ovinas e caprinas abatidas na cidade de Igarassu-PE. Após colheita, foram colocados em solução fisiológica a 0,9%, acrescida 30µg/mL de sulfato de gentamicina a 30°C e transportados ao Laboratório de Biotécnica da Reprodução da UFRPE. Os folículos foram mensurados com paquímetro e divididos em Classe I (CI) de 2 até 3 mm, Classe II (CII) de 4 até 5 mm e Classe III (CIII) de 6 mm. Após esta classificação, os oócitos foram aspirados com o auxílio de seringas de 5 mL e agulhas 19G1/2 e selecionados em lupa (Nikon SMZ800), segundo Lonergan et al.

(1994), em 5 grupos de qualidade Grau I (GI), Grau II (GII), Grau III (GIII), Desnudo (D) e Atrésicos (A). Para correlacionar os escores de qualidade oocitária com o tamanho folicular empregou-se o teste não-paramétrico de Spearman.

Resultados e Discussão

Dos 468 folículos de ovinos, 327 foram CI, 84 CII, 57 CIII, 83 foram GI, 78 GII, 95 GIII, 119 D e 93 A ($r = 0,02018$, p -value = $0,8231$) e dos 422 folículos de caprinos, 197 foram CI, 132 CII, 92 CIII, 64 foram GI, 70 GII, 91 GIII, 123 D e 74 A ($r = 0,02421$, p -value = $0,8446$). Os dados obtidos demonstram não haver correlações positivas entre qualidade dos oócitos e diâmetro dos folículos ($P > 0,05$). A ausência de correlação entre o diâmetro folicular e a qualidade dos oócitos pode ser atribuída a dinâmica folicular característica dos pequenos ruminantes, como citado por Vinales et al. (2000). Seneda et al. (2001) não observaram influência do diâmetro folicular sobre a maturação do oócito em bovinos oriundos de folículos pequenos ($< 4\text{mm}$) e grandes ($> 4\text{mm}$) aspirados in vivo. Os resultados indicam que não houve influência do diâmetro folicular sobre a qualidade dos oócitos recuperados de ovários de fêmeas ovinas e caprinas abatidas em fase aleatória do ciclo estral.

Referências bibliográficas

Lonergan P, Monaghan P, Rizos D. Effect of follicle size on bovine oocyte quality and development competence following maturation, fertilization and culture *in vitro*. *Mol Reprod Dev*, v.37, p.48-53, 1994.

Seneda MM, Esper CR, Garcia JM, Oliveira JA, Vantini R. Relationship between follicle size and ultrasound – guided transvaginal oocyte recovery. *Anim Reprod Sci*, v.67, p.37-43, 2001.

Vinales C, Meikle A, Forsberg M, Rubianes E. Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in the ewe. In: *International Congress on Animal Reproduction*, 14th, 2000. Vienna. Proceedings... Vienna: 2000. v.1, p.32.

Palavras-chave: Qualidade oocitária, ovários, folículo aspirado, ovino, caprino.

Keywords: Quality oocyte, ovaries, follicle aspirated, sheep, goats.

193

Desempenho reprodutivo de fêmeas caprinas submetidas à estação de monta durante a época seca do ano no semi-árido nordestino (*Reproductive performance of female goats submitted to breeding season during the dry season of year in Northeast semiarid*)

T.S. Castelo¹, A.A. Simplicio², R.A. Lira¹, A.R. Silva¹

Laboratório de Conservação de Germoplasma UFERSA, Mossoró, RN; ²FAPER/EMPARN. E-mail: thiberio_castelo@hotmail.com

Introdução

A exploração de caprinos na zona semi-árida apresenta-se como uma das poucas atividades agropecuárias sustentáveis, exigindo do produtor a escolha da época mais adequada para as matrizes parirem, visando diminuir os possíveis prejuízos. A estação de monta (EM) propicia condições para se dispor ao mercado animais uniformes quanto à idade, ao peso e ao acabamento da carcaça, favorecendo sua comercialização (Granados et al., 2006). O objetivo deste trabalho foi quantificar o desempenho reprodutivo de fêmeas caprinas nulíparas submetidas à EM durante a época seca do ano.

Material e Métodos

Foram usadas 30 fêmeas caprinas sem padrão racial definido, mantidas em regime de manejo semi-intensivo, tendo a caatinga nativa para pastejo, com acesso livre a sal mineral, criadas no município de Mossoró, RN ($05^{\circ}10'S$; $37^{\circ}10'W$), apresentando média pluviométrica de 946,1mm em 2007. As fêmeas tinham entre 14 e 15 meses de idade, foram pesadas e tiveram a condição corporal (CC) avaliada (0-5). A primeira EM foi realizada no último trimestre de 2007, durando 63 dias, onde as fêmeas foram expostas a três reprodutores, com a monta sendo feita a campo. Após 31 dias da primeira EM, iniciou-se a segunda, com 42 dias de duração, sendo usadas apenas 24 fêmeas. O diagnóstico de gestação foi realizado por meio de exame ultrassonográfico (Modelo Águila, Piemedical®, Nutricell, Campinas, Brasil). Os resultados foram expressos na forma de porcentagens simples.

Resultados e Discussão

As fêmeas apresentaram CC média de 2,98. Das 30 fêmeas expostas na primeira EM, apenas nove (30,0%) foram apresentaram estro e foram cobertas, sendo que uma (3,33%) abortou, quatro (13,33%) desenvolveram hidrometra e quatro (13,33%) não se encontravam prenhes, à ultra-sonografia trans-retal realizada entre 25 e 35 dias após as cobrições. Das 24 fêmeas expostas na segunda EM, 22 (91,67%) apresentaram estro e foram cobertas, e 17 (70,83%) apresentaram-se gestantes. Segundo dados colhidos na Estação Meteorológica da UFERSA, o último trimestre do ano seria aquele sujeito a mais forte insolação e, possivelmente, esta possa ter interferido negativamente sobre o comportamento reprodutivo dos caprinos. Conclui-se que o último trimestre do ano não é favorável para a realização de estação de monta nas condições fisiográficas em que o presente trabalho foi realizado.

Referências bibliográficas

Granados, L.B.C., Dias, A.J.B., Sales, M.P. 2006. Aspectos gerais da reprodução de caprinos e ovinos. Campos dos Goytacazes-RJ: [s. ed]. 54p.

Palavras-chave: Caprino, fêmea, nulípara, estação de monta, desempenho reprodutivo.

Keywords: Goat, Female, nuliparous, breeding season, reproductive performance.

Desenvolvimento ponderal de borregos Santa Inês criados no nordeste do Pará submetido a dois sistemas de amamentação (*Ponderal development of Santa Ines lambs created in northeastern Pará subjected to two breastfeeding system*)

H.L.L. Sousa², L.F.S. Rodrigues¹, A.C.B. Moura³, A.A. Araújo⁴, W.R.R. Vicente⁵

¹Universidade Federal Rural da Amazônia. ²Universidade Federal do Ceará. ³Universidade Federal do Ceará.

⁴Universidade Estadual do Ceará. ⁵UNESP-Jaboticabal. E-mail: cpcop@ufra.edu.br

Introdução

Com o objetivo de atender a demanda de mercado em expansão no Estado do Pará, o presente trabalho avaliou a influência das estações do ano e do sistema de amamentação sobre o desenvolvimento ponderal de borregos Santa Inês, no Norte do Brasil, com vista a estabelecer o sistema de amamentação mais adequado.

Material e Métodos

No período chuvoso foram observados 16 borregos em amamentação contínua e 17 borregos em amamentação controlada. No período seco o número de crias foi de 31 borregos para tratamento contínuo e 34 para o tratamento controlado. A crias de ambos os tratamentos foram pesadas no momento do parto, 15, 30, 60 e 90 dias pós-parto. Os dados foram expressos em média e desvio padrão analisados por ANOVA a 5% de probabilidade para o teste "F", além da análise de regressão para determinar, dentro do intervalo estudado de 90 dias (desmame), a média de peso para os tratamentos entre os períodos.

Resultados e Discussão

No período chuvoso, observou-se que a partir de 15 aos 90 dias pós-parto, os borregos submetidos ao tratamento com amamentação controlada diferiram ($p < 0,05$) mostrando um maior ganho de peso, comparado às crias de amamentação contínua. Durante a época seca os manejos de amamentação não apresentaram diferença ($p > 0,05$) no ganho de peso das crias até o desmame. Estes resultados foram semelhantes aos de Leal et al. (2007). Comparando o ganho de peso diário entre os períodos, o seco mostra um melhor desempenho, com um ganho médio de peso das crias de 165 gramas por dia, enquanto o período chuvoso foi de 135 gramas por dia. Em ambos os períodos o ganho de peso foi superior o encontrado por Freitas (2005) em borregos confinados com desmame aos 98 dias.

Referências bibliográficas

Leal TM, Nunes JF, Salgueiro CCM, Salmito-Vanderley CSB, Vieira RJ, Nascimento MPSCB, Moura AAA. Retorno ao estro pós-parto em ovelhas da raça Santa Inês e desempenho ponderal dos cordeiros: influência do manejo da alimentação e da amamentação. 2007. Faculdade de Veterinária: Universidade Estadual do Ceará, 2007. (Dissertação de mestrado).
Freitas DC. Idade de desmame de cordeiros deslançados para terminação em confinamento, no litoral norte da Bahia. R. Bras. Zootec. [online]. 2005, v. 34, n. 4, pp. 1392-1399. ISSN 1516-3598.

Palavras-chave: Santa Inês, ganho de peso, amamentação, clima.

Keywords: Santa Ines, weight gain, breastfeeding, climate.

Determinação do tempo de migração do tubérculo genital e de sua diferenciação nas estruturas da genitália externa de caprinos (*Determination the migration time of the genital tubercle and their differentiation on external genital structures of goats*)

C.R. Aguiar Filho^A, L.M. Freitas Neto^A, J.M. Almeida-Irmão^A, P.P. Machado^A, E.R. Santos Junior^A, M.H.B. Santos^B, P.F. Lima^A, M.A.L. Oliveira^A

^ALaboratório de Biotécnicas Reprodutivas do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE); ^BBolsista da Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE).

E-mail: maloufrpe@uol.com.br

Introdução

Apesar dos recentes avanços na sexagem fetal de pequenos ruminantes pela ultrassonografia decorrentes dos trabalhos de Santos et al. (2008), ainda persistem alguns questionamentos que, se devidamente elucidados, poderão contribuir para aumentar a eficiência desse método. Diante do abordado, objetivou-se averiguar o tempo de migração do tubérculo genital (TG) e de sua diferenciação nas estruturas da genitália externa de fetos caprinos de diferentes raças.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido nas Estações Experimentais da Empresa Estadual de Pesquisa Agropecuária da Paraíba S.A. (EMEPA - PB), localizadas nos Municípios de Campo de Santana e Soledade. Foram diariamente examinados 91 fetos, do 40º ao 60º dia de gestação, sendo 35 da raça Boer [11 de gestação simples (GS) e 24 de gestação dupla (GD)], 30 da Parda Alpina (10 GS e 20 GD) e 26 da Anglo-Nubiana (8 GS e 18 GD). Procedendo-se, inicialmente, o acompanhamento da migração do TG e, posteriormente, o surgimento da genitália externa do macho e da fêmea. Os exames foram realizados pela via transretal utilizando um transdutor linear de dupla frequência (6,0 e 8,0 MHz) e aparelho ultrassonográfico modelo 240 Parus (Esaote Pie Medical - Maastricht/Holanda). Foram realizadas a análise de variância (ANOVA) e a comparação entre médias dos resultados através da análise do teste de Tukey, considerando-se o nível de significância de 5%.

Resultados e Discussão

O posicionamento final do TG dos fetos machos ocorreu no dia $46,83 \pm 0,72$ (GS) e dia $47,13 \pm 1,59$ (GD), nas fêmeas no dia $45,71 \pm 1,10$ (GS) e dia $45,54 \pm 1,45$ (GD), similares aos achados de Santos et al. (2006). Nos machos e fêmeas não foram observadas diferenças ($P > 0,05$) no período médio de migração do TG entre as GS e GD. Nas GS, a visibilização das estruturas da genitália externa ocorreu no período de $49,17 \pm 2,41$ dias para bolsa escrotal, $49,25 \pm 2,09$ dias para o pênis, $49,06 \pm 1,78$ dias para as tetas e $50,88 \pm 3,26$ dias para o clitóris não apresentando diferença ($P > 0,05$) entre as médias. Nas GD, a visibilização da bolsa escrotal ocorreu no período de $49,43 \pm 2,13$ dias, pênis no $49,33 \pm 2,25$ dias, tetas no $49,21 \pm 1,66$ dias e clitóris no $49,36 \pm 1,83$ dias não havendo diferenças ($P > 0,05$) entre as médias. Houve diferença ($P < 0,05$) apenas no período médio para a visibilização do clitóris entre as GS e GD. Os resultados permitem concluir que é possível sexar fetos caprinos das raças estudadas antes do 55º dia de gestação desde que sejam consideradas as estruturas da genitália externa.

Referências bibliográficas

Santos MHB, Aguiar Filho CR, Freitas Neto LM, Silva SR, Neves JP, Lima PF, Oliveira MAL. Uso do ultra-som para sexar fetos da raça Moxotó identificando a posição final do tubérculo genital. Arch Zootec, v.57, n.220, p.505-511, 2008.

Santos MHB, Moura RTD, Chaves RM, Soares AT, Neves JP, Reichenbach HD, Lima PF, Oliveira MAL. Sexing of Boer goat fetuses using transrectal ultrasonography. Anim Reprod, v.3, n.3, p.359-363, 2006.

Palavras-chave: sexagem, bolsa escrotal, pênis, tetas, clitóris.

Keywords: sexing, scrotum, penis, nipples, clitoris.

COELHOS

196

Avaliação computacional da compactação da cromatina e características morfométricas de espermatozoides de coelho corados com azul de toluidina (*Computational evaluation of chromatin packaging and morphometric characteristics of rabbit spermatozoa stained with toluidine blue*)

M.N. Gama¹, C.Y. Kanayama³, G.D. Araújo³, D.A. Pinto¹, I.N. Duarte¹, G.S.L. Sampaio¹, M.E. Beletti²

¹Faculdade de Medicina Veterinária, ²Instituto de Ciências Biomédicas,UFU, Minas Gerais, Brasil; ³Instituto de Estudos Avançados em Veterinária “José Caetano Borges”, Universidade de Uberaba – UNIUBE, Minas Gerais, Brasil. E-mail: ilhagama@gmail.com

Introdução

O objetivo deste trabalho foi avaliar a correlação entre ocorrência de anormalidades na condensação da cromatina e a morfometria da cabeça de espermatozoides de coelhos..

Material e Métodos

Foram utilizados 35 ejaculados de coelhos da raça Nova Zelândia brancos, coletados por meio de vagina artificial. Os esfregaços obtidos foram fixados e corados com azul de toluidina pH 4. Foram obtidas 100 imagens digitais em tons de cinza de cada esfregaço e dessas 100 cabeças de espermatozoides foram segmentadas interativamente. Todas as cabeças foram avaliadas, sendo determinada a diferença da média dos valores de pixel de cada cabeça avaliada em relação aos valores de cabeças padrões. A diferença encontrada foi transformada em porcentagem da média dos valores de pixel. Também foi calculado o coeficiente de variação das intensidades de tons de cinza de cada cabeça. A área, perímetro, largura, comprimento, relação comprimento largura, elipsidade e fator forma de todas as cabeças foram calculados, assim como descritores Fourier com amplitude de 0 a 2. A simetria da cabeça espermática também foi considerada. Os coeficientes de correlação entre cada parâmetro foram calculados.

Resultados e Discussão

As variáveis morfométricas de tamanho são geralmente correlacionadas negativamente com as de compactação de cromatina, ou seja, as cabeças menores tendem a possuir cromatina mais heterogênea e mais frouxa. Também se verificou que quanto mais alongada for a cabeça do espermatozoide mais heterogênea e mais compactada tende a ser a cromatina. Semelhantemente aos espermatozoides de touro, geralmente as harmônicas de Fourier zero e dois possuem correlação positiva e a um, negativa em relação às alterações de cromatina. A simetria lateral possui correlação negativa significativa em relação à descompactação de cromatina, demonstrando que espermatozoides simétricos lateralmente possuem cromatina mais compactada. Finalmente, semelhantemente ao encontrado em espermatozoide de touros, existe uma alta correlação entre a descompactação e a heterogeneidade da cromatina.

Referências bibliográficas

Beletti, M.E.; Costa, L.F.; Guardieiro, M.M. Morphometric features and chromatin condensation abnormalities evaluated by toluidine blue staining in bull spermatozoa. Brazilian Journal of Morphological Sciences, Campinas, v.22, n.2, p.85-90, 2005.

Palavras-chave: Espermatozoide, coelho, cromatina, morfometria.

Keywords: Spermatozoon, rabbit, chromatin, morphometry.

Agradecimento: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais – FAPEMIG.

EQUINOS

197

Efeito da refrigeração de sêmen equino sobre a motilidade e vigor utilizando dois diferentes diluentes com glicerol (*Effect of cooling of equine semen on the motility and vigor using two different extenders with glycerol*)

V.H.A. Cadamuro¹, A.C. Martinez¹, A.C.P. Martins Junior², R.R. Untem², J.S. Madureira²

¹Laboratório de Criação e Reprodução Animal – Campus de Umuarama – UEM – Departamento de Medicina Veterinária.

²Laboratório de Reprodução Animal – UCDB – Campo Grande. E-mail: victor_mvvet@hotmail.com

Introdução

A refrigeração de sêmen equino tem sido amplamente estudada como forma de proporcionar melhores condições ao gananhão tanto em manejo sanitário como em menor lesão celular dos espermatozoides, aumentando a viabilidade espermática. Este trabalho teve como objetivo avaliar a viabilidade dos espermatozoides refrigerados em dois diferentes diluentes com glicerol em diferentes intervalos de tempo.

Material e Métodos

Foram utilizados três gananhões, com idades variando entre cinco e 16 anos. Foram utilizados 13 ejaculados de cada animal para a refrigeração, mantendo-se um intervalo de um dia entre as colheitas. Logo após a colheita foram avaliados motilidade e vigor, seguindo recomendação do CBRA, em seguida foi realizado o processamento do sêmen de cada animal, sendo diluído na proporção de 1:1 (Glicose-Lactose-EDTA) para centrifugação em 378xg, 10 minutos. Em seguida foi realizada a ressuspensão dos espermatozoides nos diluentes com glicerol T1(UCDB-Hippus®) e T2(Botu-Crio®) obtendo concentração final de 125×10^6 eptz/ml, e assim levados para a refrigeração a 5°C, onde foram avaliados motilidade e vigor em microscopia óptica, nos aumentos de 100x e 400x, em intervalos de 12 horas durante 72 horas. Os dados obtidos foram analisados por análise de variância com auxílio do programa SAS V8.

Resultados e Discussão

Em relação aos resultados houve diferença significativa na motilidade ($p < 0,05$) nos tempos 24h (T1: $47,42 \pm 12,72$ e T2: $28,59 \pm 12,82$), 36h (T1: $38,97 \pm 14,47$ e T2: $19,77 \pm 13,29$), 48h (T1: $29,74 \pm 15,13$ e T2: $13,13 \pm 12,47$), 60h (T1: $21,82 \pm 13,60$ e T2: $6,49 \pm 6,73$) e 72h (T1: $16,15 \pm 13,02$ e T2: $3,95 \pm 5,39$); para o vigor houve diferença ($p < 0,05$) nos tempos 48h (T1: $2,31 \pm 0,83$ e T2: $1,36 \pm 0,63$) e 72h (T1: $1,64 \pm 0,74$ e T2: $0,87 \pm 0,4$), em ambos os casos prevalecendo um melhor resultado para o T1. Segundo RAPHAEL (2007) a motilidade apresentou valores médios maiores nas amostras de sêmen centrifugado e refrigerado nas mesmas condições do presente trabalho, em intervalos de 24h até 72h, provavelmente por ter trabalhado com diluentes sem a adição de glicerol. Observou-se que o T1 apresentou melhores condições para conservação seminal nos quesitos motilidade e vigor.

Referências bibliográficas

Raphael, C.F.. Efeitos da centrifugação nas características de movimento, integridade e peroxidação lipídica das membranas do espermatozóide equino refrigerado. Dissertação (mestrado). Universidade de São Paulo. Departamento de Reprodução Animal, 2007.

Palavras-chave: Equino, refrigeração, diluente e motilidade.

Keywords: Equine, cooling, extender and motility.

198

Comparação de três diferentes diluentes para sêmen equino (*Comparison of three different equine semen extenders*)

A.P. Neves^{a,b}, C.A. Wolf^b, I.C. Bustamante-Filho^b, F.S. Castro^b, R.C. Mattos^b

^a Faculdade de Zootecnia, UNIPAMPA, Dom Pedrito, RS; ^bREPROLAB, Faculdade de Veterinária, UFRGS, Porto Alegre, Brazil. E-mail: adripneves@yahoo.com.br

Introdução

O presente trabalho objetivou testar dois diluentes comerciais para preservação de sêmen equino a 4°C e compará-los com o leite UHT desnatado.

Material e Métodos

Para tanto, foram utilizados três gananhões, obtendo-se um total de 30 ejaculados, com intervalo de 1 semana entre os ejaculados de cada gananhão. Após a coleta e retirada da fração gel, o sêmen foi examinado para verificar a motilidade e concentração. De cada ejaculado, foram retiradas três alíquotas, sendo cada uma delas diluída no diluente A (leite UHT desnatado); diluente B e diluente C (diluente comercializados no mercado). Cada amostra foi mantida em refrigerador para preservação a 4°C por até 48 horas, e avaliada a cada 24 horas quanto à motilidade total e progressiva, vigor, integridade (CFDA/PI) e funcionalidade de membrana (HOST). A análise estatística foi realizada através da análise de variância, e teste de Tukey quando houve diferença entre as médias..

Resultados e Discussão

O sêmen fresco obtido apresentou um volume médio de $53,3 \pm 39,1$; a concentração foi de $0,164 \times 10^6 \pm 0,078 \times 10^6$. O número total de espermatozoides foi, em média, de $4,7 \times 10^9 \pm 2,83 \times 10^9$. A motilidade progressiva do sêmen fresco foi de

43% ± 14,6%. A adição de diluentes ao sêmen fresco melhorou significativamente ($p < 0,05$) a motilidade de todas as amostras na primeira observação (0h). Entretanto, não houve diferença entre os diluentes, quanto à motilidade total e progressiva, nas observações até 48 horas após a coleta. Com relação ao quesito funcionalidade de membrana, também não houve diferença significativa entre os diluentes, quando avaliados às 0h e 24h após a coleta. A integridade de membrana, entretanto, foi significativamente superior ($p < 0,05$) quando o sêmen foi diluído com o leite UHT desnatado e com o diluente C, no tempo de observação 0h. Após 24h, porém, o leite UHT demonstrou maior integridade da membrana ($p < 0,05$), quando comparado aos outros diluentes. Os presentes resultados demonstram que é possível a utilização de leite UHT desnatado sem danos à membrana do espermatozóide para criopreservação do sêmen equino a 4°C. Uma avaliação com maior número de indivíduos seria útil para reforçar estas características.

Palavras-chave: sêmen, equino, resfriamento, viabilidade, leite desnatado.

Keywords: semen, equine, cooling, viability, skim milk.

199

Avaliação da motilidade, integridade de membrana plasmática e susceptibilidade a peroxidação lipídica no sêmen equino congelado com diferentes concentrações espermáticas (*Assessment of motility, plasma membrane integrity and susceptibility to lipid peroxidation on equine frozen semen with different sperm concentrations*)

B.R. Avanzi¹, M. Nichi², F.O. Papa¹, C.M. Melo¹, G.M. Greco¹, E.G. Fioratti¹, J.A. Dell'Aqua Jr.¹, R.R.D. Maziero¹, P.N. Guasti¹, G. Monteiro¹, F.S. Wechsler³

¹Departamento de Reprodução Animal – FMVZ – UNESP/Botucatu, SP; ²Departamento de Reprodução Animal – FMVZ – USP/São Paulo, SP; ³Departamento de Produção Animal – FMVZ – UNESP/Botucatu, SP. E-mail: avanzi_vet@yahoo.com.br

Introdução

Alguns estudos têm demonstrado resultados divergentes ao avaliar o efeito da concentração espermática sobre a viabilidade celular pós-descongelação. Dessa forma, o presente experimento objetivou avaliar o efeito de diferentes concentrações espermáticas sobre parâmetros distintos de qualidade seminal pós-descongelação no sêmen equino criopreservado.

Material e Métodos

Foram utilizados 04 ejaculados de 05 garanhões de diferentes raças ($n=20$) de modo que cada ejaculado foi congelado em palhetas de 0,5 mL nas concentrações de 100, 200 e 400 x 10⁶ espermatozoides/mL de acordo com a técnica descrita por Papa et al. (2002) utilizando o meio de congelamento Botu-Crio[®] (Biotech Botucatu Ltda., Botucatu, SP). As palhetas foram descongeladas a 46°C por 20 segundos, avaliando-se os parâmetros de: motilidade total (MT, %), motilidade progressiva (MP, %) e espermatozoides rápidos (RAP, %) através de avaliação computadorizada (CASA); integridade de membrana plasmática (IMP, %) empregando as sondas fluorescentes iodeto de propídio e diacetato de carboxifluoresceína e susceptibilidade a peroxidação lipídica pela quantificação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS, ng MDA/10⁶ espermatozoides). A análise estatística das variáveis abordadas foi realizada pelo SAS utilizando o programa GLM para detectar heterocedasticidade dos dados por meio do teste de Brown-Forsythe seguida de análise empregando o programa MIXED com $p < 0,05$.

Resultados e Discussão

Foram observadas diferenças significativas ($p < 0,05$) entre a faixa de concentração estudada para os parâmetros de MT (100: 74,5 ± 6,72; 200: 71,6 ± 8,57; 400: 70,6 ± 10,02), MP (100: 34,8 ± 5,87; 200: 33,5 ± 7,27; 400: 32,0 ± 7,11) e RAP (100: 59,5 ± 10,60; 200: 56,4 ± 11,70; 400: 54,25 ± 12,87), denotando superioridade para a criopreservação em concentrações mais baixas. No entanto, para os parâmetros de IMP e TBARS não foram verificadas alterações relacionadas ao efeito da concentração (IMP, 100: 41,6 ± 6,50; 200: 40,1 ± 7,57; 400: 39,4 ± 9,16 e TBARS, 100: 40,5 ± 13,45; 200: 36,5 ± 8,47; 400: 36,1 ± 6,47; $p > 0,05$). Portanto, ao levar em consideração os parâmetros de cinética espermática observou-se que a congelamento de sêmen equino empregando concentrações mais baixas torna-se uma prática benéfica, porém testes de fertilidade devem ser realizados para avaliar a real superioridade deste procedimento, pois ao avaliar outras variáveis como integridade de membrana plasmática e susceptibilidade ao estresse oxidativo, não foram observadas as mesmas vantagens.

Referências bibliográficas

Papa, F.O. et al. Utilização do diluente MP50 para criopreservação de sêmen equino. Revista Brasileira de Reprodução Animal, v. 26, n. 3, p. 184-187, 2002.

Palavras-chave: sêmen, criopreservação, equino, concentração, espermatozoides.

Keywords: semen, cryopreservation, equine, concentration, spermatozoa.

Suporte financeiro: FAPESP – 07/57769-3.

200

Viabilidade pós congelamento de espermatozoides recuperados da cauda do epidídimo de um garanhão pós-morte – relato de caso (*Viability of equine spermatozoa thawed recovered from the epididymis cauda from post-death stallion - a case report*)

L.A. Rafael, R.G. Gomes, M.I.M. Martins, P.F.V. Pereira, A.J.S.A. Sampaio

Departamento de Clínicas Veterinárias, Universidade Estadual de Londrina-UEL, Londrina, PR. e-mail: imartins@uel.br

Introdução

A recuperação de espermatozoides da cauda do epidídimo pode ser uma oportunidade para preservar o material genético após uma injúria ou morte de um garanhão geneticamente valioso. Recentes estudos em nosso laboratório mostraram que espermatozoides obtidos de epidídimo permaneceram viáveis após a refrigeração a 4°C (1,2). O objetivo deste foi avaliar a viabilidade pós-descongelamento de espermatozoides recuperados da cauda do epidídimo de um garanhão morto por síndrome cólica.

Material e Métodos

Os epidídimos foram obtidos de um garanhão da raça quarto de milha de 20 anos, 30 minutos após a morte por síndrome cólica. Os testículos foram mantidos sob refrigeração em solução salina 0,9%, por aproximadamente 12 horas. A recuperação dos espermatozoides foi realizada pela introdução, com uma seringa acoplada a agulha sem bisel, de 80 mL de meio diluente (Botu-semen®) através do ducto deferente até a cauda do epidídimo. Os espermatozoides foram avaliados quanto à motilidade, vigor, concentração espermática, porcentagem de células viáveis e morfologia. Imediatamente após, o meio recuperado foi centrifugado e o “pellet” diluído em meio para congelamento (Botu-crio®), numa concentração de 200×10^6 espermatozoides viáveis/palhetas de 0,5 mL. Posteriormente o sêmen foi refrigerado a 4°C/20 minutos, em seguida, colocado no vapor de nitrogênio por mais 20 minutos, até ser mergulhado e armazenado em botijão criogênico. Após 24 horas, uma amostra foi descongelada e avaliada quanto a motilidade, vigor e porcentagem de células viáveis.

Resultados e Discussão

A concentração espermática do material recuperado dos epidídimos foi de 4.5×10^9 espermatozoides/mL e 70% de células morfolologicamente normais, sendo que os defeitos mais encontrados foram: gota citoplasmática proximal (14%) e defeitos no acrossoma (8%). Os resultados obtidos a fresco *versus* pós-descongelamento demonstraram uma queda em todos os parâmetros avaliados: motilidade (70 *versus* 50%), vigor (4 *versus* 3), espermatozoides viáveis (80% *versus* 50%). Portanto, os resultados nos mostraram que o processo de recuperação e congelamento de sêmen da cauda do epidídimo mantêm as características espermáticas mínimas, *in vitro*, necessárias para a fertilização.

Referências bibliográficas

(1) Martins, M.I.M.; Nagao, J.F.; Gomes, R.G. Viability of equine spermatozoa recovered from the epididymis cauda submitted to refrigeration. Livro de resumos do 16º congresso internacional de reprodução animal, 13–17 julho 2008 - Budapeste, Hungria. In: *Reproduction in Domestic Animals*. v.43, Supl 3, p. 179, 2008.

(2) Gomes, R.G.; Martins, M.I.M.; Rafael, L.A.; Sampaio, A.J.S.A. Pregnancy by artificial insemination with cooled epididymal spermatozoa obtained from post-death stallion – case report. Livro de resumos do II Internacional Symposium on Animal Biology of Reproduction, 19-22 novembro 2008 – São Paulo, Brasil. In: *Animal Reproduction*. v.6, n.1, p.309, 2009.

Palavras-chave: espermatozoides, epidídimo, criopreservação, equino.

Keywords: spermatozoa, epididymis, thawed, equine.

201

Influência da viabilidade espermática na fertilidade do sêmen equino (*Influence of sperm viability in fertility of equine semen*)

M.P. Matta, D.M. Rates, G. Pugliesi, G.R. Carvalho

Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa, MG. E-mail: mpmatta@gmail.com

Introdução

A inseminação artificial na espécie equina tem se difundido entre os criatórios visando à maximização da utilização de garanhões geneticamente superiores. A seleção de garanhões com fertilidade comprovada se torna importante para alcançar altos índices reprodutivos. Dentre os fatores que podem influenciar estes índices, a qualidade seminal assume um efeito considerável (Fernandes e Pimentel, 2002). No entanto, essa associação tem-se mostrado questionável sob determinados aspectos. Testes complementares têm sido utilizados para avaliar a viabilidade espermática antes da prática de inseminação, de forma a tentar prever o potencial fecundante do garanhão. O objetivo deste trabalho foi avaliar e correlacionar diferentes aspectos seminais de um garanhão da raça Bretão-Polstier, comparando-os com a fertilidade.

Material e Métodos

Foram realizadas 12 coletas de sêmen através de vagina artificial de modelo Hannover de um garanhão da raça Bretão - Polstier de 7 anos. Após a coleta, foi avaliado a motilidade total, o vigor, a concentração espermática e a morfologia através de microscopia de contraste de fase. A integridade da membrana plasmática foi avaliada através do teste supravital pela coloração de eosina nigrosina (Barth e Oko, 1989) e o teste hiposmótico (HOST) utilizando-se uma solução de sacarose de 100mOsm/l. O sêmen foi diluído em meio a base de leite em pó desnatado (Kenney et al., 1975) obtendo-se uma dose inseminante média de $469,3 \times 10^6$ espermatozoides viáveis em 20 mL. Foram utilizados 25 ciclos estrais de 22 éguas. As inseminações foram realizadas em intervalos de 48-72 horas após a detecção de folículo de 35 mm até a observação da ovulação. O diagnóstico de gestação foi realizado por meio de ultrassonografia transretal no 13º dia após a

deteção da ovulação. Os dados obtidos foram analisados pelo programa estatístico SAEG versão 9.1,UFV 2007.

Resultados e Discussão

Os valores médios de motilidade total e vigor do sêmen diluído foram $44 \pm 5,7$ e $3,3 \pm 0,4$ respectivamente. Na avaliação da morfologia espermática, foram observados em média 62,8 % de espermatozoides normais, 33,1% de defeitos menores e 4,1% de defeitos maiores. Ao avaliar a integridade de membrana através do HOST e da coloração supravital foram encontrados respectivamente $48,5 \pm 11,9$ e $41,6 \pm 15,9$ de espermatozoides íntegros. Não foi encontrada correlação entre motilidade, morfologia e os testes de integridade de membrana. Apesar das baixas características seminais apresentadas por este garanhão, a taxa de gestação foi de 72% (18/25), isto pode ter ocorrido devido a quantidade de espermatozoides viáveis (vivos, normais morfológicamente e móveis) no momento da inseminação, situando-se acima das concentrações mínimas necessárias na inseminação a fresco (em torno de 200 milhões de espermatozoides viáveis). Esses parâmetros são muito importantes para a fertilidade porque espermatozoides mortos ou com defeitos morfológicos severos não resultam na fertilização (Pesch, 2006). Desta maneira, a avaliação da viabilidade espermática é um aspecto de extrema relevância para estabelecer a dose inseminante e obter alta eficiência reprodutiva em éguas inseminadas a fresco.

Referências bibliográficas

Pesch, S; Bostedt, H; Failing,K; Bergmann, M. Advanced fertility diagnosis in stallion semen using transmission electron microscopy. *Animal Reproduction Science*, v.91.p 285-298, 2006.
Fernandes, C.E.Pimentel, C.A. Características seminais e fertilidade em garanhões. *Ciência Rural*, v.32, n.5, p.829-834, 2002.

Palavras-chave: Integridade de membrana, fertilidade, garanhão, motilidade espermática.

Keywords membrane integrity, fertility, stallion, spermatoc motility.

202

Características seminais de garanhões suplementados com óleo de arroz semi-refinado, rico em gama-orizanol (*Seminal characteristics of stallions supplemented with a rice oil rich in gama-oryzanol*)

C.B.M. Carvalho, G.E. Silveira Alves, A.P. Marques Júnior

Escola de Veterinária – UFMG, Belo Horizonte, MG, 31270-901. E-mail: caubivet@gmail.com

Introdução

A peroxidação lipídica contribui para o surgimento de danos à membrana plasmática do espermatozoide e a suplementação diária com substâncias anti-oxidantes tem se mostrado eficaz na melhoria da qualidade seminal de várias espécies domésticas, inclusive a equina (Deichsel et al., 2008). O óleo de arroz é uma fonte natural de vitamina E (α -tocoferol, α -tocotrienol, γ -tocoferol e γ -tocotrienol) e gama-orizanol. Ambos têm sido descritos por sua marcante atividade anti-oxidante (Yu et al., 2007). O objetivo deste estudo é avaliar os efeitos da suplementação com óleo de arroz (Gama Horse® - HT Nutri – Brasil) sobre os parâmetros espermáticos de reprodutores equinos.

Material e Métodos

Quatorze garanhões da raça Mangalarga Marchador, com idade entre 03 e 17 anos foram aleatoriamente divididos em dois grupos (GS – Grupo Suplementado (n= 8) e GC – Grupo Controle (n= 6). Todos os animais foram pesados e avaliados quanto a características clínicas, andrológicas e seminais antes do início da suplementação. Foram realizadas coletas seminais, a cada dois dias, antes do início da fase experimental, com o intuito de se estabilizar a reserva espermática de cada um dos animais. Os animais estão sendo suplementados com 1mL/Kg P.V. do produto diariamente. Os ejaculados estão sendo coletados duas vezes por semana, com vagina artificial. As características seminais estão sendo analisadas imediatamente após a coleta quanto ao volume, motilidade, concentração e resistência osmótica (Silva et al., 1994). Amostras de sangue de cada um dos grupos têm sido coletadas duas vezes por semana, para posterior análise plasmática das concentrações de progesterona e triglicérides (Arlas et al., 2008). O delineamento experimental e a análise dos resultados serão efetuados através da análise descritiva e análise de variância pelo teste de Tukey, ao nível de significância de 5%.

Resultados e Discussão

Segundo observações preliminares, verificou-se aumento significativo da motilidade espermática, possivelmente devido à intensificação do poder preventivo da peroxidação lipídica das membranas espermáticas, associada à proteção antioxidativa conferida pelos componentes do óleo de arroz. Embora os espermatozoides de todas as faixas etárias tenham apresentado melhora, a dos animais de 03 anos parece mais significativa.

Referências bibliográficas

Arlas, T.R., Pederzolli, C.D., Terraciano, P.B., et al. Sperm quality is improved feeding stallions with a rice oil supplement. *Anim.Rep.Sci*, v.107, p.3-4, 2008.
Deichsel, K.; Palm, F.; Koblischke, P., et al. Effect of a dietary antioxidant supplementation on semen quality in pony stallions., *Theriogenology*, v.69, p.940-945, 2008.
Silva, J.M.S.F; Palhares, M.S.; Fonseca, F.A. Transporte e inseminação artificial com sêmen resfriado equino. Belo Horizonte: Cadernos Técnicos da Escola de Veterinária da UFMG, 1994, 112p.
Yu, S.; Nehus, Z.T.; Badger, T.M., et al. Quantification of vitamin E and γ -oryzanol components in rice germ and bran. *J. of Agric. Food Chem.*, v.55, p.7308-7313, 2007.

Palavras-chave: Garanhões, Sêmen, Suplementação, Gama Orizanol.

Keywords: Stallion, Semen, Supplementation, Gama-oryzanol.

203

Efeito da incorporação de colesterol nas características de movimento, integridade de membrana plasmática e integridade do acrosomo em espermatozóides equinos descongelados (*Effects of cholesterol incorporation on motion characteristics, plasma membrane integrity and acrosome integrity of thawed equine sperm*)

F.S. Zahn*, F.O. Papa, A.M. Crespilho, B.R. Avanzi, G.A. Monteiro, P.N. Guasti, C.M. Melo

Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária – UNESP – Botucatu. *E-mail: biozahn@yahoo.com.br

Introdução

A incorporação de colesterol na membrana dos espermatozóides é uma técnica que vem sendo bastante pesquisada para melhorar a resistência dos espermatozóides aos processos de criopreservação. O objetivo deste trabalho foi investigar o efeito da incorporação de colesterol na membrana plasmática de espermatozóides equinos através do uso de complexo colesterol-metil- β -ciclodextrina, por meio de avaliações de características de movimento, integridade de membrana plasmática e integridade do acrosomo.

Material e Métodos

Foram processadas amostras de sêmen de 39 garanhões e de cada ejaculado foram retiradas duas amostras – uma foi incubada em colesterol e outra sem a adição do complexo de colesterol. Para a inclusão de colesterol, os espermatozóides foram incubados a uma concentração padronizada de 120×10^6 /mL por 15 minutos em solução tampão adicionada do complexo colesterol-metil- β -ciclodextrina na proporção de 1,5mg/ 120×10^6 espermatozóides. O sêmen foi então diluído 1:1 (v:v) em Botu-Sêmen[®], centrifugado, ressuscitado em Botu-Crio[®] a uma concentração de 200×10^6 espermatozóides/mL, resfriado em refrigerador Minitub[®] por 20 minutos, congelado em vapor de nitrogênio por 20 minutos e finalmente as palhetas foram mergulhadas em nitrogênio líquido. Duas amostras de cada ejaculado (uma tratada e outra controle) foram avaliadas por sistema HTM-IVOS 12 para características de movimento e por sondas fluorescentes para a avaliação de integridade de membranas plasmática e acrossomal.

Resultados e Discussão

A avaliação dos dados pelo teste “T” pareado mostrou que as amostras tratadas com colesterol apresentaram resultados significativamente melhores de motilidade total ($46,2 \pm 20,4$ vs $37 \pm 19,2$), motilidade progressiva ($18,3 \pm 14,3$ vs $15,2 \pm 13,7$), frequência de batimento ($28 \pm 3,5$ vs $29,1 \pm 3,7$), porcentagem de células com movimento rápido ($30 \pm 19,9$ vs $24 \pm 18,8$) e médio ($15,6 \pm 6,8$ vs $12,3 \pm 6,3$), porcentagem de células estáticas ($26 \pm 23,6$ vs $32,9 \pm 25,6$), integridade de membrana ($35,7 \pm 13,5$ vs $24,1 \pm 11$) e integridade do acrosomo ($92,5 \pm 6,7$ vs $85,4 \pm 9,5$). Os resultados obtidos no presente trabalho estão de acordo com outros apresentados na literatura e mostram, ainda, que esta técnica favorece a manutenção da integridade do acrosomo ($p < 0,0001$).

Palavras-chave: semen congelado, equino, colesterol, acrosomo.

Keywords: frozen semen, equine, cholesterol, acrosome.

204

Efeito de diferentes crioprotetores e curvas de congelamento sobre os espermatozóides equinos criopreservados (*Effect of different cryoprotectants and freezing procedures on post-thaw viability of equine sperm*)

G.C. Juliani¹, J. Perez-Osorio², M. Henry²

¹FEAD – Centro de Biotecnologia, Brasil; ² Departamento de Clínica e Cirurgia, Escola de Veterinária-UFMG, Brasil. E-mail: henrym@ufmg.br

Introdução

Com o intuito de aumentar a fertilidade do sêmen congelado equino, diferentes crioprotetores têm sido estudados (Osorio et al., 2008). Apesar das pesquisas, não existe ainda um protocolo ideal de congelamento para a espécie (Vidament et al., 2005). O presente trabalho objetivou avaliar os efeitos do glicerol (GLY) e da dimetilformamida (DMF) e sua interação com curvas de congelamento sobre a viabilidade dos espermatozóides equinos criopreservados.

Material e Métodos

Um ejaculado de 7 garanhões foi congelado em duas curvas de congelamento, curva 1 (palhetas a 3 cm do nitrogênio líquido, por 15 min.) e curva 2 (máquina computadorizada, Modelo TK 2000 – TETAKON – NUTRICELL[®] com queda de $0,5^\circ\text{C}/\text{min}$. até $5,0^\circ\text{C}$, e queda de $20^\circ\text{C}/\text{min}$. até -120°C com posterior imersão no nitrogênio); utilizando, glicerol ou dimetilformamida em meio base INRA 82. O sêmen foi centrifugado a 400 G por 12 min. O descongelamento foi realizado em 52°C por 10 segundos, seguido de imersão em banho-maria a 37°C por 30 segundos. Foram avaliados os parâmetros de motilidade, teste hiposmótico e patologia espermática. Realizado análise de variância com o delineamento em blocos casualizados em esquema fatorial. As médias obtidas foram analisadas empregando-se o teste de Tukey.

Resultados e Discussão

Os resultados obtidos mostram que em relação às curvas utilizadas, para todos os parâmetros avaliados a curva 2 foi superior a curva 1 independente do crioprotetor utilizado, exceto para a patologia espermática onde não ocorreu diferença estatística, similar a resultados de outros trabalhos que mostram que o choque térmico pelo frio é mais pronunciado

quando o resfriamento ocorre de maneira rápida. Já para o crioprotetor utilizado, a dimetilformamida foi superior ao glicerol, independente da curvas de congelamento utilizada para todos os parâmetros avaliados. Sugere-se que de alguma forma a DMF protege a integridade estrutural e funcional dos espermatozóides.

Referências bibliográficas

M. Vidament. French field results (1985-2005) on factors affecting fertility of frozen stallion semen. *Animal Reproduction Science*, v.89, p.115-136, 2005.

J. Perez-Osorio, F.G.C Mello, G.C. Juliani, M.A. Lagares, L.A. Lago, M. Henry. Effect on post-thaw viability of equine sperm using stepwise addition of dimethyl formamide and varying cooling and freezing procedures. *Anim. Reprod.*, v.5, n.3/4, p.103-109, Jul./Dec. 2008.

Palavras-chave: Criopreservação, equino, crioprotetor, curvas.

Keywords: Criopreservation, equine, crioprotectan, curves.

205

Avaliação da viabilidade dos espermatozóides colhidos e criopreservados da cauda do epidídimo de eqüinos (*Assessment of viability of cryopreserved sperm collected and the tail of the epididymis of horses*)

P.R. Muradás¹, R.R. Weiss¹, L.E. Kozicki¹, T.E. Trem¹, J.T. Souza²

¹Curso de Pós Graduação em Ciências Veterinárias, UFPR; ²Médico Veterinário Autônomo, UFPR. E-mail: muradaspritty@hotmail.com

Introdução

A recuperação de espermatozóides viáveis do epidídimo *post mortem* é uma técnica importante para se obter reservas genéticas de animais valiosos e ameaçados de extinção. O processo de congelamento e descongelamento pode, provocar danos na capacidade de motilidade e fecundação por alterações na membrana plasmática do espermatozóide (WATSON, 1995).

Material e Métodos

Neste experimento foram utilizados 10 ganhões com o objetivo de avaliar os defeitos de acrossôma ao longo do tempo pós-orquiectomia do equino, utilizando a coloração de Trypan-blue/Giemsa para tal avaliação. Os espermatozóides foram colhidos mediante lavagem da cauda epididimária, após submeter os animais à orquiectomia bilateral, todas as amostras foram criopreservadas para posterior avaliação. Relativamente às células espermáticas constituíram-se em dois grupos: 1. o colhido do epidídimo esquerdo; 2. e o colhido do epidídimo direito. Os parâmetros pesquisados foram: defeitos de acrossôma, espermatozóides vivos e mortos. Os parâmetros foram avaliados dos dois grupos pós-descongelamento das amostras.

Resultados e Discussão

Como resultados encontrou-se que a porcentagem de espermatozóides vivos com acrossôma 24 horas pós-orquiectomia declina rapidamente, sendo significativamente ($p < 0,05$) menor 30 e 36 horas pós-orquiectomia e que apesar de 36 horas pós-orquiectomia os espermatozóides vivos com acrossôma serem de apenas de 17% o experimento demonstrou que é possível recuperar células espermáticas viáveis após o descongelamento destas amostras.

Segundo MURADÁS *et al.* (2006) não encontraram diferença significativa entre os parâmetros de avaliação espermática, dos espermatozóides epididimários de eqüinos até 24 horas pós-orquiectomia, o que corrobora com os dados encontrados neste experimento. HERRICK *et al.* (2004), relataram que os espermatozóides epididimais de bovinos podem ser recuperados e criopreservados com sucesso, corroborando com os resultados obtidos nesse experimento.

Referências bibliográficas

Herrick, J.R.; Bartels, P.; Krisher, R.L. Post-thaw evaluation of in vitro function of epididymal spermatozoa from four species of free-ranging African bovinds. *Biology of Reproduction*, v.71, p.948-958, 2004.

Muradás, P.R.; Weiss, R.R.; Kozicki, L.E.; Granemann, L.C.; Santos, I.W.; Pimpão, C.T. Alguns parâmetros de viabilidade de espermatozóides eqüinos colhidos por vagina artificial e por lavagem da cauda do epidídimo. *Archives of Veterinary Science*, v.11, n.3, p.69-74, 2006.

Watson, P.F. Recent development of their post-thawing function. *Reproduction Fertility*. v.7, n. 1, p.871-891, 1995.

Palavras-chave: criopreservação, epidídimo, equino, espermatozóides, Trypan-blue/Giemsa.

Keywords: cryopreservation, epididymis, equine, sperm, Trypan-blue/Giemsa.

206

Viabilidade do sêmen eqüino na presença de um antiinflamatório esteróide no meio diluente (*Equine semen viability in the presence of a steroidal anti-inflammatory drug in semen extender*)

E.G. Fioratti¹, A.I.S.B. Villaverde¹, G.M. Greco¹, B.R. Avanzi¹, C.M. Melo¹, F.O. Papa¹, M.A. Alvarenga¹

¹Depto de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária - FMVZ, UNESP, Botucatu, Brasil. E-mail: efioratti@uol.com.br

Introdução

Nas éguas, a endometrite persistente pós-cobertura, uma das causas mais freqüentes de infertilidade, é caracterizada por ser um processo inflamatório estimulado pelo contato dos espermatozóides com o útero. Devido à eficiência das drogas antiinflamatórias esteroidais (AE) utilizadas por via parenteral na diminuição do acúmulo de fluido uterino e a

possibilidade de utilizar essas drogas por via intra-uterina evitando assim os efeitos colaterais do uso de AE; este estudo objetivou avaliar a ação da dexametasona adicionada ao diluidor de sêmen equino na viabilidade espermática após 2 horas de incubação (37°C) e 24 horas após refrigeração (5°C).

Material e Métodos

Dois ejaculados de quatro garanhões (n=8) foram coletados utilizando vagina artificial. Após avaliação da concentração e motilidade espermáticas, duas alíquotas com 800×10^6 de espermatozóides viáveis cada foram diluídas em Botu-Semen® até o volume de 15 mL. Posteriormente, uma alíquota foi rediluída com 15 mL de Botu-semen® (grupo controle) e outra com 15 mL de Botu-semen® suplementado com 2 mg de dexametasona (concentração 0,067 mg/ mL) (grupo tratado) com volume final de 30 mL. Uma parte das amostras de ambos os grupos foi refrigerada a 5°C por 24 horas em Botutainer® e outra incubada em banho seco a 37°C durante 2 horas. As amostras de sêmen foram avaliadas nos instantes 0, 30, 60 e 120 minutos seguidos a diluição e após 24 horas de refrigeração usando CASA e uma combinação de sondas fluorescentes para mensuração da integridade da membrana plasmática (IMP) (Iodeto de Propídeo) e acrossomal (FITC-PSA) e potencial mitocondrial (PM) (JC-1).

Resultados e Discussão

Comparando os dois grupos, não foi observada diferença significativa ($p < 0,05$) para todos os períodos de incubação a 37°C para a motilidade total, IMP e PM. Os valores de motilidade progressiva (30,25% vs 55,5%) e porcentagem de espermatozóides rápidos (20,25% vs 38,5%) foram maiores no grupo controle ($p < 0,05$). O grupo tratado mostrou menores valores ($p < 0,05$) para velocidade espermática ao longo de uma trajetória média (VAP) em 30 e 60 minutos e integridade de membrana acrossomal em 60 minutos de incubação a 37°C. Após 24 horas de refrigeração não houve diferença estatística entre os dois grupos ($p < 0,05$) para todas as análises realizadas, exceto para VAP, que foi menor ($p < 0,05$) para o grupo tratado. Concluímos que a adição de dexametasona provocou efeito deletério sobre a viabilidade espermática. Estudos relacionados à fertilidade e reação inflamatória estão em progresso para determinar se esta poderá ser adicionada ao sêmen de equinos no momento da inseminação ou da refrigeração por até 24 horas no intuito de minimizar os danos causados pela inflamação advinda da presença dos espermatozóides no útero sem causar redução da fertilidade.

Palavras-chave: Éguas, sêmen refrigerado, dexametasona, endometrite pós-cobertura.

Keywords: Mares, cooled semen, dexamethasone, post-breeding endometritis.

207

Teratoma de testículo em equino criptorquida (*Testicular teratoma in a cryptorchid horse*)

S. M. Fiala¹, R.F. Rodrigues¹, L.A. Cruz¹, M.G. Amaral¹, R.C. Mattos²

¹Departamento de Morfologia – Instituto de Biologia – UFPel ²REPROLAB – UFRGS. E-mail: sandrafiala@yahoo.com.br

Introdução

Os tumores genitais no garanhão não são comuns. O criptorquidismo parece ter importância no desenvolvimento de tumores testiculares, principalmente em teratomas (Brinsko, 1998). Os teratomas são originados das três camadas germinativas, geralmente com comportamento benigno, embora na maioria dos casos se originem do ectoderma e do mesoderma (Edwards, 2008), e devido a este fator apresentam tecidos que não são encontrados no órgão.

Material e Métodos

Durante coleta de material para um experimento em um frigorífico localizado na cidade de Pelotas, RS, observou-se em um garanhão a presença de um testículo com aumento de volume dentro da cavidade abdominal. O testículo foi coletado, armazenado em Bouin por 24 horas e posteriormente lavado em álcool 70°. O testículo foi seccionado, e amostras de diferentes regiões deste foram coletadas, processadas para histologia e coradas com H-E, PAS e Tricrômico de Azur e analisadas em microscópios óptico com aumento de até 400x.

Resultados e Discussão

Após a fixação o testículo foi seccionado e observou-se que este apresentava um grande cisto, e porções endurecidas. Os túbulos seminíferos pareciam em pequeno número, separados por grande quantidade de tecido conjuntivo e estavam atrofiados com ausência de células espermáticas na luz. Dentre os outros tecidos observados verificou-se a presença de tecido adiposo unilocular, nervos, e tecido cartilaginoso do tipo hialino, sendo que em algumas porções deste tecido foi possível observar o início da ossificação. As amostras analisadas apresentavam intensa vascularização, inclusive com vasos de médio calibre apresentando em sua túnica média vasa vasorum. Em algumas porções também foi observada presença de tecido epitelial de revestimento cúbico simples com projeções semelhantes a cílios. Com base na análise histológica concluiu-se que o testículo apresentava um teratoma, tumor benigno no qual são observados tecidos que não aqueles que são típicos do órgão.

Referências bibliográficas

Brinsko, SP. Neoplasia of the male reproductive tract Vet Clin North Am Equine Pract. 1998 Dec;14(3):517-33.

Edwards, JF Pathological conditions of the stallion reproductive tract Anim Reprod Sci 107 197-207 2008.

Palavras-chave: testículo, teratoma, equino.

Keywords: testes, teratoma, horse.

208

Perfil bioquímico do fluido uterino de éguas no momento pré-ovulatório (*Biochemical profile of uterine fluid of mares in the pre-ovulatory period*)

C.M. Melo, F.O. Papa, M.A. Alvarenga, E.G. Fioratti, B. De Vita, B.R. Avanzi

DRARV, FMVZ-UNESP, Botucatu. E-mail: cely_marini@yahoo.com, papa@fmvz.unesp.br

Introdução

A função espermática é altamente dependente do ambiente iônico (Hamamah & Gatti, 1998). O conhecimento da fisiologia do lúmen uterino pode contribuir para o incremento da fertilidade, especialmente com sêmen congelado. O presente estudo teve por objetivo caracterizar o perfil bioquímico do fluido uterino (FU) de éguas no momento pré-ovulatório.

Material e Métodos

Foram colhidas amostras de 32 éguas, classificadas em resistentes (n=16) e susceptíveis (n=16) a endometrite, com base na citologia endometrial e quanto ao acúmulo de FU pós-inseminação. As éguas encontravam-se em estro, com folículo de 35mm e edema uterino de grau II-III. As amostras foram obtidas utilizando-se um absorvente feminino da marca o.b.[®] introduzido no corpo uterino mantendo-o por 1 hora. O líquido foi obtido comprimindo o o.b.[®] utilizando-se uma seringa de 20 mL, captado em tubos de centrifuga de 15mL. As dosagens de Na, K, Ca, Cl e P do fluido uterino foram realizadas através do método de química seca. Os dados foram avaliados através do ANOVA (SAS, Institute, Inc., Cary, NC).

Resultados e Discussão

Os valores bioquímicos obtidos nas amostras do fluido uterino no momento pré-ovulatório foram: Na (122,5±5,98 vs 125,1±8,06 mEq/L), K (8,4±1,63 vs 7,7±1,52 mEq/L), Ca (8,5±2,33 vs 9,8±4,07 mg/dL), Cl (107,2±6,44 vs 112,4±7,96 mEq/L) e P (3,7±1,44 vs 3,14±2,10 mg/dL), respectivamente para éguas normais e susceptíveis. Não houve diferença entre as éguas normais e susceptíveis para os elementos avaliados (p<0,05). Entretanto, as concentrações de K foram quase o dobro das descritas no plasma seminal de garanhões (Zahn et. al., 2008), sendo os demais elementos semelhantes aos obtidos pelos mesmos autores.

Referências bibliográficas

Hamamah, S., Gatti, J.L. Role of the ionic environment and internal pH on sperm activity. Hum. Reprod. Suppl., v.4, p.20-30. 1998.

Zahn, F.S., Papa, F.O., Melo, C.M. Biochemical composition of stallion seminal plasma: is it correlated to semen freezability. Reprod. Dom. Anim., v.43(3), p.113. 2008.

Palavras-chave: equino, fluido uterino, avaliação bioquímica.

Keywords: equine, uterine fluid, biochemical evaluation.

Agradecimentos: FAPESP (05/53112-4 e 06/59003-5)

209

Características colpocitológicas e comportamentais do ciclo estral de éguas da raça Quarto de Milha (*Colpocytological and behavioral characteristics of the estral cycle in American Quarter Horse mares*)

R.V.C. Dias^{1*}, R.A. Lage², K.R.F. Lopes¹, A.R. Silva¹, M.A. Izael²

¹Departamento de Ciências Animais, UFRSA; ²Médica Veterinária Autônoma; *E-mail: regina@ufersa.edu.br

Introdução

Atualmente, observa-se uma crescente expansão do uso de biotécnicas reprodutivas em equinos (Blanchard et al., 2003). Porém, sua aplicação depende de conhecimentos acerca da fisiologia do ciclo estral das éguas. Este trabalho objetivou descrever as características colpocitológicas e comportamentais do ciclo estral de éguas da raça Quarto de Milha criadas no semi-árido nordestino.

Material e Métodos

Utilizaram-se três éguas Quarto de Milha, com três a oito anos, criadas em sistema intensivo em Mossoró-RN, sob um fotoperíodo natural de 12 h. Para observação do comportamento estral, procedeu-se rufiação individual por 180 a 300 segundos, a cada três dias, estabelecendo-se como primeiro dia do ciclo, aquele em que houve receptividade ao macho. Em cada ocasião, foram confeccionados esfregaços vaginais, no intuito de se acompanhar pelo menos um ciclo estral completo em cada fêmea. Os esfregaços foram corados em panótico rápido e observados ao microscópio óptico, contando-se 200 células, que foram classificadas como: basais, parabasais, intermediárias, superficiais com núcleo e superficiais sem núcleo (Schutte et al., 1967). Diferenças entre tipos celulares no decorrer do ciclo foram estabelecidas pelo teste do Qui Quadrado (P<0,05).

Resultados e Discussões

Os resultados preliminares mostram que o epitélio vaginal das éguas sofre discreto espessamento de camadas, não ocorrendo alterações entre as proporções de células no decorrer do ciclo, com a predominância das células superficiais anucleadas (P<0,05). Os achados relativos ao comportamento da fêmea em cio assemelham-se a descrição de outros autores (Blanchard et al, 2003), sendo observados: imobilidade e abertura dos membros posteriores, micção, eversão do clitóris e levantamento da cauda. Além disso, as fêmeas ficavam mais inquietas, aproximavam-se dos outros cavalos, farejavam-nos, relinchavam com mais frequência e emitiam repetidamente pequenas quantidades de urina. A duração

média dos ciclos foi de $21,7 \pm 0,3$ dias, exceto em uma égua que apresentou ciclo de 28 dias. Sugere-se que a citologia vaginal não é um método eficiente para diagnóstico das fases do ciclo estral em éguas Quarto de Milha criadas no semi-árido nordestino, cuja duração é, em média, de 21 dias, com evidente manifestação comportamental.

Referências bibliográficas

Blanchard TL, Varner DD, Schumacher J, Love CC, Brinsko SP, Rigby SL. 2003. Manual of Equine Reproduction. 2ª edição. St. Louis: Mosby. 253p.

Schutte AP. Canine Vaginal Cytology-II. Cyclic Changes. 1967. J Small Anim Pract, 8: 307-311.

Palavras-Chave: ciclo estral, égua, citologia vaginal, equino.

Keyword: mare, estral cycle, vaginal cytology, equine.

210

Indução da ovulação em éguas da raça Quarto de Milha utilizando agentes indutores como deslorelina e a gonadotrofina coriônica humana (hCG) (*Induction of the ovulation in mares of the race Quarter Horse with inducing agents as the deslorelin and the human chorionic gonadotrophin {hCG}*)

T. Figueiredo¹, R. Paiva², R.R. Weiss³, F.P. Montanha¹, L.E. Kozicki⁴

¹Mestranda do Programa de Pós Graduação em Ciência Animal, PUCPR. José dos Pinhais, PR, Brasil; ²Médico Veterinário autônomo, Haras LM, Bahia; ³Universidade Federal do Paraná; ⁴Pontifícia Universidade Católica do Paraná. E-mail: figueiredotati@hotmail.com

Introdução

O conhecimento e a manipulação da duração do ciclo estral equino e suas fases têm-se tornado muito importante com a crescente utilização de técnicas de inseminação artificial (IA) e transferência de embriões na espécie (Romano et al., 1998). Sendo a escolha de um hormônio indutor da ovulação, uma variável muito importante dentro do processo reprodutivo, a presente pesquisa objetivou correlacionar o tempo de ovulação entre a aplicação da deslorelina e o hCG.

Material e Métodos

O estudo foi conduzido em éguas da raça Quarto de Milha, com idade variando entre 3 e 17 anos, com ECC 4 (escala de 1-5), em Tanquinho de Feira (Ba- Brasil), entre outubro de 2008 a fevereiro de 2009. Em todas as fêmeas foram realizados exames de controle folicular transretal, com ajuda de um aparelho de ultrassonografia a intervalos de 6 em 6 horas. Foram utilizadas 40 éguas, divididas em dois grupos (G): o G1(20 animais) que recebeu 1700 UI de hCG (IV) e o G2 (20 animais) 1,0 ml de deslorelina (IM) conforme preconizado pelo laboratório.

Resultados e Discussão

Dentre as 40 éguas que foram submetidas ao controle folicular pela ultrassonografia, observou-se que os animais do G1 ovularam em média 45,6 horas e o G2 36,6 horas após o tratamento. Ao se comparar esses dois valores verificou-se diferença ($p < 0,05$) em prol dos animais tratados com a deslorelina. Mina et al., (2008) relatam que o tratamento em éguas com a dose de 1500 a 5000 UI de hCG induziram à ovulação dos animais em até 48 horas após o tratamento, corroborando os dados da presente pesquisa. Por sua vez, Hemberg et al., (2006) ao administrarem a deslorelina em éguas, verificaram a ocorrência da ovulação entre 38 e 42 horas. No presente experimento, no G2 as ovulações ocorreram entre 24 e 48 horas após o tratamento, discrepando levemente, dos relatos dos autores supracitados. Na comparação entre os dois tratamentos desta pesquisa, concluiu-se que a administração de deslorelina possui melhor performance que o hCG, em função do menor tempo de espera entre a IA e a ovulação, com a diferença de 9,0 horas.

Referências bibliográficas

Hemberg E, Lundeheim N, Einarsson S. Successful timing of ovulation using deslorelin (Ovuplant) is labour-saving in mares aimed for single AI with frozen semen. *Reproduction in domestic animals*. v. 41, p. 535 – 537, 2006.

AMina CG, Morel D, Newcombe JR. The efficacy of different hCG dose rates and the effect of hCG treatment on ovarian activity: Ovulation, multiple ovulation, pregnancy, multiple pregnancy, synchrony of multiple ovulation; in the mare. *Animal Reproduction Science*. v.109, p. 189–199, 2008.

Romano MA, Mucciolo RG, Silva AEDF. Biologia reprodutiva de éguas: estudo do ciclo estral e momento de ovulação. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*. v. 35, p. 25-28, 1998.

Palavras-chave: ovulação; deslorelina; hCG; éguas.

Keywords: ovulation; deslorelin; hCG; mares.

211

Transferência de embrião (TE) em éguas receptoras das raças Crioula e Quarto-de-milha, com corpo lúteo sincronizado e com benzoato de estradiol e progesterona exógena(P₄) (*Embryo transfer in recipient mares of the Crioula breeds and Quarter-mile, with synchronized corpus luteum and with estradiol and exogenous progesterone*)

F. Kaercher¹, M. Siqueira², A. Mercadante², L.E. Kozicki³, R.R. Weiss⁴, D. Lunelli¹

¹Mestrandos - Pós Graduação em Ciência Animal da PUC; ² Médicos Veterinários autônomos; ³ Pós Graduação em Ciência Animal da PUC; ⁴Pós Graduação em Ciências Veterinárias da UFPR

E-mail: fernandakaercher@bol.com.br

Introdução

A TE na espécie equina desenvolve-se a passos largos. Profissionais da área buscam incessantemente melhores performances nos índices de fertilidade. A sincronização do estro (SC) nesse contexto, com vistas à implantação embrionária em éguas receptoras, reveste-se de fundamental importância. Caiado et al.(2007) ao administrarem P₄ injetável em éguas receptoras, verificaram bons índices de prenhez. O objetivo do presente experimento foi o de preparar éguas receptoras de embrião, mediante administração de benzoato de estradiol (BE) e P₄ injetável.

Material e Métodos

O experimento foi desenvolvido em uma Central de Reprodução de equinos no município de Tijuca do Sul - PR, durante a estação de monta dos anos de 2008/2009. As éguas doadoras de embriões eram da raça Quarto-de-milha e Crioulas com idade entre 2 e 20 anos e condição corporal compatível com a atividade reprodutiva. Nessa mesma estação reprodutiva, 15 éguas anéstricas das raças Crioula e Quarto-de-milha, (Grupo 1), com ausência de estro e sem folículos, prestando-se à recepção de embrião, foram tratadas com 5, 3 e 2 mg de BE (IM) respectivamente (nos dias 0, 1 e 2) iniciando-se no correspondente ao dia 0, da doadora (D0=dia da ovulação). No 4º. dia as éguas receptoras receberam 200 mg de P₄ injetável oleosa(IM) semanalmente até o 100º dia de gestação. No D8 o embrião era colhido da doadora e imediatamente inovulado na receptora. No D11 era executado o diagnóstico de prenhez (via ultrassonografia) nas receptoras. O grupo 2 (G2=controle) constituiu-se de 20 éguas (receptoras) cíclicas (animais ovulando 2 a 3 dias após à ovulação da doadora), às quais eram monitoradas diariamente para verificação da ovulação, não recebendo tratamento hormonal algum. No G2 os embriões eram inovulados como no G, sendo que, as características ultrassonográficas de ecogenicidade de útero e de tônus uterino ao toque de ambos os grupos de animais receptores, eram similares.

Resultados e Discussão

Resultados: das 15 éguas do G1, 53,3% levaram a gestação a termo, e das 20 do G2, 85,0% com diferença (p<0,05) em prol do G2. Sob outras condições experimentais Caiado et al. 9 2007) verificaram a porcentagem de prenhez nas receptoras cíclicas de embriões equinos de 72,7% cifra esta superior à obtida no presente experimento. Concluiu-se nessa pesquisa que éguas, sem ciclicidade, tratadas com o BE e P₄ constituem uma satisfatória alternativa para serem utilizadas em programas de TE nessa espécie.

Referências bibliográficas

Caiado, J.R.C.; Fonseca, F.A; Silva, J.F.S; Fontes, R.S. Hormonal treatment of recipient mares of the Mangalarga Marchador breed for embryo transfer on the second day post ovulation. Revista Brasileira de zootecnia.v.36,n.2,2007. Acessado no site <http://www.scielo.br/scielo>. em 17 de março de 2009.

Palavras-chave: transferência de embriões; equino; progesterona injetável; benzoato de estradiol.

Keywords: embryo transfer, equine; progesterone exogenous, estradiol.

212

Transferência de embriões em éguas no Nordeste brasileiro (*Equine embryo transfer in Brazilian northeast*)

L.O. Barros¹, C.E. Peña-Alfaro², N.L. Souza²

¹Médico Veterinário, mestrando. UFRPE; ²Professor da Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Patos-PB

E-mail: lawrencebarros@bol.com.br; cpena@bol.com.br

Introdução

A Transferência de embriões constitui uma das principais biotecnologias aplicadas à reprodução dos equinos. Na região Nordeste cada vez mais vem sendo requeridos serviços do uso desta tecnologia, associado à programas de Inseminação artificial ou monta natural. Objetiva-se apresentar os dados de um programa comercial com uso desta técnica em condições de campo, em estados da região Nordeste.

Materiais & Métodos

Foram submetidas a colheita de embriões, dentro de um programa comercial, 43 águas das raças Quarto de Milha e 10 éguas Mangalarga Marchador, criadas em diversos haras dos Estados da Paraíba, Rio Grande do Norte e Pernambuco, durante os anos hípicos de 2006-2007, 2007-2008 e 2008-2009. Todas as éguas foram submetidas ao mesmo manejo reprodutivo com controle folicular, sincronização do estro, indução da ovulação exame ultrassonográfico para controle de ovulação. A inseminação artificial com sêmen fresco ou refrigerado continha 250 x 10⁶ /Sptz ml, diluído com diluente à base de leite desnatado (Botu Turbo) e sêmen congelado, adquirido comercialmente. A coleta, avaliação e manipulação dos embriões era realizada no oitavo dia 8 após a ovulação, conforme descrito por Vanderwall (2002). O envase do embrião feito em palheta estéril de 0,5 ml IMV®, e os embriões transferidos com Inovulador IMV®, conforme Squiere et al, (2003). O diagnóstico de gestação foi realizado após 10 e 60 dias da inovulação.

Resultados e Discussão

O número de colheitas, taxa de recuperação embrionária e taxa de gestação aos 60 dias referentes aos anos 2006/2007, 2007/2008, 2008/2009 foram 56,72,46; 85,71%, 88,88%, 78,26%; e 62,65%, 65,62 e 58,33%, respectivamente. Ao considerar a taxa de recuperação embrionária e taxa de gestação quanto ao tipo de sêmen utilizado verificaram-se os valores: 91,83%, 88,79%, 82,35% e 60%, 70,45% e 57,14 respectivamente. Não foi constatada diferença significativa entre as taxas de recuperação e de gestação entre os anos estudados assim como entre o tipo de preparação do sêmen. Concluiu-se que a técnica de transferência de embriões em equinos na região nordeste, vem alcançando resultados muito satisfatórios quanto à taxa de recuperação embrionária e taxa de gestação

Referências Bibliográficas

Squires, E.L., Carnevale, E.M., Mccue, P.M. et al. Embryo technologies in the horse. *Theriogenology*, V.59, p.151-170, 2003.

Vanderwall, D. Current equine embryo transfer techniques. In: Ball B.A Recent Advances in Equine Reproduction, International Veterinary Information Service, Ithaca NY (www.ivia.org), 2000;

Palavras chaves: embriões, éguas, biotecnologia.

Keywords: embryos, mare, biotecnologie.

213

Utilização da ultrassonografia na detecção precoce da gestação em éguas (*Use of Ultrasound ecography for detection of early pregnancy in mares*)

G. Pugliesi¹, D.M. Rates¹, P.G. Ker¹, R.R. Oliveira¹, M.P. Matta², G.R. Carvalho¹

¹Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa; ²Departamento de Veterinária, Universidade Federal de Viçosa. E-mail: pugliesi_vet@hotmail.com

Introdução

O diagnóstico de gestação na égua é um importante aspecto no manejo reprodutivo do haras, pois permite definir o destino mais adequado destes animais na propriedade. A acurácia do diagnóstico precoce da gestação pode ter várias implicações na prática equina, incluindo a avaliação da habilidade fecundante do sêmen e detecção de morte embrionária. O embrião equino desce para o interior uterino por volta do sexto dia após a ovulação, sendo o conceito não grande o suficiente para ser detectado pela ultrassonografia antes do dia 9 ou 10. Objetivou neste estudo avaliar a acurácia de detecção da gestação entre o 10° e 13° dia após a ovulação.

Material e Métodos

Foram acompanhados 43 ciclos estrais de 32 éguas mestiças da raça Bretão-Polstier por meio de palpação transretal. Após a detecção de folículos ovarianos de 30-35 mm, as éguas foram inseminadas a cada 48-72 h até a observação da ovulação, com sêmen resfriado a 5 °C coletado de um garanhão da raça Mangalarga-Marchador. O diagnóstico de gestação foi realizado através da ultrassonografia, via transretal, diariamente entre o 10° e 13° dia após a ovulação, utilizando um aparelho de ultra-som modelo Aloka SSD-500 e um transdutor linear de 5 MHz.

Resultados e Discussão

Apenas 20 dos 43 ciclos resultaram em gestação. Os valores da porcentagem de detecção da gestação foram de 50 (10/20), 80 (16/20), 95 (19/20) e 100 (20/20) para o 10°, 11°, 12° e 13° dia, respectivamente. Observa-se uma alta eficácia na detecção já no 11° dia (80%), o que possibilita a utilização precoce da ultrassonografia. Todavia, esta só é 100% eficaz no 13° dia, condizendo com os resultados encontrados por Palmer & Driancourt, 1980 e Ginther (1984), que concluíram que o exame é confiável em todos os animais a partir do 12° dia após a fecundação. O diâmetro médio da vesícula embrionária no décimo dia foi de 4,8 mm, o que corrobora com o relatado por Ginther (1984; 1998). Desta maneira, o diagnóstico de gestação precoce (a partir do 10° dia) utilizando-se a ultrassonografia é uma prática alternativa e viável para facilitar o manejo em determinadas propriedades, detectando o mais precocemente possível as éguas gestantes para que estas sejam destinadas a locais distantes do centro de inseminação do haras ou até para outras propriedades.

Referências bibliográficas

Ginther, O. J. Ultrasonic evaluation of the reproductive tract of the mare: the single embryo. *J. Equine Vet. Sci.*, v.4, p.75-81, 1984.

Palmer, E.; Driancourt, M. A. Use of ultrasound echography in equine gynecology. *Theriogenology*, v.13, p. 203-216, 1980.

Palavras-chave: ultra-som, equino, embrião, diagnóstico precoce.

Keywords: ultrasound, equine, embryo, early diagnosis.

214

Fatores reprodutivos que interferem nos índices de recuperação embrionária em um programa comercial de transferência de embriões em éguas de hipismo (*Reproductive factors that intervene with the indices of embryo recovery in a embryo transfer commercial program in jumping mares*)

C.E. Camargo, R.R Weiss, L.E. Kozicki, N. Moreira, M.P. Duarte, M.C.G. Duarte, R.A. Lima, P.R. Muradás, M. Lenzi

Departamento de Reprodução Animal – Universidade Federal do Paraná. E-mail: kaducamargo_vet@hotmail.com

Introdução

A transferência de embriões (TE), de modo similar a outras biotecnologias da reprodução, apresenta significativas vantagens na sua aplicação, contando, porém com certas limitações. embriões a partir das éguas doadoras. O objetivo deste presente trabalho foi avaliar alguns potenciais fatores que possam ter influência nos índices de recuperação embrionária em um programa comercial de transferência de embriões em éguas de hipismo.

Material e Métodos

Os dados utilizados neste trabalho foram coletados de um programa comercial de transferência de embriões localizado no interior do estado de São Paulo que foram compilados e analisados para a elaboração do presente trabalho. A análise dos dados foi correspondente às quatro temporadas de monta: 2003/2004, 2004/2005, 2005/2006 e 2006/2007.

Os fatores relacionados à colheita de embriões avaliados foram: estação do ano, conservação do sêmen, dia da coleta do embrião e a presença de simples ou múltiplas ovulações. As informações coletadas das fichas individuais desses animais foram compiladas e o programa Excel utilizado para a elaboração das planilhas, as quais foram submetidas às análises estatísticas para a avaliação dos índices reprodutivos e influência dos diferentes procedimentos.

Resultados e Discussão

Durante as quatro estações reprodutivas selecionadas foram utilizados diversos ganhões de fertilidade comprovada. Dentre estes ganhões foram utilizados sêmen em três diferentes formas: fresco, resfriado e congelado. Verificou-se 662 colheitas de embrião, onde em 164 foi utilizado sêmen fresco, em 167 sêmen resfriado e em 331 sêmen congelado.

A comparação entre as colheitas de embrião com diferentes métodos de conservação de sêmen mostrou que houve diferença significativa entre os dois primeiros tipos, sêmen fresco e sêmen resfriado, comparado ao sêmen congelado ($p < 0,05$) a um nível de confiança de 95%.

Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os índices de recuperação embrionária quando comparamos os dois períodos do ano, ou seja, éguas que tiveram um ciclo estral normal fora da temporada de monta obtiveram um índice de recuperação embrionária muito próxima das colheitas dentro da estação reprodutiva. Quanto ao número de ciclos reprodutivos que apresentaram simples ou múltiplas ovulações, de um total de 613 ciclos, 209 tiveram múltiplas ovulações, ou seja, 34,09%.

Referências bibliográficas

Peres, K.R.; Trinque, C.L.N.; Lima, M.M. et al. Non-surgical equine embryo transfer: a retrospective study. *Theriogenology*, v.57, n.1, p.558, 2002.

Squires, E.L.; Carnevale, E.L.; Mccue, P.M. et al. Embryo technologies in the horse. *Theriogenology*, v.59, p.151-170, 2003.

Squires, E.L.; Mccue, P.M.; Vanderwall, D. The current status of equine embryo transfer. *Theriogenology*, Los Altos, v. 51, p. 91 – 104, 1999.

Palavras chave: égua, biotecnologia, transferência de embriões.

Keywords: mare, biotechnology, embryo transfer.

215

Endometrites fúngicas em éguas: diagnóstico e implicações clínico-patológicas (*Fungal endometritis in mares: diagnostic and clinic-pathologic involvement*)

J.A.S. Ribas¹, J.S.P. Stussi¹, E.C.Q. Carvalho²

¹Universidade Federal Fluminense – Niterói, RJ; ²Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos do Goytacazes, RJ. E-mail: ribasjas@vm.uff.br

Introdução

Na maioria das vezes, a endometrite infecciosa tem origem bacteriana, porém, fungos surgem atualmente como importantes agentes etiológicos destas infecções, devido principalmente à exposição das éguas a fatores facilitadores da colonização fúngica. No entanto, as endometrites fúngicas ainda não são tão facilmente diagnosticadas quanto às bacterianas (Mattos et al., 2003, Amaral et al., 2007). Esta pesquisa objetivou buscar uma metodologia adequada para o diagnóstico das endometrites fúngicas e relacioná-las aos achados clínico-patológicos das éguas.

Material e Métodos

Realizou-se a anamnese e o exame ginecológico em 85 éguas, com idades variando entre 3 a 25 anos (média de 14,5 anos), procedentes do Estado do Rio de Janeiro e que não pariam há um ano ou mais. Em seguida coletou-se material para a realização de exames complementares: cultura e identificação de fungos e bactérias, citologia endometrial e biópsia endometrial como proposto por Amaral et al. (2007), Murray, et al. (1999), Riddley et al (2007) e Kenney e Doig (1986) respectivamente. Para confirmar a endometrite fúngica, procedeu-se como Pugh et al. (1986) propuseram: crescimento de fungos em cultura acompanhados de sinais de inflamação uterina e/ou observação de componentes fúngicos à microscopia (biópsia ou citologia), acompanhados por características inflamatórias. Os resultados dos eventos estudados são apresentados de acordo com a distribuição de frequência (%).

Resultados e Discussão

Das 85 éguas, 24 (28%) apresentaram exames compatíveis com endometrite. Destas, em cinco (20%), confirmou-se endometrite fúngica, percentual superior ao encontrado por Amaral et al. (2007) (13,5%), provavelmente devido a grande quantidade de animais (20 éguas/80%), expostos a fatores facilitadores da infecção fúngica., como o uso intra-uterino de antibióticos. Os fungos isolados foram: *Candida guilliermondii*, *C. tropicalis*, *C. pseudotropicalis*, associada à bactéria *Bacillus sp.* em uma égua. (20%), *C. albicans* em duas éguas (40%), sendo uma delas associada a *E. coli*, *Trichosporon penicillatum* em um animal (20%) e *T. capitatum* em outro (20%), corroborando com Pugh et al. (1986) que destacam a participação destes gêneros nas endometrites fúngicas. As cinco éguas (100%) apresentaram inflamações endometriais de leves a moderadas, tanto nos exames de citologia, quanto no histopatológico, quadro compatível com o histórico e o exame reprodutivo destes animais. Destacou-se a presença constante de linfócitos e plasmócitos nos dois exames,

provavelmente devido a cronicidade das endometrites. Em quatro das cinco fêmeas (80%) constataram-se estruturas fúngicas nas lâminas da citologia endometrial, porém no exame histopatológico, não foi possível detectar estas estruturas, como descrito por Amaral et al., (2007). Após o estudo pode-se afirmar que a metodologia utilizada foi eficiente para diagnosticar a endometrite fúngica, com destaque para o exame de citologia endometrial, e que a endometrite teve caráter crônico em todos os animais.

Referências bibliográficas

- Amaral M.G et al.. Endometrite eqüina. Fungos e bactérias, *Arch Zootec*, v.56, v. 216, p. 875-884, 2007.
- Kenney, R. M., Doig, P. A. Equine endometrial biopsy. In: Morrow, D.A. *Current Therapy in Theriogenology* 2nd ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1986. p. 723-729.
- Murray, P. et al., Manual of clinical microbiology, 7th ed., Washington DC, 1999. 1700p.
- Pugh, D. G et al.. Endometrial candidiasis in five mares. *J Equine V. Sci*, v. 6, n. 1, p. 40 - 43, 1986.
- Riddley, W.T, Leblanc, M.M.; Stromberg, A.J. Relationships between uterine culture, cytology and pregnancy rates in a Thoroughbred practice. *Theriogenology*, v.68, p.395-402, 2007.
- Mattos, R.C., Malschitzky, E. Endometrite na égua. *Rev. Bras. Repr. Anim*, v.31, p. 150-57, 2003.

Palavras chave: Eqüinos, endometrite, fungo.

Keywords: Equine, endometritis, fungi.

216

Endometrite persistente pós-cobertura: efeito do tratamento com corticosteróides sobre o número de bandas protéicas da secreção uterina de éguas suscetíveis (*Post-breeding persistent endometritis: effect of treatment with corticoid on the protein profile of the uterine secretion of susceptible mares*)

C.A. Wolf, E. Malschitzky, G.M. Davolli, M.I.M. Jobim, R.C. Mattos

Laboratório de Tecnologia de Sêmen e Proteínas da Reprodução Animal, Reprolab; Faculdade de Veterinária, UFRGS. E-mail: evetwolf@yahoo.com.br

Introdução

A endometrite é uma importante causa de falha reprodutiva na égua (Hughes & Loy, 1975), sendo o terceiro problema clínico mais freqüente, em eqüinos. A endometrite persistente pós-cobertura (EPPC) é, de todas, a mais encontrada na clínica reprodutiva. Foi demonstrado que o tratamento com corticosteróides no período próximo a cobertura melhora a taxa de prenhez de éguas suscetíveis a EPPC (Dell'Aqua Jr., 2006). O objetivo deste estudo foi comparar o perfil protéico da secreção endometrial de éguas suscetíveis a EPPC, submetidas a tratamento com antiinflamatório esteróide, com o daquelas não tratadas.

Material e Métodos

Foi coletada a secreção endometrial de 16 éguas em fase cíclica, com o uso de tampão vaginal. As éguas foram divididas em 2 grupos: G1 – Controle (8 éguas não tratadas) e G2 – Tratado (8 éguas tratadas com 20 mg de acetato de isoflupredona, a cada 12 horas, por três dias consecutivos). As amostras foram processadas e submetidas à eletroforese bidimensional, pelo método de O'Farrel (1977), modificado por Rodnigh et al. (1988).

Resultados e Discussão

No total de éguas do grupo controle foram encontradas 33 bandas protéicas, nas amostras da secreção endometrial, com peso molecular variando de 15 a 105 kDa e ponto isoelétrico entre 4,3 a 10,0. No grupo tratado, foram encontradas 54 bandas protéicas com peso molecular variando de 15 a 105 kDa e ponto isoelétrico entre 4,3 a 10,0. Conclui-se que o tratamento com corticosteróides alterou o número de bandas protéicas da secreção endometrial de éguas em estro.

Referências bibliográficas

- Dell'Aqua Jr., J.A.; Papa, F.O.; Lopes, M.D.; Alvarenga, M.A.; Macedo, L.P.; Melo, C.M. Modulation of acute uterine inflammatory response after artificial insemination with equine frozen semen. *Animal Reproduction Science*. v.94 p.270–273, 2006.
- Hughes, J.P.; Loy, R.G. The relation of infection to infertility in the mare and stallion. *Equine Veterinary Journal*. v. 7, p.155-159, 1975.
- O'Farrel, P. Z.; Goodman, H. M.; O'Farrel, P. H. High resolution of two-dimensional electrophoresis of basic as well as acidic proteins. *Cell*. v.12, p.1133-1142, 1977.
- Rodnigh, R.; Zamani, R.; Tweedale, A. An investigation of experimental conditions for studying phosphorylation in micro-slices of rat brain by two-dimensional electrophoresis. *Journal of Neuroscience Methods*, v.24, p.27-38, 1988.

Palavras-chave: endometrite; corticóide; eqüino; líquido endometrial; proteínas; eletroforese.

Keywords: endometritis; corticoid; equine; endometrial fluid; proteins; electroforesis.

217

Inflamação uterina: Ultra-som ou exame citológico? (*Endometrial inflammation: Ultrasound or Cytology?*)

G.C. Camozzato, E. Malschitzky, H.K. Löf, G. Davoli, C.A. Wolf, R.C. Mattos

Reprolab/ UFRGS. E-mail: emalschitzky@ibest.com.br

Introdução

Durante muitos anos a técnica utilizada para o diagnóstico da endometrite na égua foi o exame clínico associado ao exame citológico. Entretanto, com o advento da ultra-sonografia a utilização da citologia como técnica diagnóstica tem sido abandonada em função da facilidade do exame ultra-sonográfico. Geralmente, éguas que não apresentam evidência de acúmulo de fluido intra-uterino são consideradas livres de inflamação. No entanto, em éguas de rebanho comercial, consideradas genitalmente sadias, com base no histórico, exame clínico, observações de vaginoscopia e na ausência de bactérias patogênicas previamente ao envio para a cobertura, Mattos et al. (1984) encontraram 22,7% de endometrite aguda, diagnosticados pelo exame histopatológico e citológico. O objetivo deste trabalho foi comparar a eficácia da técnica ultra-sonográfica no diagnóstico da inflamação uterina em relação ao exame clínico e citológico.

Material e Métodos

Foram utilizadas 20 éguas cíclicas. Estas foram submetidas ao controle reprodutivo, duas vezes por semana, através de palpação e ultra-sonografia. As éguas que apresentavam folículo pré-ovulatório (≥ 30 mm) e edema bem pronunciado foram separadas em dois grupos: com líquido intra-uterino e sem líquido intra-uterino. Posteriormente foram submetidas à coleta de exame citológico por três diferentes técnicas. Os esfregaços obtidos foram corados com Panóptico e foram visualizados em microscopia óptica (400X) para verificação da presença de células inflamatórias.

Resultados e Discussão

Das 20 éguas coletadas, 6 apresentavam líquido ao exame ultra-sonográfico e 14 não apresentavam alterações clínicas à ecografia. Das éguas sem líquido, cinco 5 (35,7%) apresentaram células inflamatórias em todas as técnicas citológicas utilizadas. Estes resultados permitem inferir que uma proporção considerável de éguas diagnosticadas como sadias ao exame ultra-sonográfico podem apresentar endometrite aguda, o que pode prejudicar seu desempenho reprodutivo. A utilização do exame citológico deve ser considerada mesmo em éguas que não apresentem líquido intra-uterino.

Referências bibliográficas

Mattos, R.C., Mattos, A.L.G.; Gunzel, A.R.; Klug, E. Bakteriologische und zytologische Untersuchungen von Uterusabstrichen beim Pferd. Der Praktische Tierarzt. v.65, p.809-814, 1984.

Palavras-chave: Citologia endometrial, ultra-sonografia, endometrite, égua.

Keywords: Endometrial cytology, ultrasonography, endometritis, mare.

218

Aborto equino por intoxicação por zearalenona – Relato de caso (*Equine abortion by zearalenone toxicosis – A report case*)

J.C.F. Jacob, J.P. Oliveira, V.L.T. Jesus, G.M. Direito

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. E-mail: juliolep@ufrj.br

Introdução

O abortamento tem causas infecciosas, não infecciosas e as não identificadas, entre estas os alimentos contaminados por zearalenona (ZEN) que determinam um quadro de hiperestrogenismo nas espécies domésticas, caracterizado por repetição de cio, diminuição da taxa de concepção e até mesmo aborto (WEAVER *et al.*, 1986). GIMENO *et al.* (1983), relataram um caso de micotoxicose por ZEN em eqüinos que foi associado à contaminação de aproximadamente 2,6 mg ZEN/Kg no milho. O objetivo deste trabalho foi investigar a associação da detecção de ZEN na cevada com abortamentos ocorridos em um haras.

Material e Métodos

De agosto a setembro de 2008, ocorreram cinco casos de aborto equino no terço final da gestação em um haras da região serrana do Rio de Janeiro, onde as fêmeas eram alimentadas a pasto e suplementadas com cevada. Realizou-se a necropsia em um dos fetos abortados e exames sorológicos para Arterite Viral Equina (AVE), Leptospirose e Herpesvírus Equino tipo 1 (HVE-1) e exame de PCR do feto abortado para Leptospirose e HVE-1. Realizou-se também a dosagem de Estrógeno (E_2) total de três éguas e T4 total de cinco éguas afetadas. Coletou-se amostras de cevada para análise no Laboratório de Micotoxicologia/UFRRJ.

Resultados e discussão

A necropsia do feto não constatou nenhuma alteração macroscópica, no exame PCR resultado negativo para Leptospirose e HVE-1. No exame sorológico houve a prevalência do sorovar Icterohaemorrhagiae (1/200), sendo o título capaz de causar aborto 1/6400. Na dosagem hormonal, observou-se os valores de T4 total normais e E_2 (pg/ml): 442,59; 498,46; 427,09 estando acima dos valores normais para animais não gestantes (50pg/mL), que evidenciou um quadro de hiperestrogenismo. No exame micotoxicológico, detectou-se 406,5 μ g ZEN/kg na cevada. Na literatura não foram encontrados relatos sobre a dose tóxica para eqüinos, sendo que em bovinos a partir de 50-100 μ g ZEN/Kg de alimento provoca alterações reprodutivas. Estes resultados sugerem que alta concentração de zearalenona na cevada causou hiperestrogenismo desencadeando o aborto.

Referências bibliográficas

Gimeno A, Quintavilla J.A.: Analytical and mycotoxicological study of a natural outbreak of zearalenone mycotoxicosis in horse. Proceeding of International Symposium on Mycotoxins, National Research Centre: Cairo (Egypt) p.387-392, 1983.

Weaver, G.A.; Kurtz, H.J.; Behrens, J.C.; Robinson, T.S.; Seguin, B.E.; Bates, F.Y.; Mirocha, C.J. Effect of zearalenone

on the fertility of virgin dairy heifers. American Journal of Veterinary Research, v. 47, n. 6, p.1395-1397, 1986.

Palavras-chave: Éguas, micotoxinas, reprodução.

Keywords: Mare, micotoxins, reproduction.

FELINOS

219

Chemical sterilization of male cats: preliminary results (*Esterilização química de gatos machos: resultados preliminares*)

E.C.S. Oliveira¹, M.R. Moura², P.M. Muller¹, L.T. Brito¹, L. Guabiraba¹, F.L.M. Silva¹, A.P. Marques Jr²

¹Departamento de Medicina Veterinária, UFRPE; ²Escola de Veterinária, DCCV, UFMG. E-mail: ecso21@uol.com.br

Introduction

Chemical sterilization can be an alternative to control pet overpopulation and/or to owners who search for non-surgical methods to interrupt male reproduction. To date, the use of contraceptives has been limited in felids by safety concerns and the lack of effective choices. A zinc-based solution that is pH neutralized in BioRelease Technologies physiological vehicle (B.E.T.Labs, Lexington, Kentucky, USA) was developed as a chemical sterilizing for intratesticular injection in dogs [1]. The aim of this study was to report preliminary results of a single intratesticular injection of Testoblock in cats based on clinical signs.

Material and Methods

Four reproductively cats, ranging from 8 months to 1,5 year old were randomly assigned to an intratesticular injection of a zinc-based solution, at six different doses (0.2 to 1.0mL) (ZN; n=3) or a placebo group injected with saline solution (PL; n=1). The dosage was based on testicular width (10 to 27mm), determined by a caliper. General attitude, ability to walk, scrotal alteration (pain, swelling, dermatitis) and rectal temperature were evaluated daily for 7d after injection and once monthly thereafter throughout the study.

Results and Discussion

To our knowledge, this is the first report of a clinical trial testing the safety of a chemical sterilizing for male cats. Following treatment, body temperature remained normal. No biting or licking of the scrotum or testes was observed after injection of either saline or Testoblock. Transient testicular swelling was observed in some of treated animals during the first 3d after injection, as a result of inflammatory response, characterized by an increased vascular permeability and vasodilatation [1]. Testes were handled to detect any scrotal pain or tenderness, but none was apparent in any group. There was no vocalization upon injection which suggests that it is not a painful procedure. The use of zinc-based solution, which is neutral in pH and is part of the composition of the male reproductive fluid and tissue [2], is thought to contribute to the absence of local reaction reported in this investigation. The preliminary results presented in this report suggest that the zinc-based solution Testoblock does not cause adverse effects when injected in testis of cats based on clinical signs. Clinical trial using a large number of cats has to be conducted to determine the long-term effectiveness and safety of Testoblock as a permanent contraceptive for this species.

References

[1]Oliveira ECS, Moura MR, Silva Jr VA, Peixoto CA, Saraiva KLA, Sá MJC, Douglas RH, Marques Jr AP. Intratesticular injection of a zinc-based solution as a contraceptive for dogs. Theriogenology, n.6, p.137-45, 2007

[2]Fahim MS, Wang M, Sutcu, MF, Fahim Z, Yougquist RS. Sterilization of dogs with intra-epididymal injection of zinc arginine. Contraception, n.47, p.107-22, 1993

Keywords: chemical sterilization, zinc, testis, cat

Palavras-chave: Esterilização química, zinco, testículo, gato

This study has been supported by CNPq/Facepe, Brazil.

220

Qualidade *in vitro* de espermatozoides de epidídimo de gatos, refrigerados em containers de transporte de sêmen e posteriormente congelados (*Quality in vitro of cats epididymis spermatozoa, chilled in containers of semen transport and then frozen*)

B.I. Macente¹, M.I.M. Martins¹, M.M. Gioso²

Departamento de Clínicas Veterinárias, Universidade Estadual de Londrina¹; Unifenas, Alfenas². E-mail: imartins@uel.br

Introdução

Os gatos são importantes modelos para as técnicas de recuperação de espermatozoides de epidídimos, tanto para preservação de germoplasma de espécies selvagens, como para a reprodução assistida. Entretanto, para que se obtenha êxito na congelamento de sêmen, é necessário que seja apropriadamente diluído e que mantenha sua viabilidade após a criopreservação. O objetivo desse estudo foi avaliar a qualidade *in vitro* de espermatozoides de epidídimo submetidos ao processo de refrigeração em caixa de transporte e depois a congelamento.

Material e Métodos

Utilizou-se epidídimos de oito gatos, adultos, submetidos à orquiectomia. Após a dissecação dos testículos, a cauda do epidídimo e parte do ducto deferente foi comprimida, com auxílio de uma pinça anatômica, em uma placa de Petri contendo diluente Botu-crio® sem crioprotetor; foram determinados motilidade, vigor, concentrações espermáticas, integridade de membrana, e morfologia espermática. As amostras centrifugadas a 800g/10 minutos, o pellet diluído no meio Botu-crio® sem crioprotetor (concentração 100×10^6 espermatozoides/mL), as quais foram mantidas em container de transporte de sêmen (Botu-tainer®) por 24 horas. Após esse período numa alíquota foi avaliada motilidade, vigor e integridade de membrana espermática; evitando choque térmico, o restante das amostras foi re-diluído com Botu-crio® com 3,5% de glicerol (concentração 40×10^6 espermatozoides/palheta de 0,5mL); as quais foram refrigeradas a 5°C/60 minutos, congeladas em vapor de nitrogênio/20 minutos e armazenadas em botijões criogênicos. Após a descongelação (70°C/8segundos) foram reavaliadas. Os resultados submetidos ao programa SAEG (Ribeiro Júnior, 2001), avaliados para análise de variância (ANOVA), submetidos ao teste de Duncan e a análise não paramétrica de Kruskall-Wallis com 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão

Os resultados nos três momentos pesquisados: a fresco(1) *versus* refrigerado(2) *versus* congelado(3) foram para: motilidade(%) $72,5 \pm 13,6(1)$ *versus* $67,5 \pm 13,9(2)$ *versus* $23,7 \pm 13,8(3)$; vigor $4 \pm 0,6(1)$ *versus* $3,7 \pm 0,5(2)$ *versus* $2,4 \pm 1(3)$ e para integridade de membrana espermática (%) $85 \pm 13,7(1)$ *versus* $89,6 \pm 5,9(2)$ *versus* $47,1 \pm 15,8(3)$. Detectou-se diminuição na qualidade dos parâmetros avaliados, entretanto, essa queda foi significativa ($p < 0,05$) somente entre os momentos pós-refrigeração e pós-congelamento, resultados esses já esperados devido ao estresse térmico a que os espermatozoides são submetidos na congelamento. Apesar da baixa taxa de motilidade (23,7%) após a descongelamento, foi obtida boa percentagem de integridade de membrana (47% íntegros), indicando que mesmo após os processos de refrigeração e congelamento, os espermatozoides recuperados da cauda do epidídimo mantiveram qualidade *in vitro* para realizarem a fertilização.

Referências bibliográficas

Ribeiro Júnior, J.I. Análises estatísticas no SAEG. Viçosa: UFV, 2001. 301p.

Palavras-chave: espermatozoides, epidídimo, felinos, refrigeração, congelamento.

Keywords: spermatozoa, epididymis, feline, chilled, frozen.

221

Efeito da exposição de fêmea em estro na produção espermática de gatos domésticos (*Felis catus*) (*Effect of estrous female exposure on sperm production of domestic cat (Felis catus)*)

A.I.S.B. Villaverde¹, E.G. Fioratti¹, L.A. Trinca², M.D. Lopes¹

¹Depto de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária - FMVZ, UNESP, Botucatu, Brasil; ² Depto de Bioestatística - IB, UNESP, Botucatu, Brasil. E-mail: avillaverde@hotmail.com

Introdução

Nos últimos anos, estudos na área de biotécnicas da reprodução em gatos domésticos vêm se intensificando, principalmente, devido ao fato do gato ser utilizado como modelo experimental para os felinos selvagens e, assim, contribuir para os programas de conservação destas espécies. Portanto, alterações no manejo dos machos com a finalidade de aumentar a produção espermática iriam beneficiar não apenas gatis comerciais ou de pesquisa, mas também os programas de reprodução assistida de felinos selvagens em cativeiro. Por esta razão, o presente estudo teve por objetivo avaliar a produção espermática durante o contato visual, olfatório e auditivo com a fêmea em estro nos gatos domésticos.

Material e Métodos

O sêmen de seis gatos (4 a 8 anos) sem raça definida foram coletados em dias alternados utilizando vagina artificial. Em cada dia de coleta, dois ejaculados foram recuperados do mesmo animal com intervalo de 5 a 10 minutos. Posteriormente, os dois ejaculados do mesmo gato foram unidos e o total de espermatozoides determinado na amostra de cada animal. Foram realizadas quatro coletas antes da introdução da fêmea em estro nos dias 1, 3, 5 e 7. A fêmea em estro foi introduzida a partir do dia 8 e, na sequência, foram realizadas mais seis coletas nos dias 9, 11, 13, 15, 17 e 19. Todos os machos tiveram contato olfatório, auditivo e visual por aproximadamente 12 horas por dia com a fêmea em estro do dia 8 ao 19. Contato físico com a fêmea em estro só ocorreu com dois gatos no momento da coleta, uma vez que esta fêmea já era utilizada como manequim anteriormente. A quantidade de espermatozoides totais obtida para todos os gatos foi comparada antes e depois da exposição da fêmea usando o Teste F, $p < 0,05$.

Resultados e Discussão

Não foi observada diferença significativa ($p < 0,05$) entre a quantidade de espermatozoides antes ($31,5 \pm 23,6 \times 10^6$) e depois ($29,7 \pm 16,2 \times 10^6$) da introdução da fêmea em estro durante o período de contato. Esse resultado reflete apenas uma resposta imediata na produção espermática durante o período de exposição da fêmea em estro. Aumentos nos níveis de testosterona podem ocorrer pelo estímulo da presença da fêmea, o que terá efeito positivo na espermatogênese desses animais, levando a uma maior produção espermática. Contudo, esse efeito decorrente da elevação dos níveis de testosterona será observado apenas tardiamente ao contato com a fêmea, no mínimo após o tempo necessário para o ciclo completo da espermatogênese. Desta forma, podemos concluir que a exposição de uma fêmea em estro não leva a uma resposta positiva imediata na produção espermática de gatos domésticos.

Palavras-chave: Gato doméstico, produção espermática, manejo reprodutivo.

Keywords: Domestic cat, sperm production, reproductive handling.

Agradecimentos: FAPESP e Royal Canin.

222

Indução de pseudoprenhez por swab vaginal e pela monta natural, em gatas domésticas e seus efeitos sobre o endométrio (*Pseudopregnancy induction through vaginal swab and natural mount, in the domestic cat and its endometrial effects*)

T.B. Teixeira¹, S.C. Becker-Silva², D.F. Oliveira¹, A.L. Pedral¹

¹Discente do Curso de Medicina Veterinária - UESC, Ilhéus-BA, Brasil; ²Professora Doutora - Curso de Medicina Veterinária-DCAA/UESC, Rod. Ilhéus-Itabuna Km 16-Ilhéus-BA, Brasil-45.662-000, E-mail: scbecker1000@yahoo.com.br.

Introdução

A indução da ovulação sem fertilização na espécie felina ocasiona a pseudoprenhez. Esta indução pode ser conseguida através do coito ou com estímulo vaginal utilizando um swab, este é um método contraceptivo simples, que pode ser realizado pelos proprietários, depois de recebido treinamento.

Material e Métodos

Doze gatas domésticas foram submetidas, em três estros, consecutivamente, aos tratamentos: T1 - estimulação vaginal com swab no 3º e 4º dia do estro; T2 - 2 cópulas com macho vasectomizado no 3º e 4º dia e T3 - controle (não receberam estímulos), com a finalidade de comparar a eficiência em induzir a ovulação utilizando o swab vaginal em relação a monta natural. Foram medidos a duração do estro e o tempo decorrido até o próximo estro (interestro ou pseudoprenhez). As ovulações foram confirmadas pelos níveis séricos de progesterona. Concluídos os 3 tratamentos, as gatas foram submetidas apenas ao tratamento T1 com swab por até seis estros consecutivos. Foi avaliada a ocorrência clínica de piometra, vaginite e hiperplasia cística mamária e, ao final do experimento, as gatas foram submetidas à cirurgia de ovário-salpingo-histerectomia e cortes histológicos de tecido uterino foram avaliados quanto à ocorrência de alterações indicativas de hiperplasia cística do endométrio.

Resultados e Conclusão

A estimulação vaginal com swab, feita apenas duas vezes ao dia no 3º e 4º dia do estro, resultou em resposta ovulatória satisfatória (75%) e similar à obtida pela monta natural (100%), obtendo-se pseudoprenhez de cerca de 40 dias. Apenas 8,3% das gatas mostraram ovulação espontânea. A indução de ovulação não encurtou o estro ($P>0,05$), sendo em média de 7,6; 9,9 e 8,8 dias em T1, T2 e T3, respectivamente. Estes achados são similares aos de Villaverde (2005). A duração da pseudoprenhez não diferiu entre T1 e T2 (39,6 e 38,9 dias, respectivamente). Não houve influência do uso do swab sobre a ocorrência de alterações clínicas nem foram observadas alterações endometriais significativas, podendo-se recomendar a estimulação com o swab vaginal como método contraceptivo natural e seguro para felinos domésticos.

Referências bibliográficas

Villaverde, A.I.S.B. Protocolos de Indução de estro e ovulação em gatos domésticos. 2005. 35f. Tese (Mestrado em Medicina Veterinária) Escola de Veterinária (Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Unesp), Botucatu, 2005.

Palavras-chave: contracepção, felino, pseudogestação.

Keywords: contraception, feline, pseudopregnancy.

223

Quimioterapia adjuvante em recidiva de carcinoma mamário em gata (*Adjuvant chemotherapy in feline mammary carcinoma recurrence*)

M.C. Sant'Anna¹, M.I.M. Martins¹, R.C. Justino¹, A.P. Bracarense²

Universidade Estadual de Londrina, ¹Departamento de Clínicas Veterinárias, ²de Medicina Veterinária Preventiva E-mail: imartins@uel.br

Introdução

Em média 85% a 93% dos tumores mamários em gatas são histologicamente malignos, e a grande maioria é classificada como adenocarcinoma, sendo que 80% das gatas no momento do óbito apresentam metástases em vários órgãos ou em linfonodos (Rutteman, 2001). Os fatores mais importantes em relação ao tempo de recorrência e a sobrevida dos pacientes são o tamanho do tumor, extensão da cirurgia e grau histológico, entretanto, devido a grande frequência de metástases no momento do tratamento cirúrgico, pouco progresso na sobrevida tem sido relatada nos últimos 20 anos (Johnston et al, 2001).

Relato de caso

O trabalho elucida um caso de recorrência de neoplasia mamaria felina. Após 3 meses de ter sido submetida à nodulectomia, uma gata, siamês, de 13 anos, foi atendida com nódulo mamário, sem sinais de metástases pulmonares ou em outros órgãos, o tratamento instituído foi a mastectomia bilateral total e ao exame histopatológico foi diagnosticado carcinoma mamário simples de grau II. Cerca de 5 meses após ela apresentou aumento de volume dérmico de 4 cm de

diâmetro, na cicatriz cirúrgica, ao exame citológico diagnosticou-se carcinoma mamário. O tratamento instituído foi o protocolo quimioterápico com doxorubicina (25 mg/m²) e ciclofosfamida (50 mg/m²) a cada 21 dias. Após a realização de 3 ciclos quimioterápicos, com uma citorredução de 50% da massa tumoral, foi realizada a excisão cirúrgica. A paciente apresenta sobrevida de 400 dias do diagnóstico inicial, sendo 120 dias após a quimioterapia e cirurgia, apresentando qualidade de vida e sem sinais de metástases clínicas ou radiográficas.

Discussão e conclusão

O tratamento instituído foi o preconizado pela literatura, pois segundo Johnston et al (2001), a mastectomia radical é o tratamento de escolha para neoplasias mamárias devido a redução significativa de recorrência local. Entretanto, o referido caso apresenta resultados de sobrevida maiores (400 versus 255 dias) que os descritos por Rutteman (2001) numa retrospectiva de sobrevida de gatas com neoplasia mamária após a quimioterapia. Portanto, a quimioterapia em neoplasia mamária de gatas pode ser usada previamente a procedimentos cirúrgicos no caso de recorrência tumoral local, o que diminuiria o tempo cirúrgico e a chance de melhores condições de sobrevida para o paciente. Sugere-se que a realização de estudos utilizando a quimioterapia em etapas diferentes do tratamento de neoplasias mamárias felinas, com o intuito de aumentar a sobrevida de gatas com neoplasias mamárias.

Referências bibliográficas

Johnston, S.D.; Kustritz, M.V.R.; Olson, P.N.S. Canine and Feline Theriogenology, 3^a ed., p. 474-485, 2001.
Rutteman, G.R.; Withrow, S.J.; Macewen, E.G. Tumor of the Mammary Gland: In: WITHROW, S. J.; Macewen, E.G. Small Animal Clinical Oncology, 2^a ed, p. 455-477, 2001.

Palavras-chaves: neoplasia mamária, quimioterapia, gatas.

Keywords: mammary tumor, chemotherapy, cats.

224

Malformações congênitas em fetos felinos: Relato de caso (*Congenital malformations in feline fetus: Case report*)

D.F.H. Miranda¹, J.W.C. Azevedo Júnior², P.B. Ibiapina², N. M. Rodrigues², D.O. Bezerra², H.M. Almeida³, E.A.M. Fortes³, M.S.Ferraz³, R.M. Cabral⁴, M.A.M. Carvalho⁵, A.M. Conde Júnior³

¹Médica Veterinária Autônoma; ²Graduandos em Medicina Veterinária, UFPI, Teresina;

³Pós-graduando em Ciência Animal, UFPI, Teresina; ⁴Pós-doutoranda PRODOC-CAPES, UFPI, Teresina; ⁵Depto. de Morfofisiologia Veterinária, UFPI, Teresina.

E-mail: airtoncondejr@uol.com.br

Introdução

Malformações congênitas são anormalidades morfofisiológicas presentes ao nascimento causados por fatores genéticos, ambientais ou pela combinação de ambos (Johnson et al., 1985). Estas alterações podem ocorrer em qualquer estágio de desenvolvimento (Cardoso, 2000). Entre os defeitos mais comuns nos animais domésticos, destaca-se o lábio leporino, uni ou bilateral, resultante da falta de fusão entre os processos nasal medial e maxilar. A gastrosquise é uma anomalia congênita caracterizada pela extrusão do intestino fetal, secundária a um defeito na parede abdominal anterior. Sua embriogênese tem sido relacionada à atrofia prematura ou persistência anormal da segunda veia umbilical, seguida de dano mesenquimal e falência da epiderme em se diferenciar neste sítio (Torfs et al., 1990). Objetivou-se descrever as malformações congênitas observadas em fetos felinos.

Relato de caso

Foi atendida na clínica veterinária Animal's, em Teresina – PI, uma fêmea felina, da raça Siamês, com 9 anos de idade em pródromo de parto. O animal foi submetido a exame ultrassonográfico que indicou presença de pouco líquido e três fetos com idade aproximada de 62 dias. A paciente foi submetida à cirurgia cesariana seguida de ovariossalpingohisterectomia, sendo obtidos três fetos com vida. Um deles apresentava malformação craniofacial, com presença de fenda nasolabial unilateral e, na região frontal, um aumento de volume com circunferência de 5,15 cm. Os outros dois fetos apresentavam gastrosquise. Por se tratarem de alterações graves e com conseqüências que poderiam comprometer a qualidade de vida dos animais, a proprietária optou pela eutanásia dos recém-nascidos. Segundo Moore et al. (1999) a idade materna é um fator relacionado ao surgimento de gastrosquise, o que pode sugerir o aparecimento de tal anomalia congênita em dois dos fetos, pois a gestante apresentava nove anos de idade. No caso da fenda nasolabial, há evidências de que seja um defeito congênito de caráter hereditário (Cardoso, 2000). Entretanto, ainda são escassas as pesquisas sobre o desenvolvimento embrionário voltadas para prevenção e tratamento dessas anomalias. Estas pesquisas são necessárias a fim de garantir um bom prognóstico aos pacientes portadores.

Referências bibliográficas

Cardoso FM. Tópicos de Embriologia Veterinária. Minas Gerais: Belo Horizonte, 2000.

Johnson JL, Leipold TT, Hudson DB. Prominent congenital defects in Nebraska beef cattle. Breeding and reproduction, v.4, n.7, p. 1-8, 1985.

Moore TC, Collins DL, Catanzarite V, Hatch EI. Preterm and particularly pre-labor cesarean section to avoid complications of gastroschisis. Pediatr Surg Int, v.15, p.97-104, 1999.

Torfs C, Curry C, Roepel P. Gastroschisis. J. Pediatr. v.116, p.1-6, 1990.

Palavras-chave: Malformações congênitas. Gastrosquise. Felino.

Keywords: Congenital malformations. Gastroschisis. Feline.

Schistosomus reflexus em gato (*Schistosomus reflexus in cat*)C.A.M. Bomfim¹, R. Carvalhal¹, S. Bernardo², A.A.S. Souza², L.D.R.P. Ciarlini¹, P.M. Matayoshi², E.D. Oliveira²¹Curso de Medicina Veterinária, UNESP, Araçatuba-SP; ²Residência Méd-Veterinária, UNESP, Araçatuba-SP. Email: cabomfim@fmva.unesp.br; simonevetuem@yahoo.com.br**Introdução**

O *Schistosomus reflexus* é uma síndrome congênita rara e fatal classificada dentre as monstrosidades fetais. As vísceras abdominais, e às vezes as torácicas, são expostas – *schistosomus* – e há forte inversão da coluna espinhal em dorsoflexão – *reflexus*. Também pode ser observada a presença de membros anquilosados e deformados, e de vértebras e costelas formando placa discóide de tecido ósseo. O mecanismo embriológico pelo qual um *S. reflexus* se desenvolve ainda é desconhecido. Este tipo de monstro fetal é muito raro nos animais carnívoros domésticos sendo mais encontrado em bovinos (2). Existe na literatura apenas um relato em gato (1). O caso trata-se dessa anomalia em gato doméstico natimorto.

Material e Métodos

Pesquisaram-se aspectos anatômicos das estruturas corpóreas e viscerais do natimorto após fixação e acondicionamento em solução de formol a 10%. Utilizaram-se a dissecação sob esteriomicroscopia, radiografias da mãe e do feto e documentação fotográfica digital.

Resultados e Discussão

Uma gata de 1,5 anos foi atendida pela Área de Reprodução Animal. Ao exame ginecológico, esta apresentava sangramento vulvo-vaginal e partes fetais internas insinuadas na vagina anterior. A cesariana resultou no nascimento de dois fetos a termo sendo um viável e outro natimorto com anormalidades características de monstrosidade: (a) coluna vertebral com acentuada curvatura em dorso-flexão (toracolombar em T13-L1) e desvio lateral esquerdo a partir da região lombar; (b) a cabeça tinha contorno irregular da calota craniana e aproximação desta com a região pélvica; (c) o membro pélvico direito anquilosado nas extremidades com desvio funcional caudal; (d) abertura da linha médio-ventral na região umbilical com algumas vísceras abdominais expostas; (e) partes placentárias fixadas na região do osso frontal e um dos bordos irregular. A gata adulta apresentava fusão de vértebras lombares entre L2-L3 e L4-L5 e presença de escoliose com desvio à esquerda do eixo da coluna vertebral. A relação desta alteração com a monstrosidade *S. reflexus* não se conhece, entretanto há relatos sugerindo a etiologia genética para essa malformação (1,2). Os aspectos acima a, b, c e d são características suficiente para determinar que se trata de *S. reflexus* (2). Assim, este caso, torna-se o segundo a ser relatado na espécie felina doméstica.

Referências bibliográficas

(1)Kawata, K; Tiba, T. A Rare Case of Schistosomus reflexus in the cat, Japanese Journal of Veterinary Research, v.9, n.4, p.179-81, 1961.

(2)Lauhghthon, K. W. et al. Schistosomus Reflexus Syndrome: A Heritable Defect in Ruminants, Anatomy Histology Embriology, v.34, p.312-8, 2005.

Palavras-chave: Schistosomus reflexus, reprodução animal, obstetrícia, gato.

Keywords: Schistosomus reflexus, animal reproduction, obstetrics, cat.

OVINOS**Alterações de cromatina em espermatozoides de ovinos e caprinos avaliadas por microscopia de luz** (*Chromatin alterations in spermatozoa from ram and goat evaluated by light microscopy*)M.E. Beletti¹, D.A. Pinto², I.N. Duarte², G.S.L. Sampaio², M.N. Gama², C.F. Kamimura², J.O. Jacomini²¹Instituto de Ciências Biomédicas, ²Faculdade de Medicina Veterinária - Universidade Federal de Uberlândia-UFU/Brasil. E-mail: mebeletti@ufu.com.br**Introdução**

Reprodutores com espermograma normal podem se comportar como subfêrteis ou passarem por períodos de subfertilidade. As alterações na cromatina dos espermatozoides são possíveis explicações encontradas para tais comportamentos. O presente trabalho teve como objetivo testar a eficiência de azul de toluidina (AT) e do alaranjado de acridina (AA) na identificação de alterações na compactação de cromatina em espermatozoides de ovinos e caprinos, além de avaliar a correlação entre essas alterações e as de morfologia espermática.

Material e Métodos

Foram avaliadas amostras de sêmen de 15 ovinos e de 15 caprinos, com dez repetições para cada método por animal. Calcularam-se a média, o desvio padrão (DP) e o coeficiente de variação (CV) para cada técnica e animal. Utilizou-se o teste t-Student para avaliar diferença entre as médias obtidas nos dois métodos. Também foram calculados a correlação de

Pearson e os coeficientes kappa ponderado e não ponderado para avaliar a concordância entre os métodos com AT e AA.

Resultados e Discussão

Foi verificado que nem sempre as anomalias morfológicas de cabeça são acompanhadas por alterações na cromatina identificáveis pelos métodos utilizados neste trabalho. O método AT é mais estável e possui maior sensibilidade do que AA. Contudo, devido apresentar repetibilidade muito baixa, ambos os métodos não são indicados para avaliação espermática em ovinos

Referências bibliográficas

Beletti, M. E. ; Mello, M. L. S. Comparison between the toluidine blue stain and the feulgen reaction for evaluation of rabbit sperm chromatin condensation and their relationship with sperm morphology. *Theriogenology*, v. 62, n. 2-3, p. 398-402, 2004

Palavras-chave: Espermatozóide, cromatina, caprino, ovino.

Keywords: Spermatozoon, chromatin, caprine, ovine.

Agradecimento: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais – FAPEMIG.

227

Seminal plasma protein profile from Morada Nova hairy rams

C.E. Souza¹, A.A. Moura¹, Í. Cordeiro¹, M. Silva¹, J.P. Rego¹, J.T. Oliveira²

¹Department of Animal Science; ²Department of Biochemistry and Molecular Biology, Federal University of Ceará, Brazil. E-mail: ceazevedo@gmail.com

Introduction

The seminal plasma originates mainly from the epididymis and accessory sex glands. Epididymal proteins provide conditions for sperm maturation and storage while accessory sex gland components mediate events such as sperm capacitation and motility, acrosome reaction, protection against oxidative stress and immune responses, sperm contact with oviductal epithelium and fertilization. In this regard, we emphasize that identification of proteins from the male fluids is essential to understand sperm function. In most of Brazil, sheep has no wool, being therefore unique genotypes because of their exceptional adaptability to the tropics. Given the importance of these animals, we have taken the effort to study aspects of their physiology, including testis development and gamete function. As part of that broad objective, the present work had the focal point on the proteomics of seminal plasma.

Materials and Methods

Semen was collected from 5 yearling Morada Nova rams. One aliquot was taken for semen analysis, and the rest was centrifuged to obtain the seminal plasma. Samples containing 350 µg of protein were electrophocused (13 cm IPG strips; pH 4 to 7), followed by SDS-PAGE (15 %) and analysis of Coomassie-stained gels using PDQuest software (Bio Rad, USA).

Results and Discussion

An average of 270 ± 36 spots was detected in the seminal plasma 2-D gels. Ten spots (4202, 4203, 2202, 7303, 2402, 3401, 1301, 3222, 4202 and 1504) represented 41.5% of all spot intensities detected in the protein maps. This number is similar to what we reported in the seminal plasma of Santa Inês rams (322 spots). However, there are differences in spot profiles. While an acidic cluster of 8 spots at 25 kDa represents 10.3% of all spot intensities in the Santa Inês, this same cluster is comprised of 11 spots and constitutes 7.7% in Morada Nova rams. On the other hand, the main spots identified in the Santa Inês seminal plasma (spermadhesins: 15.1% and RSVP-14: 6.3%) are also the most representative ones in Morada Nova maps. Spermadhesins (spots 4202 and 4203, 15 kDa and pI 5.3) account with 20.1% of all spot intensities, while the equivalent to RSVP-14 (spot 2202, 14 kDa, pI 4.9) represents 6.85%. Spermadhesins are present in the seminal plasma of several species and modulate many sperm functions. We have previously shown that seminal spermadhesin is related to bull fertility. RSVP-14 belongs to the BSP family of proteins, which in turn is involved in sperm capacitation and the formation of the oviduct reservoir. We recently showed that, in bulls, BSPs bind to sperm membrane at ejaculation and remain bound even after contact with oviduct secretions. One important feature of 2-D maps from seminal plasma from Morada Nova and Santa Inês is the presence of several high molecular weight trains, also suggesting the existence of isoforms. To our knowledge, this is the first study describing protein 2-D maps of the seminal plasma from Morada Nova rams. This information will serve as the basis for a broader study of the potential of seminal proteins as fertility markers in these tropically-adapted animals.

Palavras-chave: Carneiros, Morada Nova, eletroforese, proteômica, plasma seminal.

Keywords: Rams, Morada Nova, electrophoresis, seminal plasma, proteomics.

228

Parâmetros seminais de carneiros Dorper, Santa Inês e SRD nas estações seca e chuvosa (Seminal parameters of Dorper, Santa Inês and SRD lambs in dry and rainy seasons)

J.M. Frazão Sobrinho¹, J.A.T. Souza², A.P.R. Costa², I.M.R.Nascimento¹, A. Sousa Júnior³, F.J. Moraes Júnior¹, M.A. Castelo Branco², H.S. Correia³

¹Doutorando em Ciência Animal/UFPI; ²Departamento Clínica Veterinária – UFPI; ³Med. Vet. Autônomo; E-mail:

Introdução

O carneiro é um animal que manifesta sazonalidade reprodutiva a qual pode ser avaliada pela variabilidade anual de algumas características seminais quantitativas e qualitativas (Ibrahim, 1997). No Nordeste do Brasil no entanto, onde as variações fotoperiódicas são mínimas, os ovinos manifestam atividade reprodutiva ao longo do ano. O trabalho objetivou avaliar possíveis variações nos parâmetros seminais das raças Santa Inês, Dorper e Sem Raça Definida, nas estações seca e chuvosa.

Material e Métodos

Foram utilizados 11 carneiros adultos, com idade entre dois e três anos, sendo quatro da raça Santa Inês (SI), três da raça Dorper (DP) e quatro Sem Raça Definida (SRD). Foram colhidos 99 ejaculados, sendo 44 no período seco e 55 no período chuvoso, através de vagina artificial, sempre no período da manhã. Foram avaliadas as seguintes características seminais: volume (ml), turbilhonamento (0-5), motilidade progressiva retilínea (%), vigor (0-5), concentração (sptz x 10⁶), defeitos maiores (%) e defeitos totais (%), de acordo com as normas do Colégio Brasileiro de Reprodução Animal – CBRA (1998).

Resultados e Discussão

Não houve diferença significativa ($p>0,05$) para as características estudadas, entre as raças (SI, DP e SRD) e nos períodos seco e chuvoso: volume (1,0±0,44; 0,7±0,28; 0,9±0,24 x 0,9±0,39; 0,6±0,23; 0,8±0,36); turbilhonamento (3,4±0,54; 3,3±1,04; 3,2±0,96 x 3,1±0,50; 3,3±0,61; 2,9±0,99); motilidade (73,6±29,47; 81,0±5,98; 86,3±7,27 x 85,7±3,68; 81,3±8,12; 74,7±19,89); vigor (3,4±0,54; 3,8±0,78; 3,4±0,88 x 3,1±0,67; 3,2±0,67; 2,9±0,79); concentração (1,6±0,9; 1,9±0,8; 2,6±0,2 x 2,6±0,8; 1,4±1,1; 2,8±1,2); defeitos maiores (7,0±2,16; 6,9±1,81; 7,35±2,3 x 5,7±1,5; 7,1±2,9; 6,4±1,8) e defeitos totais (15,6±3,6; 16,3±5,12; 16,3±5,01 x 13,2±2,9; 16,4±5,98; 15,5±3,18). Resultados semelhantes foram observados por Martins et. al. (2003) na raça Santa Inês, enquanto Feliciano e Nunes (1984) encontraram valores mais favoráveis no período chuvoso, na mesma raça. Nas raças Dorper e SRD, nas condições de Nordeste, não foram encontrados estudos comparativos entre períodos seco e chuvoso. Conclui-se que as estações seca e chuvosa não interferiram nos parâmetros seminais das raças em estudo.

Referências bibliográficas

Feliciano, S, A.E.D.; Nunes, J.F. Estacionalidade na atividade sexual e qualidade do sêmen nos ovinos deslançados das raças Santa Inês e Somalis. Revista Brasileira de Reprodução Animal, v.8, n.4, p.207-214, 1984.

Ibrahim, S. Seasonal variations in semen quality of local and crossbred rams raised in United Arab Emirates. Animal Reproduction Science, v. 49, p. 161-167, 1997.

Martins, Rodrigo Duarte et al. Avaliação da sazonalidade reprodutiva de carneiros Santa Inês criados no Distrito Federal. Revista Brasileira Zootecnia, v. 32, n. 6, 2003.

Palavras-chave: Sêmen, Carneiros.

Keywords: Semen, Sheep.

229

Uso da análise computadorizada do sêmen, teste hiposmótico e fragmentação do DNA no sêmen ovino criopreservado em diluidores Tris ou água de coco em pó (ACP-102c) (*Use of computer-assisted semen analysis, hypoosmotic swelling test and DNA fragmentation on cryopreserved ram semen extended in Tris or powder coconut water (PCW-102c)*)

J.M.M. Cavalcante, E.V. Castro, E.S.B. Menezes, O.O. Brasil, D.F.R. Souza, E.T. Assis Neto, J.B. Silva Júnior, C.S.B. Salmito-Vanderley, C.C.M. Salgueiro, J.F. Nunes

Núcleo Integrado de Biotecnologia, FAVET/UECE, Fortaleza, CE, Brasil. E-mail: jmmcavalcante@bol.com.br

Introdução

A criopreservação induz danos ao espermatozóide, com redução de sua motilidade e integridade de membrana, podendo ser avaliados em sistema CASA e em teste hiposmótico. Além disso, também acarreta danos no DNA espermático, sendo útil a adoção de testes que avaliam sua integridade, permitindo melhor identificação de espermatozoides intensivamente danificados.

Material e Métodos

Sêmen de quatro carneiros Santa Inês (10 coletas/animal) foi diluído em meios Tris ou ACP-102c (15% de gema de ovo, 5% de glicerol), e criopreservados em palhetas de 0,25ml (100x10⁶ sptz) em vapores de nitrogênio líquido. Palhetas (uma por animal) de mesmo diluidor e por coleta foram descongeladas e reunidas em um pool para avaliação da motilidade espermática em sistema CASA (Sperm Class Analyser[®], Microptic S.L.), teste hiposmótico (Bucak *et al.*, 2007) e de fragmentação do DNA (Sperm-Halomax[®] kit, ChromaCell S.L.). O teste de fragmentação de DNA foi realizado em lâmina segundo recomendação do fabricante, com contagem de 500 células em microscópio óptico (400x) para o percentual de espermatozoides com grandes halos de dispersão de DNA fragmentado. Os resultados (média ± desvio padrão) foram submetidos à ANOVA seguido de teste de Tukey a 5% de significância.

Resultados e Discussão

Os diluidores Tris e ACP-102c, respectivamente, diferiram quanto ao percentual de espermatozoides móveis

(57,6±17,9%; 19,9±11,5%), progressivos (31,3±11,5%; 10,5± 6,1%) e velocidade curvilínea (116,7± 14,4µm/s; 102,5±13,9µm/s), mas não quanto à linearidade (70,1±5,7%; 68,6±5,9%) e retilinearidade (79,9±4,8%; 79,7±3,3%). Também diferiram quanto ao percentual de células com endosse positiva (40,4±6,9%; 25,6±11,3%). Não houve diferenças entre diluidores para percentual de células com DNA fragmentado (1,4±0,6%; 1,8±1,1%), apresentando baixo percentual de células com DNA danificado, mas com elevado coeficiente de variação, resultado similar aos obtidos por Gonsálvez *et al.* (2008) (6,4±7,9%).

Referências bibliográficas

Bucak MN, Atessahin A, Yüce A. Effect of anti-oxidants and oxidative stress parameters on ram semen after freeze-thawing process. *Small Rumin. Res.*, n.67, p.1060-1067, 2007.

Gosalvez J, Vazquez JM, Enciso M, Fernandez JL, Gosalbez A, Bridle JR, Lopez-Fernandez C. Sperm DNA Fragmentation in rams vaccinated with Miloxan. *The Open Veterinary Science Journal*, n. 2, p. 7-10, 2008.

Palavras-chave: Fragmentação do DNA, ACP-102c, sêmen ovino

Keywords: DNA fragmentation, PCW-102c, ram semen

Apoio: FUNCAP, CNPq, FINEP.

230

Influência da adição de insulina ao diluidor tris-gema-frutose sobre a motilidade progressiva de espermatozóide ovino resfriado a 4°C (*Influence of insulin addition in tris-yolk-fructose extender on progressive motility of ram spermatozoa cooled at 4°C*)

B.M.B. Santos, M.M.C. Mello-Pinto, J.C. Ribeiro, C.C.M. Salgueiro, J.F. Nunes

Universidade Estadual do Ceará (UECE) – Núcleo Integrado de Biotecnologia (NIB). E-mail: babicsl@hotmail.com

Introdução

O prolongamento da viabilidade do sêmen ovino resfriado depende de protocolos experimentais, no qual se utilizam diferentes diluidores alternativos. Assim como em outras células, a glicose exerce efeito direto sobre a fisiologia espermática, podendo o seu metabolismo está relacionado com a presença de insulina. Objetivou-se com esse estudo avaliar o efeito da adição de insulina ao meio diluidor tris-gema-frutose sobre a motilidade de espermatozóide ovino em diferentes tempos de resfriamento.

Material e Métodos

Foram utilizados carneiros da raça Santa Inês (n=3) e sem padrão racial definido (n=1). Obtendo-se um total de 24 ejaculados. O *pool* de cada coleta foi imediatamente diluído em meio tris-gema-frutose, a uma concentração final de 150x10⁶ spz/mL. Em seguida, o conteúdo foi homogeneizado e fracionado em sete tratamentos de um mililitro (1 mL), onde cada fração foi adicionada de insulina humana sintética (Novolin[®], N100UI/mL, Novo Nordisk, Dinamarca) nas seguintes concentrações: zero (I – 0) – denominado grupo controle, 1 (I – 1), 3 (I – 3) e 6 (I – 6), 10 (I – 10), 20 (I – 20) e 60 (I – 60) UI/mL ao diluidor. Em seguida, as amostras foram submetidas à refrigeração em geladeira previamente estabilizada a 4°C. A motilidade progressiva espermática foi avaliada utilizando o sistema CASA (SCA, Microptics S.L.) nos tempos 0, 6, 12 e 24h de refrigeração a 4°C.

Resultados e Discussão

A análise dos parâmetros de motilidade nos diferentes tratamentos demonstra um efeito deletério significativo quando da adição de 60UI/mL ao diluidor. Após 12 horas de resfriamento, os tratamentos I-6, I-10 e I-20 apresentaram as maiores porcentagens de motilidade progressiva (MP) 35,7±2,30, 35,0±1,03, 37,1±1,84, respectivamente, sendo superior ao grupo controle. No tratamento I-6, não foram observadas diferenças nos valores de MP ao longo do tempo de conservação. Baseado nos resultados pode-se concluir que a adição de insulina ao sêmen ovino diluído em tris-gema-frutose foi capaz de melhorar a qualidade seminal nas concentrações de 6, 10 e 20 UI de insulina/mL ao diluidor, mantendo a motilidade progressiva superior ao tratamento controle após 12 horas de conservação a 4°C.

Referências bibliográficas

Aquila S, Gentile M, Middea E, Catalano S, Ando S. Autocrine regulation of insulin secretion in human ejaculated spermatozoa. *Endocrinology*, v.146, n.2, p. 552-557, 2005.

Henricks DM, Kouba AJ, Lackey BR, Boone WR, Gray SL. Identification of insulin-like growth factor-I in bovine seminal plasma and its receptor on spermatozoa: influence on sperm motility. *Biol Reprod*, v.59, p. 330-337, 1998.

Palavras-chave: ovino, sêmen, insulina, motilidade progressiva

Keywords: ram, semen, insulin, progressive motility

231

Influência da adição de insulina ao diluidor água de coco em pó (ACP-102) sobre os níveis de glicose e lactato no sêmen ovino resfriado a 4°C (*Influence of insulin addition in powder coconut water extender (PCW-102) on the levels of glucose and lactate in ram semen cooled at 4°C*)

J.C. Ribeiro, M.M.C. Mello-Pinto, B.M.B. Santos, C.C.M. Salgueiro, J.F. Nunes

Universidade Estadual do Ceará (UECE) – Núcleo Integrado de Biotecnologia (NIB). E-mail:

jdecarvalhoribeiro@gmail.com

Introdução

Com o objetivo de simplificar a utilização da água de coco como diluente seminal Salgueiro et al. (2002) padronizaram a água de coco na forma de pó, recebendo a denominação de ACP. Tem sido demonstrado que a insulina desempenha um papel central na regulação da função gonadal. No entanto, o papel da insulina na fertilidade dos machos não está totalmente esclarecido. Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da adição de diferentes concentrações de insulina ao meio diluidor água de coco em pó (ACP-102) sobre os níveis de glicose e lactato no sêmen ovino resfriado a 4°C.

Material e Métodos

Foram utilizados carneiros da raça Santa Inês (n=3) e sem padrão racial definido (n=1). Obtendo-se um total de 24 ejaculados. O *pool* de cada coleta foi imediatamente diluído em meio tris-gema-frutose, a uma concentração final de 150×10^6 spz/mL. Em seguida, o conteúdo foi homogeneizado e fracionado em sete tratamentos de um mililitro (1 mL), onde cada fração foi adicionada de insulina humana sintética (Novolin[®], N100UI/mL, Novo Nordisk, Dinamarca) nas seguintes concentrações: zero (I-0) – denominado grupo controle, 1 (I-1), 3 (I-3) e 6 (I-6), 10 (I-10), 20 (I-20) e 60 (I-60) UI/mL ao diluidor. Em seguida, as amostras foram submetidas à refrigeração em geladeira previamente estabilizada a 4°C. Aliquotas de 150 µL de sêmen dos diferentes tratamentos foram centrifugadas a 800 x g, durante 15 minutos. Após a centrifugação, o sobrenadante foi removido, acondicionado em microtubo e congelado a -20°C. Foi empregado teste enzimático colorimétrico, utilizando técnica de glicose-oxidase, com comprimento de onda de 505nm, para as dosagens dos níveis de glicose (mg/dL), e o teste lactato desidrogenase, com leitura da absorbância em 340nm, para as dosagem dos níveis de lactato (mg/dL).

Resultados e Discussão

A concentração de glicose no tempo zero reduziu significativamente ($P < 0,05$) nos tratamento I-20 e I-60 em relação ao controle (I-0). Após 12 e 24h de conservação, apenas o tratamento I-60 obteve concentrações significativamente inferiores ao tratamento controle. Diferenças entre as concentrações de lactato nos diferentes tratamentos somente foram observadas com 24h de armazenamento, onde os tratamentos I-6 e I-10 diferiram significativamente em relação ao tratamento I-60. Não foi observado efeito do tempo de conservação do sêmen a 4°C sobre as concentrações dos mesmos em nenhum dos tratamentos testados.

Referências Bibliográficas

Ponglowhapan S, Essén-Gustavsson B, Forsberg CL. Influence of glucose and fructose in the extender during long-term storage of chilled canine semen. *Theriogenology*, v.62, p.1498-1517, 2004.

Salgueiro CCM, Nunes JF, Oliveira KLP, Vieira VL, Gondim JM, Mateos-Rex E. Utilização de diluentes à base de água de coco *in natura* e em pó na inseminação artificial programada de cabras. *Rev Bras Reprod Anim*, v.5, p.96-98, 2002.

Palavras-chave: ovino, sêmen, insulina, glicose, lactato.

Keywords: ram, semen, insulin, glucose, lactate.

232

Avaliação da integridade da membrana plasmática de espermatozóide ovino através de coloração vital e teste hiposmótico (*Evaluation of ram spermatozoa plasma membrane through vital staining and hypoosmotic swelling test*)

M. Skeff¹, C.C.S. Melo², E.V. Castro², O.O. Brasil², J.C. Ribeiro², M.N. Diógenes², C.C.M. Salgueiro², J.F. Nunes²

¹União Pioneira de Integração Social; ²Universidade Estadual do Ceará. E-mail: muradskeff@hotmail.com

Introdução

A manipulação do sêmen provoca agressões na membrana espermática, resultando na perda irreversível das suas funções (Fagundes, 2008). A coloração vital, eosina/nigrosina (Gutiérrez-Pérez et al., 2009) e o teste hiposmótico (Chun-Xia Zou e Zeng-Ming Yang, 2000) são métodos usuais para avaliação da integridade da membrana espermática. O objetivo deste estudo foi avaliar a integridade da membrana espermática utilizando a coloração vital e quatro diferentes soluções hiposmóticas à base de citrato de sódio/frutose e verificar qual destas soluções seria mais eficiente para realizar este tipo de avaliação.

Material e Métodos

Foram utilizados quatro carneiros (02 Santa Inês e 02 Doper), divididos em dois grupos, submetidos a seis coletas seminais, em dias alternados, através de vagina artificial, mantidos em banho maria a 37°C, diluído a uma concentração de $0,4 \times 10^9$ spz/mL. Foram retiradas alíquotas de 50 µL, acrescidas de 200 µL de solução eosina/nigrosina (300 mOsm/Kg), e alíquotas de 10 µL, acrescidas de 200 µL de cada solução hiposmótica (50, 100, 150 e 200 mOsm/Kg), incubadas por 30 minutos a 37°C. As leituras foram realizadas por microscopia ótica de contraste de fase, objetiva 40x. Os resultados obtidos foram comparados pelo teste do qui-quadrado a 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão

Tabela 1. Avaliação da integridade da membrana de espermatozóide ovino através do teste hiposmótico (soluções de citrato sódio/frutose) e coloração vital (eosina/nigrosina)

Soluções	nº spz avaliados	Membrana Intacta	Membrana Danificada
----------	------------------	------------------	---------------------

50 mOsm/Kg	11600	5004 ^c	6596 ^c
100 mOsm/Kg	11600	6204 ^a	5396 ^a
150 mOsm/Kg	11600	6168 ^a	5432 ^a
200 mOsm/Kg	11600	6084 ^b	5516 ^b
eosina/nigrosina	11600	6249 ^a	5351 ^a

^{a,b}: Diferentes letras entre as colunas significa diferença entre os tratamentos. (p<0,05).

Foi verificado que as soluções de citrato/frutose a 100 e 150 mOsm/Kg podem ser utilizadas para a avaliação da integridade de membrana de espermatozóide ovino com resultados similares aos da coloração vital.

Referências bibliográficas

Chun-Xia Z, Zeng-Ming Y. Evaluation on sperm quality of freshly ejaculated boar semen during in vitro storage under different. *Theriogenology*, v.53, p.1477-1488, 2000.

Fagundes C. Adição de aminoácidos e insulina ao meio crioprotetor seminal de garanhão da raça Mangalarga Machador. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, 2008 (Tese de Doutorado).

Gutiérrez-Pérez O, Juárez-Mosqueda ML, Carvajal SU, Ortega MET.. Boar spermatozoa cryopreservation in low glycerol/trehalose enriched freezing media improves cellular integrity. *Cryobiology*, 2009.

Palavras-chave: ovinos, espermatozóide, integridade de membrana.

Keywords: ram, spermatozoa, membrane integrity.

233

Avaliação *in vitro* dos efeitos sobre o sêmen ovino diluído em água de coco em pó (ACP-102[®]) re-hidratada após 5 dias de resfriamento e estocagem a 4°C (*In vitro evaluation of effects on ram semen extended on powder coconut water (PCW-102[®]) re-hydrated after 5 days of cooling and storage at 4°C*)

J.B. Silva Junior¹, C.C.S. Melo¹, E.V. Castro¹, M. Skeff², B.M.B. Santos¹, E.T. Assis Neto¹, C.C.M. Salgueiro¹, J.F. Nunes¹

¹Universidade Estadual do Ceará; ²União Pioneira de Integração Social

E-mail: jotabj@hotmail.com

Introdução

A eficiência da água de coco em pó (ACP[®]) como diluidor para o sêmen de várias espécies animais já é bem conhecida, incluindo, capotes (Rondon et al., 2008), caprinos e ovinos (Machado et al., 2006). No entanto, o uso desta é resumido apenas ao momento em que se faz a sua re-hidratação, não existindo estudos que evidenciem sua eficiência para diluição do sêmen após o seu preparo e estocagem sob refrigeração a 4°C. O objetivo do estudo foi avaliar a eficácia do ACP-102[®] re-hidratado e mantido sob refrigeração a 4°C por 5 dias como diluente do sêmen de ovinos através ao teste de termo-resistência (TTR).

Material e Métodos

Foram colhidos sêmen de quatro machos ovinos (dois Dorper e dois Santa Inês) e formado um *pool* que foi dividido em alíquotas de 100 µL, adicionadas de ACP-102[®] re-hidratado e mantido sob refrigeração a 4°C por 5 dias (T1) ou do controle (T2: ACP-102[®] recém re-hidratado). O sêmen foi avaliado nos tempos 10, 60 e 120 minutos de incubação do TTR (37°C; 2 h), em sistema CASA (SCA, Microoptics S.L.). Os resultados obtidos foram avaliados pelo teste do qui-quadrado com probabilidade de 5%.

Resultados e Discussão

Tabela 1. Motilidade progressiva percentual média do sêmen fresco de ovinos submetido ao teste de termo-resistência (37°C; 2 h)

	Dia 1	Dia 2	Dia 3	Dia 4	Dia 5
T1	59,57	54,63	47,87	43,23	33,93
T2	62,93	46,33	51,40	55,27	46,70

T1: ACP-102[®] re-hidratada e mantida sob refrigeração a 4°C por 5 dias; T2: ACP-102[®] re-hidratada a cada nova análise; (p>0,05).

Tabela 2. Percentual médio de espermatozóides rápidos de sêmen fresco de ovinos submetido ao teste de termo-resistência (37°C; 2 h)

	Dia 1	Dia 2	Dia 3	Dia 4	Dia 5
T1	45,63	38,5	38,33	33,63	35,36
T2	38,63	37,83	34,33	36,43	41,93

T1: ACP-102[®] re-hidratada e mantida sob refrigeração a 4°C por 5 dias; T2: ACP-102[®] re-hidratada a cada nova análise; (p>0,05).

Não foi observada diferença significativa no uso do ACP-102[®] entre tratamentos em ambas análises, sendo considerado um resultado satisfatório devido a vantagem de se poder utilizar agora o referido diluidor por um período de 5 dias

estocado sob refrigeração a 4°C.

Referências bibliográficas

Rondon RMM, Rondon, FCM, Nunes, JF, Alencar, AA, Sousa, FM, Carvalho, MAM. Uso da água de coco em pó (ACP®) em diferentes temperaturas como diluente de espermatozoides de capote (*Numida meleagris*). Rev. Bras. Saúde Prod. Anim, v.9, n.4, p. 848-854, 2008.

Machado VP, Nunes JF, Araújo AA, Fernández DRP, Cordeiro MA, Medeiros CHN, Medeiros ALN, Monteiro AWU. Fertilidade após inseminações artificiais cervical e laparoscópica utilizando diluidores à base de água de coco. Braz Jour Anim Sci, v.43, p.43-49, 2006.

Palavras-chave: sêmen, ovino, diluidores, água de coco em pó, resfriamento.

Keywords: semen, ram, extenders, powder coconut water, cooling.

234

Avaliação de diferentes concentrações de gema de ovo na refrigeração de sêmen ovino (*Evaluation of different concentrations of egg yolk in ovine semen cooling*)

C.O. Abreu¹, D.G. Motta¹, M.A. Saito Júnior¹, V.H.A. Cadamuro¹, A.C. Martinez¹

¹Laboratório de Criação e Reprodução Animal, Universidade Estadual de Maringá, Campus Avançado de Umuarama. E-mail: coabreu2@uem.br

Introdução

Nos últimos anos tem aumentado o uso de inseminação artificial em ovelhas. O diluidor utilizado nos processos de criopreservação espermática, exerce papel fundamental na manutenção da capacidade de fertilização dos espermatozoides. A gema de ovo vem sendo muito utilizada como crioprotetor, tendo a capacidade de evitar a perda da membrana fosfolipídica, por possuir lipoproteínas de baixa densidade (AGUIAR, 2007). O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de diferentes concentrações de gema de ovo na refrigeração de sêmen ovino.

Material e Métodos

O experimento foi realizado no, Campus Regional de Umuarama da UEM. Cinco carneiros adultos foram mantidos em baias coletivas com dieta balanceada. Foram coletadas 15 amostras de sêmen por reprodutor em vagina artificial e diluídas em meio Tris-Gema com diferentes concentrações de gema: 5% de gema (T5), 10% de gema (T10) e 20% de gema (T20). Foram retiradas amostras de sêmen para exame de motilidade e vigor em microscópio óptico de luz (aumento de 100x) e lâmina aquecida a 37°C (CBRA, 1998). O sêmen foi refrigerado a 5 °C, tendo motilidade e vigor avaliado a cada 24 horas até completar 72 horas. Os dados foram avaliados por análise de variância, com auxílio do software SAS, versão 8.0.

Resultados e Discussão

No início do tratamento (0hora) os resultados de motilidade e vigor foram respectivamente: 50,5 ± 29,8 e 2,7 ± 1,3 (T5); 54,5 ± 22,1 e 2,9 ± 1,0 (T10); 57,5 ± 25,7 e 2,9 ± 1,0 (T20). Após 24 horas de refrigeração os resultados os resultados de motilidade e vigor foram: 42,0 ± 25,7 e 2,5 ± 1,2 (T5); 45,5 ± 22,1 e 2,5 ± 0,9 (T10); 42,5 ± 23,1 e 2,3 ± 1,0 (T20). Após 48 horas de refrigeração os resultados os resultados de motilidade e vigor foram: 44,4 ± 19,2 e 2,7 ± 0,8 (T5); 41,1 ± 26,1 e 2,5 ± 1,2 (T10); 33,3 ± 17,5 e 2,0 ± 0,9 (T20). Após 72 horas de refrigeração os resultados os resultados de motilidade e vigor foram: 37,4 ± 23,8 e 2,2 ± 0,9 (T5); 24,2 ± 20,1 e 1,5 ± 1,1 (T10); 31,6 ± 20,7 e 1,8 ± 0,8.

Nas condições desse experimento, a concentração de gema de ovo do diluidor não interferiu na viabilidade do sêmen refrigerado ($p > 0,05$).

Referências

Aguiar, P. R. L.; Moraes, J. B.; Silva, A. C. Criopreservação de sêmen bovino utilizando diluente à base de PBS com três diferentes percentuais de gema de ovo. Veterinária em Foco, v.5, n.1, jul./dez. 2007

Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal. Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 2ed, Belo Horizonte: CBRA, 1998, 49p.

Palavras-chave: criopreservador, motilidade, reprodução.

Keywords: cryopreservation, motility, reproduction.

235

O maior tempo de latência à coleta de sêmen de carneiros aumenta o volume ejaculado e a concentração espermática total (*Period of latent till semen collection takes influence increasing ejaculated volume and total concentration of spermatozoa in rams*)

A.L.R. Rodrigues*, L. Tutida, S.D. Bicudo¹**

¹ Departamento Reprodução Animal e Radiologia Veterinária, FMVZ, UNESP, Botucatu – SP. E-mail: *andreluisriosrodrigues@hotmail.com.br. **E-mail: sony@fmvz.unesp.br

Introdução

O objetivo deste trabalho foi associar o tempo espontâneo da latência à coleta de sêmen às características seminais de carneiros submetidos a coletas sucessivas diárias.

Material e Métodos

Avaliou-se a latência à coleta de sêmen de 15 carneiros Suffolk confinados num aprisco, submetidos a 6 coletas diárias de sêmen com vagina artificial, durante um período de 10 dias consecutivos. Foi cronometrado o tempo de latência para coleta de sêmen, caracterizado pelo momento em que o carneiro alcançou o manequim até a primeira tentativa espontânea efetiva de monta com ejaculação. Analisou-se o volume ejaculado, a motilidade e o vigor espermático, a concentração espermática e o total de espermatozoides ejaculados (CBRA, 1998).

Resultados e Discussão

Todos os carneiros apresentaram parâmetros andrológicos normais CBRA (1998). Não houve diferença estatística na análise da latência em relação à motilidade, ao vigor e à concentração espermática (Spearman Correlation; $p>0,05$). Avdi et al. (2004) observaram uma latência média à coleta de sêmen entre 0,76 e 1,30 minutos, mas não associaram os dados aos parâmetros espermáticos. Encontrou-se uma correlação significativa entre o volume de sêmen ejaculado (Figura 1) e a concentração total de espermatozoides ejaculados com o a latência à coleta de sêmen (Figura 2). Recomenda-se promover aumento da latência através de manejos adequados na coleta para excitação do macho para obter um maior rendimento potencial do ejaculado.

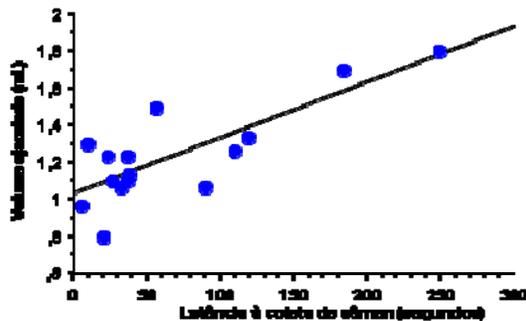


Figura 1: Correlação entre a latência à coleta de sêmen e a volume de sêmen ejaculado de 15 carneiros da raça Suffolk submetidos a 6 coletas diárias de sêmen durante 10 dias consecutivos. (Spearman Correlation; $p=0,01$; $r=0,64$)

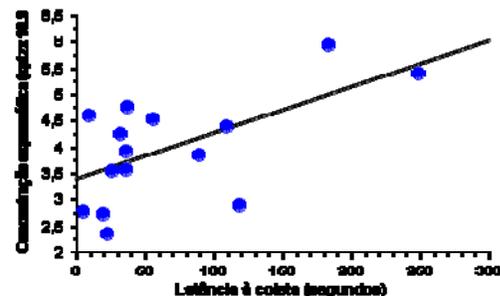


Figura 2: Correlação entre a latência à coleta de sêmen e a concentração total ejaculada de espermatozoides ($\times 10^9$) de 15 carneiros da raça Suffolk submetidos a 6 coletas diárias de sêmen durante 10 dias consecutivos. (Spearman Correlation; $p=0,03$; $r=0,36$)

Referências bibliográficas

- Avdi, M. *et al.* Seasonal variation in testicular volume and sexual behavior of Chios and Serres rams; *Theriogenology*, v.62, n1-2, p275-82, 2004.
- CBRA – Colégio Brasileiro de Reprodução Animal. Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal. 2ed. Belo Horizonte. 49p. 1998.
- Hafez, B., Hafez, E.S.E. Comportamento reprodutivo, cap19. In: Hafez, E.S.E., Hafez, B. Ed. Reprodução Animal, 7 ed. Barueri: Manole, 2004.

Palavras-chave: carneiro; volume; concentração; sêmen.

Keywords: ram; volume; concentration; semen.

236

Efeito da adição de acetamida na viabilidade *in vitro* de espermatozoides congelados ovinos (*Effect of the acetamide addition on the in vitro viability of cryopreserved ram sperm*)

A.H. Vidal, E.C.B. Silva, F.C. Almeida, A.M. Batista, A.K.G. Andrade, M.M.P. Guerra

UFRPE, Rua Manoel de Medeiros, s/n, CEP 52.060-290, Recife-PE. E-mail: silva.ecb@gmail.com

Introdução

A criopreservação do sêmen, associada a inseminação artificial, oferece vantagens a indústria da produção animal. Entretanto, o frio submete a célula a fatores atípicos e estressantes, sendo fundamental o uso de crioprotetores espermáticos (MIES FILHO, 1987), de diferentes tipos e concentrações, em virtude de sua toxicidade (WATSON, 2000). Por conseguinte, objetivou-se com este trabalho avaliar o efeito da ação de duas concentrações de acetamida na viabilidade *in vitro* do sêmen congelado de ovinos.

Material e Métodos

Utilizaram-se quatro carneiros, adultos, da raça Morada Nova, submetidos a colheitas de sêmen ($n=4$) com vagina artificial, a cada 48 horas. As amostras seminais foram submetidas a avaliações macroscópicas e microscópicas, diluídas em Tris-gema acrescido de glicerol (G1 = Tris-gema + 5 % glicerol) ou acetamida (G2 = Tris-gema + 5 % acetamida; G3 = Tris-gema + 3 % acetamida), envasadas em palhetas (0,25 mL; 100×10^6 espermatozoides) e congeladas. Após descongelação (37 °C, 30 seg), as amostras foram avaliadas quanto a motilidade progressiva (MP), vigor, integridade do acrossoma (IA) e do DNA (IDNA) e estresse oxidativo (EO). Para análise dos dados, usou-se Análise de Variância

(ANOVA) e teste de Tukey a 5%.

Resultados e discussão

Verificou-se que a MP e o vigor do G1 (54,37%; 3,31) foram superiores ($P<0,05$) aos do G2 (3,81%; 1,87) e G3 (3,06%; 1,69). Entretanto, a IA (G1=65,81%; G2=61,98%; G3=61,66%), IDNA (G1=100%;G=100,0%;G3=100,0%) e EO (G1=50,50%; G2=44,87%; G3=44,87%) não evidenciaram diferenças ($P>0,05$) entre os grupos, o que corrobora com Squires et al. (2004), ao constatarem baixa proteção conferida pela acetemida aos espermatozoides de equinos. No entanto, contraria Kashiwazaki et al. (2006), ao relatarem que a acetamida é um crioprotetor eficaz para espermatozoides de coelhos. Conclui-se que a acetamida, nas concentrações de 3% ou 5%, não preserva a viabilidade de espermatozoides criopreservados de ovinos.

Referências Bibliográficas

Mies Filho A. Inseminação Artificial. 6ª ed. Porto Alegre: Livraria Sulina Editora, 1987. 409 p.
Kashiwazaki N, Okuda Y, Seita Y, Hisamatsu S, Sonoki S, Shino M, Masaoka T, Inomata T. Comparison of glycerol, lactamide, acetamide and dimethylsulfoxide as cryoprotectants of Japanese white rabbit spermatozoa. J. Reprod. Dev., v. 52, n. 4, p. 511-516, 2006.
Squires EL, Keith SL, Graham JK. Evaluation of alternative cryoprotectants for preserving stallion spermatozoa. Theriogenology, v. 62, p. 1056-1065, 2004.
Watson PF. The cause of reduced fertility with criopreserved semen. Anim. Reprod. Sci., v. 61, p. 481-492, 2000.

Palavras chave: Crioprotetores, glicerol, acetamida, sêmen, ovino.

Index terms: Cryoprotectants, glycerol, acetamide, semen, ovine.

237

Viabilidade do sêmen ovino criopreservado em meio com lipoproteína de baixa densidade e dimetilformamida (*Viability of cryopreserved ram semen in extender with low density lipoprotein and dimethylformamide*)

E.G. Rossi², V.S. Moustacas², D.A. Miranda³, P.G. Lage³, M.M. Neves², L.G.D. Heneine⁴, M.A. Lagares¹, M. Henry¹

¹Escola de Veterinária da UFMG, Belo Horizonte, MG, Brasil; ²Aluna de Pós-graduação EV-UFMG; ³Bolsista de IC/CNPq – EV-UFMG; ⁴Pesquisador FUNED. E-mail: vmoustacas@ufmg.br

Introdução

O aprimoramento das técnicas de congelamento de sêmen é um dos focos de pesquisa para melhoria da eficiência do uso da inseminação artificial em ovinos. O presente estudo objetivou testar meios diluidores contendo lipoproteína de baixa densidade (LBD), extraída da gema de ovos de galinha, associada à dimetilformamida (DMF), um crioprotetor menos tóxico aos espermatozoides em outras espécies (Alvarenga *et al.*, 2005).

Material e métodos

A LBD foi extraída segundo Neves 2008 (modificado de Moussa *et al.*, 2002). O meio diluidor base utilizado foi o Tris-gema com 5 % glicerol (controle). As concentrações de LBD foram calculadas de acordo com seu conteúdo protéico (p/v). Os demais meios testados foram: trat.2: Tris-gema-5%DMF, trat.3: 8%LBD-5%DMF, trat.4: 16%LBD-5%DMF, trat.5: 8%LBD-8%DMF e trat.6: 16%LBD-8%DMF. Foram utilizados 5 carneiros congelando-se 3 ejaculados de cada um (os valores expressam a média dos três ejaculados obtidos de cada doador). O sêmen foi diluído em uma única etapa, a temperatura ambiente, para a obtenção da concentração final de 150×10^6 spz/mL. As amostras foram congeladas em palhetas de 0,25mL no vapor de nitrogênio líquido (3 cm acima da coluna líquida). Após a descongelação avaliou-se a motilidade e o vigor, a integridade de membranas pela técnica de fluorescência (iodeto de propídio [PI] e diacetato de carboxifluoresceína [CFDA] [Harrison e Vickers, 1990]) e a morfologia celular foi avaliada pela técnica de preparação úmida sob microscopia de contraste de fase.

Resultados e Discussão

Após o descongelamento, a motilidade espermática total média para todos os ejaculados congelados no meio controle foi de $23,0 \pm 17,5\%$. A motilidade pós-descongelamento em todos os demais tratamentos foi de 0 %. O percentual de células íntegras ($24,6 \pm 16,5\%$) no grupo controle foi maior ($P<0,05$) que o encontrado nos tratamentos utilizando a dimetilformamida (média geral $1,1 \pm 0,8\%$). A percentagem média de espermatozoides morfologicamente normais imediatamente após a coleta foi de $87,8 \pm 4,3\%$, após a criopreservação, o percentual foi menor ($P<0,05$), com média geral de $71,7 \pm 3,6\%$, não havendo diferença entre os tratamentos. Pode-se concluir que a dimetilformamida não preservou a integridade das membranas e a motilidade dos espermatozoides após a descongelamento. Considerando que esta ineficácia também foi observada no tratamento com 5% de gema, o efeito da lipoproteína de baixa densidade não pôde ser avaliado neste experimento. Portanto, a dimetilformamida a 5 e 8% não exerceu qualquer efeito crioprotetor sobre as células espermáticas de ovinos.

Referências bibliográficas

Alvarenga, L.A.; Papa, F.O.; Landim-Alvarenga, F.C. et al. Anim. Reprod. Sci., v.89, p.105-113, 2005.
Harrison, R.A.P.; Vickers, S.E.J. Reprod. Fertil., v. 88, p. 343-352, 1990.
Neves, M.M.. 2008. 117 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - UFMG, BH, MG.

Palavras-chave: criopreservação, espermatozoides ovino, dimetilformamida.

Keywords: Cryopreservation, ram spermatozoa, dimethylformamide.

Apoio financeiro: FAPEMIG.

238

Efeito da adição de trealose ao diluidor de congelação do sêmen ovino (*Effect of trehalose adition on frozen diluent of ovine semen*)

J.F.P. Cajueiro¹, E.C.B. Silva², F.C. Almeida³, A.H. Vidal⁴, M.M.P. Guerra⁵

Laboratório de Andrologia Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco. E-mail: lipepc_vet@hotmail.com

Introdução

O processo de criopreservação do sêmen acarreta perdas na qualidade dos espermatozoides pós-descongelamento, provavelmente por acelerar reações de oxidação nas membranas celulares (Baumber et al., 2003). Com o objetivo de neutralizar os danos oxidativos sofridos pelos espermatozoides durante o processo de congelação/descongelação e, assim, promover melhores índices de fertilizações, diferentes concentrações do antioxidante Trealose foram adicionadas ao diluidor de congelação do sêmen ovino.

Material e Métodos

Foram realizadas colheitas de sêmen (n=4) de três carneiros da raça Santa Inês, com vagina artificial e auxílio de manequim. Realizou-se a formação do *pool* de ejaculados e análises de motilidade progressiva (MP), vigor, integridade de acrossoma (iAc) e do DNA (iDNA), e ocorrência de estresse oxidativo (EO). A seguir, as amostras de sêmen foram diluídas em Tris-gema acrescida de trealose (G1= controle; G2= 50mM; G3= 100mM; G4= 150mM), na concentração 100×10^6 espermatozoides/dose, envasadas em palhetas (0,25mL), congeladas e armazenadas a -196 °C. Após descongelação (37 °C, 30 s), as amostras foram submetidas a análise. Para comparação das médias, usou-se Análise de Variância e o teste de Tukey (P<0,05).

Resultados e Discussão

As amostras de sêmen *in natura* apresentaram médias de 78,75% de MP, 3,37 de vigor, 89,75% iAc, 100,00% de iDNA e 23,50% de EO. No sêmen pós-descongelação, os gametas do G1, G2, G3 e G4 apresentaram, respectivamente, 55,00%, 51,25%, 32,50% e 40,00% de MP; 3,0, 3,15, 2,25 e 3,15 de vigor; 87,62%, 86,12%, 85,37% e 80,62% de iAc; 40,75%, 40,25%, 47,50% e 45,25% de EO, além de 100% de iDNA em todos os grupos. As concentrações mais elevadas de trealose (G3 e G4) proporcionaram menor (P<0,05) MP do que a do controle (G1), o que concorda com os relatos de Bucak e Tekin (2007), ao atribuírem este fato ao aumento da osmolaridade do meio diluente. Os demais parâmetros seminais não diferiram (P<0,05) entre grupos. Conclui-se que a adição de Trealose ao diluidor de congelação, nas concentrações de 50, 100 e 150mM, não preserva a viabilidade de espermatozoides ovinos.

Referências bibliográficas

Baumber J, Ball BA, Meyers SA. Reactive oxygen species and cryopreservation promote DNA fragmentation in equine spermatozoa. *J. Androl.*, v. 24, n. 4, p. 621-628, 2003.

Bucak MN, Tekin N. Protective effect of taurine, glutathione and trehalose on the liquid storage of ram semen. *Small Rum.Res.*, v. 73, p. 103-108, 2007.

Palavras-chave: Criopreservação, sêmen, oxidação, antioxidante.

Keywords: Cryopreservation, semen, oxidation, antioxidant.

239

Efeito de diferentes diluidores e unidades de refrigeração/conservação na criopreservação de sêmen ovino por 24 horas (*Effect of different extenders and cooling/conservations units on ram cyiopreserved semen for 24 hours*)

V.P. Reig, R.A. Torres Filho, F.Z. Brandão, J.A.S. Ribas

Universidade Federal Fluminense – Niterói, RJ. E-mail: ribasjas@vm.uff.br

Introdução

A procura por carne ovina vem crescendo consideravelmente no Brasil e com isso, a otimização de reprodutores que proporcionem boa qualidade à carne a ser oferecida ao consumidor se faz necessária (Sousa e Bicudo, 2002). Tendo como meta intensificar a utilização de carneiros melhoradores através da inseminação artificial com sêmen refrigerado, a presente pesquisa teve por objetivo testar diferentes unidades de refrigeração/conservação (contêineres) e diluidores na refrigeração e conservação do sêmen ovino por 24 h.

Material e métodos

Foram utilizados quatro carneiros da raça Santa Inês, entre 4 e 6 anos, de uma propriedade localizada em Cachoeiras de Macacu, RJ. Coletou-se 10 ejaculados de cada animal com intervalos de 48 horas. Após cada coleta, o ejaculado foi fracionado em duas partes, sendo uma diluída na proporção de 1:100, em diluidor a base de gema (G) e a outra em diluidor a base de leite (L). Em seguida, cada uma delas foi analisada utilizando-se os critérios indicados pelo CBRA (1998). Acondicionou-se então, 10 mL de cada diluição, em caixa isotérmica simples medindo 27x18x18cm, contendo 1.000mL de gelo biológico (I) e no Equitainer® II (E). Passadas 24 horas, estas foram avaliadas novamente utilizando-se os seguintes parâmetros: motilidade, vigor, integridade da membrana plasmática por sondas fluorescentes e funcionalidade da membrana plasmática pelo teste hiposmótico (Dell'Aqua Júnior, 2002). Para a análise estatística

utilizou-se um delineamento inteiramente casualizado na estrutura fatorial 2 x 2 (unidades de refrigeração/conservação x diluidores), adotando-se a significância de 5% para todas as variáveis. Analisaram-se os dados obtidos pelo programa SAS (2003).

Resultados e Discussão

Houve um declínio na motilidade ($70,75 \pm 9,31$ vs $57,72 \pm 11,04$) e vigor ($4,25 \pm 0,67$ vs $3,37 \pm 0,14$) do sêmen conservado por 24 horas sob refrigeração, independente do contêiner ou do diluidor, fato também verificado por Sousa e Bicudo (2002) e atribuído ao estresse térmico. Comparando-se as unidades de refrigeração/conservação, ambas proporcionaram uma boa conservação para o sêmen, porém E mostrou-se superior à I ($P < 0,05$) quanto ao vigor ($3,70 \pm 0,49$ vs $3,47 \pm 0,53$) e espermatozoides com membrana plasmática íntegra ($60,24 \pm 10,46$ vs $56,51 \pm 12,91$). Este fato pode ser explicado pela queda de temperatura acima do recomendado em I como sugerido por Ferreira et al. (2007). No que diz respeito ao diluidor, L foi superior ($P < 0,05$) a G na característica vigor ($3,70 \pm 0,49$ vs $3,47 \pm 0,53$), provavelmente devido a maior viscosidade e quantidade de lipídios de G. Entretanto, na interação entre os contêineres e diluidores, não foi observada diferença estatística ($P > 0,05$) para os parâmetros testados, assim como observado por Ferreira et al. (2007). Concluiu-se que os dois contêineres e diluidores foram eficazes na refrigeração e conservação do sêmen ovino por 24 horas, com uma pequena vantagem para o Equitainer® II.

Referências bibliográficas

C.B.R.A. Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen. 2.ed. Belo Horizonte, 49p, 1998.
Dell'Aqua Júnior, J.A. Efeito da centrifugação, tipo de envase e temperatura de descongelamento sobre os parâmetros espermáticos e índices de fertilidade do sêmen congelado eqüino. Botucatu, 2000. (dissertação) 81p. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista.
Sousa, D.B., Bicudo, S.D. Desempenho do Equitainer na refrigeração do sêmen ovino. Rev. Bras. Reprod. Anim., v.26, n.3, p. 166-168, 2002.
Ferreira, M.A.R., et al. Efeito da unidade de resfriamento e conservação, do tempo de armazenamento e diluidor sobre as características do sêmen de cães. Rev. Bras. Ciênc. Vet. v.14, n.2, p.86-90, 2007.

Palavras chave: ovino, sêmen, criopreservação.

Keywords: ram, semen, cryopreservation.

240

Avaliação da viabilidade *in vitro* de espermatozoides ovinos criopreservados com etileno glicol (*Evaluation of the *in vitro* viability of cryopreserved ram sperm with ethylene glycol*)

E.C.B. Silva, A.H. Vidal, J.F.P. Cajueiro, S.V. Silva, M.M.P. Guerra

UFRPE, Rua Manoel de Medeiros, s/n, CEP 52.060-290, Recife-PE. E-mail: silva.ecb@gmail.com

Introdução

Os crioprotetores, indispensáveis à conservação do sêmen (Mies Filho, 1987), são classificados como penetrantes e não penetrantes na célula espermática (Silva, 2007). Todavia, quando utilizados em elevadas concentrações, os crioprotetores penetrantes se tornam deletérios aos espermatozoides devido a sua toxicidade (Watson, 2000). Em virtude disto, objetivou-se com este estudo avaliar a viabilidade *in vitro* de espermatozoides ovinos criopreservados com etileno glicol.

Material e Métodos

Foram usados quatro carneiros, adultos, da raça Morada Nova, submetidos a colheitas de sêmen ($n=4$) com vagina artificial. Após avaliações macroscópicas e microscópicas, as amostras de sêmen foram divididas em três alíquotas, diluídas em Tris-gema + 5 % glicerol (G1), Tris-gema + 5 % etileno glicol (G2) e Tris-gema + 3 % etileno glicol (G3), envasadas em palhetas (0,25 mL; 100×10^6 espermatozoides), criopreservadas e armazenadas em botijão criobiológico. Após descongelamento (37 °C, 30 seg), as amostras foram avaliadas quanto a motilidade progressiva (MP), vigor, integridades do acrossoma (iAc), integridade do DNA (iDNA), e estresse oxidativo (EO). Para análise dos dados, usou-se Análise de Variância (ANOVA) a 5%.

Resultados e discussão

As análises de MP (G1=54,37%; G2=49,69%; G3=54,06%), vigor (G1=3,31; G2=3,28; G3=3,41), iAc (G1=65,81%; G2=70,31%; G3=68,41%), iDNA (G1=100%; G2=100,0%; G3=100,0%) e EO (G1=50,50%; G2=54,06%; G3=52,82%) não diferiram ($P > 0,05$) entre os grupos, o que corrobora com Brizola et al. (1999), ao comprovarem não haver diferença no uso de glicerol ou etileno glicol na preservação do sêmen ovino. Contudo, contraria os relatos de Moraes et al. (1998), ao observarem superioridade do etileno glicol na manutenção da iAc, em relação ao glicerol. Conclui-se que o etilenoglicol, nas concentrações de 3% e 5%, não preserva a viabilidade *in vitro* de espermatozoides criopreservados de ovinos.

Referências Bibliográficas

Brisola LBS, Neves JP, Gonçalves PBD, Oliveira JFC, Montagner MM. Integridade das membranas plasmática, nuclear e mitocondrial de espermatozoides ovinos criopreservados com etileno glicol. Ciênc. Rural, v. 29, n. 3, p. 527-531, 1999.
Moraes CN, Neves JP, Gonçalves PB, Oliveira JFC, Schweitzer CM. Criopreservação do sêmen ovino em pellets com etileno glicol. Ciênc. Rural, v. 28, n. 2, p. 287-292, 1998.
Silva AR. Atualidades sobre a criopreservação do sêmen de cães. Rev. Bras. Reprod. Anim., v.31, n.1, p.119-127, 2007.
Watson PF. The cause of reduced fertility with cryopreserved semen. Anim. Reprod. Sci., v. 61, p. 481-492, 2000.

Palavras chave: Crioprotetores, glicerol, etileno glicol, sêmen, ovino.

Index terms: Cryoprotectants, glycerol, ethylene glycol, semen, ovine.

241

Toxicidade do butil-hidroxitolueno na substituição parcial ou total da fração gema do diluidor glicina-gema-leite (GGL) empregado na refrigeração do sêmen ovino (*Toxicity of butylated hydroxytoluene in partial or total replacement of yolk fraction in the glycine-yolk-milk extender employed in cooling of ram semen*)

C.N.R. César¹, S.D. Bicudo², L. Rodello², S.R. Silva¹, R.F. Bittencourt², M.M.P. Guerra¹, A.S. Rocha², C.E.A. Biscarde²

¹Departamento de Medicina Veterinária – UFRPE, Recife, PE, Brasil; ²Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária – FMVZ/UNESP, Botucatu, SP, Brasil. E-mail: cla.neuman@gmail.com

Introdução

O Butil-hidroxitolueno (BHT) atua como uma substância lipídica protetora, reduzindo a permeabilidade da membrana plasmática dos espermatozoides durante o choque térmico (PARKS e GRAHAM, 1992), e foi utilizado, com sucesso, em diluidores quimicamente definidos, para congelação de sêmen caprino (KHALIFA et al, 2007).

Material e Métodos

Amostras de sêmen *in natura* (n=39), de quatro reprodutores ovinos Santa Inês, foram submetidas à avaliação de motilidade total e progressiva, em sistema computadorizado (CASA) – Hamilton-Thorn Research®, morfologia espermática em preparação úmida sob microscopia de contraste de fase, e integridade de membrana plasmática pelo emprego das sondas fluorescentes diacetato de carboxifluoresceína iodeto de propídio (DIC/IP). O sêmen foi diluído em meio Glicina-gema-leite, com gradual redução da fração gema e adição de BHT em 0,25 mL de DMSO, conforme os grupos experimentais a seguir: G20 = Gema 20%; G18 = Gema 18% + DMSO (0,25 mL) + BHT (0,6 mM); G10 = Gema 10% + DMSO (0,25 mL) + BHT (2,95 mM) e G0 = Gema 0% + DMSO (0,25 mL) + BHT (5,8 mM). As amostras foram refrigeradas à 5°C por 2 h, e logo após avaliadas de forma semelhante às amostras *in natura* conforme referido acima. Os parâmetros obtidos foram comparados pelo PROC GLM, utilizando-se o teste de Student – Newman – Keuls (SNK), com nível de probabilidade de 5%.

Resultados e Discussão

Obteve-se motilidade total de 89,9^a; 82,4^a; 84,6^a; 92,4^a; 0,0^{bc}%; motilidade progressiva de 57,4^b; 60,0^a; 68,1^a; 78,0^a e 0,0^{bc}%; espermatozoides morfologicamente anormais 3,1^a; 7,5^b; 10,4^b; 11,3^b; 99,0^c% e espermatozoides com membrana plasmática íntegra 42,9^a; 43,3^a; 47,9^a; 43,6^a; 0,0^{bc}%, respectivamente, para o sêmen antes da refrigeração e nos grupos G20; G18; G10 e G0 após a refrigeração (P<0,05). Os grupos de substituição parcial da gema de ovo não diferiram dos valores pré-resfriamento, contudo, a substituição integral da gema de ovo foi letal, para os espermatozoides. A perda da viabilidade pode ter sido decorrente da exposição do sêmen a elevadas concentrações de BHT, pelo aumento significativo na fluidez das membranas espermáticas (BAMBA & CRAN 1992). Possivelmente, ocorreu uma associação do BHT aos lipídios da gema, permanecendo certas quantidades de moléculas do BHT livres e capazes de penetrar na membrana plasmática dos espermatozoides (KILLIAN et al., 1989). O BHT, nas concentrações utilizadas para substituição parcial da gema, não promoveu efeito benéfico ao espermatozoide ovino refrigerado. Entretanto, a substituição total da gema pelo BHT no meio glicina-leite foi letal aos espermatozoides após duas horas de resfriamento a 5°C.

Referências bibliográficas

Bamba, K.; Cran, D.G. Further studies on rapid dilution and warming of boar semen. J. Reprod. Fertil. v. 82, p. 509–518, 1988.

Khalifa, T.A.A.; Lymberopoulos, A.G.; El-Saidy, B.E. Testing Usability of Butylated Hydroxytoluene in Conservation of Goat Semen. Reprod. Dom. Anim., no prelo, 2008.

Killian, G.; Honadel, T.; Menutt, T. et al. Evaluation of butylated hydroxytoluene as a cryopreservative added to whole or skim milk diluent for bull semen. J. Dairy Sci. v. 72, p. 1291–1295, 1989. Parks, J.E.; Graham, J.K. Effects of cryopreservation procedures on sperm membranes. Theriogenology, v. 38, p. 209–222, 1992.

Palavras-chave: butil-hidroxitolueno (BHT), glicina-gema-leite (GGL).

Keywords: butylated hydroxytoluene (BHT), glycine-yolk-milk (GYM).

242

Caracterização bidimensional de proteínas do plasma seminal e sua relação com parâmetros de qualidade do sêmen criopreservado em ovinos (*Two-dimensional characterization of seminal plasma proteins and its relationship with quality parameters of frozen semen in ram*)

P.P. Moura¹, M.M. Franco², J.P. Neves¹

¹Universidade de Brasília; ²Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. E-mail: plismoura@gmail.com

Introdução

A utilização de sêmen congelado em ovinos tem sido limitada devido aos baixos índices de fertilidade conseguidos com a inseminação artificial cervical nessa espécie (MAXWELL & WATSON, 1996). A criopreservação do sêmen ovino reduz a sua capacidade fertilizante ao induzir danos na sua membrana espermática e aumentar o número de espermatozoides

capacitados. O objetivo deste trabalho foi caracterizar o perfil protéico do plasma seminal ovino por eletroforese bidimensional e identificar proteínas relacionadas com a congelabilidade do sêmen, contribuindo para aumentar a viabilidade espermática do sêmen criopreservado.

Material e Métodos

Foram utilizados os ejaculados de 5 reprodutores (05, 21, 79, 145, 271), que foram submetidos ao processo de criopreservação e avaliações espermáticas de motilidade, vigor e viabilidade/integridade acrossomal no sêmen fresco e descongelado; acrescidos testes de integridade de membrana plasmática e teste de termo-resistência para o sêmen descongelado; e dos quais os plasmas seminais obtidos por centrifugação foram submetidos à técnica de eletroforese bidimensional em géis de poliacrilamida 12 % para verificação do perfil protéico.

Resultados e Discussão

Foram observadas diferenças entre os animais nas avaliações espermáticas e foram identificados 92 *spots* nos géis do plasma seminal de todos os animais analisados. As proteínas 03 (7,9 kDa e p.I 6,3), 23 (13,6 kDa e p.I 5,0) e 31 (21,4 kDa e p.I 4,7) destacaram-se, pois apresentaram alta expressão nos géis dos animais em que foram identificadas. A proteína 31, encontrada somente no animal 05, demonstrou correlação negativa com a quantidade de espermatozoides com membrana plasmática íntegra (IMP) e vivos com acrossoma íntegro; e correlação positiva com a de mortos com acrossoma reagido. O animal 05 apresentou os piores valores para tais parâmetros. Já as proteínas 03 e 23 apresentaram correlação positiva com a IMP e o animal 21, que apresentou os melhores resultados de IMP, foi o único que apresentou tais proteínas. A avaliação dos resultados obtidos evidenciou uma variabilidade no perfil protéico no plasma seminal dos carneiros com diferentes resultados de criopreservação do sêmen, sugerindo as proteínas 03, 23 e 31 como possíveis marcadores da capacidade criopreservadora do mesmo.

Referências bibliográficas

Maxwell, W.M.C., Watson, P.F. Recent progress in the preservation of ram semen. *Animal Reproduction Science*, v.42, p. 55-65, 1996.

Palavras-chave: Proteína, sêmen, carneiro, congelabilidade, eletroforese.

Keywords: Protein, semen, ram, freezeability, electrophoresis..

243

Teste do Cometa para avaliar a integridade do DNA espermático em carneiros (*Neutral Comet Assay to evaluate ram spermatozoa DNA*)

L.T. Martins, C. Spies, S. Gaudêncio Neto, J.C. Mezzalira, L.P. Rauber, M. Bertolini, A. Mezzalira

Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC / Lages SC. E-mail: mezzalira@cav.udesc.br

Introdução

A integridade do DNA espermático pode ser determinada com o método *Neutral Comet Assay*. Entretanto, a metodologia empregada em humanos e bovinos não se mostrou adequada para espermatozoides ovinos, determinando a necessidade de uma série de adequações. Este trabalho descreve as modificações que permitiram validar a metodologia para uso em sêmen ovino.

Material e Métodos

Foram utilizadas amostras de 100 µL de sêmen de carneiro descongelado (SD), sêmen fresco diluído em TRIS (SF) ou sêmen fresco incubado em 400 µM de H₂O₂, como controle positivo (CP). O sêmen foi adicionado de 500 µL de meio TRIS-glicose-ácido cítrico, incubado a 37 °C por 1 hora, sendo utilizados 450 µL do sobrenadante. Foram preparadas duas soluções de agarose a 0,5%, em tampão TBE (TRIS - 54 g/L; Ácido bórico - 27,5 g/L; N₂EDTA - 0,5 M), uma de ponto de fusão normal (*solução 1*) e outra de baixo ponto de fusão (*solução 2*). Na confecção das lâminas espalhou-se 300 µL da solução 1, secando-se em estufa a 40 °C. Na segunda camada de agarose, 5 µL de espermatozoides ressuspendidos em meio TRIS (10⁶ espermatozoides/mL) foram homogeneizados com 95 µL da *solução 2*, depositando-se 50 µL dessa combinação sobre a primeira camada de gel, cobertos com laminula (24 x 50 mm) por 15 minutos a 5°C para solidificar. Após remover a laminula, uma terceira camada de agarose composta pela *solução 2* é depositada, coberta com laminula e refrigerada até a solidificação, removendo-se a laminula. As lâminas são imersas na primeira solução de lise (2,5 M NaCl, 100 mM N₄EDTA, 10 mM TRIS base pH 10, 1% Triton X-100 e 1% Lauril-sarcosine), por 2 horas a 5°C, quando são transferidas para a segunda solução de lise (2,5 M NaCl, 5 mM TRIS base pH 7,4, 0,5% Lauril-sarcosine e 20 µg/mL de RNase A) por 4 horas a 37°C. Finalmente as lâminas são incubadas por 14 horas a 37°C na terceira solução de lise (2,5 M NaCl, 5 mM TRIS base pH 7,4, 100 mM Dithiothreitol e 200 µg/mL de proteinase K). As lâminas sofreram três banhos em água destilada e um em TBE com pH 8,0 (20 minutos cada) e imediatamente foram submetidas a eletroforese (60 minutos a 120 mA, BIO-RAD Mini-Protean 4 Cell, Bio-rad Laboratories, USA). Após a lavagem das lâminas em água destilada, estas eram mantidas na vertical por 30 minutos, fixadas em álcool 92° por 5 minutos e secadas à temperatura ambiente (60 min). As lâminas foram coradas com 50 µL de Brometo de Etídio (50 µg/mL), cobertas com laminula, e lidas sob luz ultravioleta. A fragmentação do DNA espermático foi classificada como positiva ou negativa com base na presença ou ausência de uma cauda formada pela migração dos pequenos fragmentos de DNA, que compõem um perfil semelhante ao de um cometa.

Resultados e Discussão

O grupo SF apresentou a menor taxa de fragmentação (24%), significativamente inferior ao grupo SD (50%) e CP

(94,0%). Conclui-se que o sêmen ovino, mesmo fresco, tem elevada taxa de fragmentação de DNA, que é aumentada significativamente pelo congelamento. Ainda, o elevado percentual de fragmentação de DNA do grupo CP permite validar a técnica para o sêmen ovino.

Palavras-chave: Fragmentação de DNA, sêmen ovino, estresse oxidativo, congelamento.

Keywords: DNA fragmentation, ovine semen, oxidative stress, freeze.

244

Criopreservação de espermatozoides ovinos em meios contendo lipoproteína de baixa densidade nas formas fresca e liofilizada (*Ovine spermatozoa cryopreservation in extenders containing fresh and lyophilized low density lipoprotein*)

V.S. Moustacas², F.G. Zaffalon³, A.M.L. Echeverri², M.M. Neves², F.C. Varago², L.G.D. Heneine⁴, M. Henry¹

¹ Professor da EV-UFGM; ² Aluna de Pós-graduação EV-UFGM; ³ Aluna de Pós-graduação FMVZ-USP;

⁴ Pesquisador FUNED. E-mail: vmoustacas@ufmg.br

Introdução

Neste trabalho objetivou-se avaliar a eficácia da substituição da gema de ovo por lipoproteína de baixa densidade (LBD), extraída da gema de ovos de galinha, nas formas fresca e liofilizada, em meio diluidor para criopreservação de espermatozoides de ovinos.

Material e Métodos

Foi realizada a extração da LBD segundo Neves 2008 (modificado de Moussa *et al.*, 2002). O diluidor base (controle) utilizado foi o Tris-gema (Salamon e Visser, 1972) e, para os demais, foi feita a substituição da gema de ovo por LBD fresca e liofilizada nas concentrações de 8, 12, 16 e 20% p/v. A quantidade de LBD adicionada a cada meio foi calculada de acordo com a concentração protéica das lipoproteínas obtidas após a extração. Foram utilizados 10 carneiros (dois ejaculados por doador). A diluição de cada ejaculado foi realizada a temperatura ambiente para a obtenção de 100×10^6 spz/mL. As amostras foram envasadas em palhetas de 0,25mL e congeladas em vapor de nitrogênio (3 cm acima da coluna líquida). Após a descongelação, foi avaliada a motilidade total pelo sistema computadorizado (CASA), a morfologia espermática pela microscopia de contraste de fase, a integridade de membranas pelo uso de sondas fluorescentes (adaptado de Celeghini *et al.*, 2005) e pelo teste hiposmótico (HO) e a longevidade espermática, pelo teste de termorresistência (TTR).

Resultados e Discussão

Não houve diferença entre o grupo controle e os grupos contendo LBD fresca. Os meios contendo LBD liofilizada proporcionaram resultados inferiores ($P < 0,05$) aos demais para todos os parâmetros avaliados, exceto para o HO, onde a média geral de células reativas foi de $21,1 \pm 8,8\%$. Os valores (média \pm d.p.) para o grupo controle, LBD fresca e liofilizada (média de todos os tratamentos, dentro de cada grupo) foram, respectivamente: motilidade - $20,9 \pm 11,9\%$, $25,9 \pm 13,6\%$ e $5,2 \pm 4,3\%$; células morfologicamente normais - $65,2 \pm 21,1\%$, $55,5 \pm 18,9\%$ e $30,8 \pm 11,4\%$; integridade de membranas - $13,8 \pm 7,8\%$, $18,1 \pm 7,8\%$ e $6,2 \pm 3,7\%$. Até 120 minutos de TTR, a motilidade total foi maior ($P < 0,05$) para os grupos controle e com LBD fresca do que para o grupo com LBD liofilizada. Concluiu-se que para a criopreservação de espermatozoides ovinos a gema de ovo total de galinha pode ser substituída por qualquer uma das concentrações testadas de LBD fresca. O processo de liofilização aqui testado não preservou as características crioprotetoras das lipoproteínas de baixa densidade.

Referências bibliográficas

Celeghini, E. C. C. ; Arruda, R. P. ; Andrade, A. F. C. *et al.* In: ISABR 2006, BH, MG. *Anim. Reprod.*, v. 3, p. 243-243, 2006.

Salamon, S.; Visser, D. *Aust. J. Biol. Sci.*, v. 25, p. 605- 618, 1972.

Neves, M. M. 2008. 117 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - UFGM, BH, MG.

Palavras-chave: Criopreservação, lipoproteína de baixa densidade, espermatozoide ovino.

Keywords: Cryopreservation, low density lipoprotein, ram spermatozoa.

Agradecimentos: FAPEMIG (apoio financeiro) e prof. Rubens Paes de Arruda – FMVZ/USP Pirassununga (apoio técnico).

245

Adição de plasma seminal heterólogo ao sêmen ovino após descongelamento (*Addition of heterologous seminal plasma to thawed ram semen*)

S. Gaudêncio Neto¹, L.T. Martins¹, P.C. Santos Neto¹, R.P. Gerger¹, L.M.R. Santos¹, A. Mezzalira¹, A.D Vieira²

¹ Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC; ² Universidade Federal de Pelotas – UFPEL E-mail: mezzalira@cav.udesc.br

Introdução

A adição de plasma seminal ovino (PSO) ao sêmen é tida como uma estratégia para reverter os efeitos indesejáveis da criopreservação (Maxwell, 1999). O aumento da viabilidade espermática permitiria a inseminação artificial com sêmen congelado pela via cervical, dispensando a necessidade de laparoscopia. Entretanto, o risco sanitário e o baixo volume de

plasma seminal (PS) produzido pelos ovinos, limitam sua aplicabilidade. Desta forma, faz-se necessário avaliar o efeito de PS heterólogo na manutenção da viabilidade do sêmen ovino pós-descongelamento. O objetivo deste experimento foi determinar se o plasma seminal bovino (PSB) e equino (PSE) possuem capacidade semelhante ao PSO na preservação da viabilidade pós-congelamento de espermatozoides ovinos, comparando ainda dois tempos de exposição.

Materiais e Métodos

O PS foi obtido em janeiro de 2008, de 5 garanhões (PSE), 5 touros (PSB) e 8 carneiros (PSO), dos quais também foi obtido o sêmen que constituiu um pool para o congelamento. O sêmen foi diluído na proporção 1:1 em meio TRIS-gema glicerolado (5%) e submetido à refrigeração até 5°C (0,3°/min). Após 4 horas de estabilização, o sêmen foi envasado em palhetas de 0,25 mL em condições isotérmicas e congelado em vapor de nitrogênio líquido. Para as avaliações, três palhetas de cada partida foram descongeladas e homogeneizadas. Após, o sêmen foi fracionado em amostras contendo 25% de volume em diluente sem PS (SPS) ou com PSO, PSB, PSE, empregando-se dois tempos de exposição: Parcial (5 min seguido de diluição) ou integral (6 horas sem diluição). Durante o período de incubação (6 h), a cada 2 horas, procedeu-se a determinação do percentual de motilidade, de vivos/mortos (eosina/nigrosina) e integridade funcional de membrana plasmática (teste hiposmótico).

Resultados e Discussão

A incubação por 6 h em PS apresentou efeitos deletérios, já observados com 2 h de incubação. Houve uma redução significativa ($P<0,05$) de todos os parâmetros, principalmente nas avaliações mais tardias (4 e 6 h), com exceção da incubação com PSB, que proporcionou um aumento ($P<0,05$) do percentual de espermatozoides vivos nas avaliações de 4 e 6 h. Já na incubação por 5 min, desde o momento 2 h até 6 h, os tratamentos PSO, PSB e PSE foram superiores ($P>0,05$) ao tratamento SPS em relação à integridade de membrana plasmática (13,0%, 17,6%, 19,6% e 9,3%) e percentual de vivos (22,6%, 31,0%, 26,0% e 21,6%), respectivamente. Conclui-se que o PS heterólogo pode ser usado na manutenção da viabilidade do sêmen ovino no pós-descongelamento e que o período de exposição de 5 min é suficiente para preservação da viabilidade, concordando com observações anteriores (García-Lopez et al., 1996).

Referências bibliográficas

García-López N, et al., 1996. Journal of Chromatography, 680:137-143.

Maxwell W.M.C., et al., 1999. Reproduction Fertility Development, 11, 123-126.

Palavras-chave: plasma seminal heteólogo, sêmen, criopreservação, carneiro.

Keywords: heterologous seminal plasma, semen, cryopreservation, ram

246

Avaliação andrológica e ultrasonográfica de carneiros experimentalmente infectados com *Brucella ovis* (*Andrological and ultrasonographic evaluation of sheep experimentally infected with Brucella ovis*)

C.A. Carvalho Junior³, M.N. Xavier³, V.S. Moustacas², ⁴F.M. Sant'Anna, A.M. Borges¹, A.M.G. Gouveia¹, R.L. Santos¹

¹Professor da EV-UFGM; ²Doutoranda EV-UFGM; ³Mestrando EV-UFGM; ⁴Graduando EV-UFGM. E-mail: rsantos@vet.ufmg.br

Introdução

A *Brucella ovis* tem tropismo pelo sistema genital, particularmente de carneiros, causando primariamente epididimite e infertilidade (Ficapal et al., 1998; Santos et al., 2005). O presente trabalho teve como objetivo analisar características seminais, alterações clínicas e ultra sonográficas no sistema reprodutivo de carneiros experimentalmente infectados com *B. ovis*.

Material e Métodos

Foi realizado o exame ultra sonográfico das vesículas seminais, testículos e epidídimos, bem como a avaliação da motilidade total, vigor, turbilhonamento e morfologia do sêmen imediatamente antes da infecção experimental (p.i.) com *B. ovis*. Nove carneiros mestiços deslanados, com idade de três a quatro anos, foram inoculados simultaneamente por via intra prepucial com 2 ml de suspensão contendo $1,2 \times 10^9$ UFC/ml e por via intra conjuntival bilateral com 50 µl de suspensão contendo $1,2 \times 10^{10}$ UFC/ml, resultando em um inoculo total de $3,6 \times 10^9$ UFC de *B. ovis*. Após a infecção foram realizadas seis coletas de sêmen e exames ultra sonográficos mensais, para avaliação dos parâmetros anteriormente descritos.

Resultados e Discussão

Após a infecção, os carneiros apresentaram aumento no percentual de defeitos espermáticos totais, $15,2 \pm 8,7\%$, $35,7 \pm 18,7\%$, $31,2 \pm 9,4\%$, na p.i, no primeiro mês pós infecção e na última coleta, respectivamente ($p<0,05$). A concentração espermática reduziu de $6,08 \times 10^9 \pm 2,3$ p.i. para $1,9 \times 10^9 \pm 0,85$ durante o curso da infecção ($P<0,05$). A circunferência escrotal diminuiu de $29,1 \pm 1,8$ cm p.i. para $25,8 \pm 2,1$ cm no segundo mês pós infecção e posteriormente retornou as medidas p.i. Houve aumento no volume da cauda do epidídimo nos dois últimos meses do período experimental e aumento das vesículas seminais após o terceiro mês ($P<0,05$). Um dos animais apresentou nódulo anecóico na cauda do epidídimo direito no primeiro mês pós infecção que se tornou hiperecócico no quarto mês. A infecção por *B. ovis* resultou em redução na qualidade do sêmen e alterações nos demais órgãos do sistema reprodutivo de carneiros.

Referências Bibliográficas

Ficapal, A.; Jordana, J.; Blasco, J.; et al. Diagnosis and epidemiology of *Brucella ovis* infection in rams. *S. Rum. Res.*, v.

29, p.13–19, 1998.

Santos, R.; Poester, F.; Lage, A. Infecção por *Brucella ovis*. *Cad. Tec. Vet. Zoot.*, v. 47, p. 42-56, 2005.

Palavras-chave: *Brucella ovis*, epididimite, ultra sonografia testicular, espermatozóide ovino.

Keywords: *Brucella ovis*, epididymitis, testicle ultrasound, ram spermatozoa.

Apoio: FAPEMIG e CNPq.

247

Identificação de *Trypanosoma vivax* através da PCR nos tecidos testicular e epididimário de ovinos (*Identification of Trypanosoma vivax by PCR in ovine testicular and epididymal tissues*)

F.S.B. Bezerra^{1*}, H.M. Alves¹, I.R.S. Oliveira¹, A.E. Silva¹, Y.J.M.D. Farias¹, J.S. Batista¹

¹Laboratório de Patologia Veterinária, UFERSA/Mossoró-Brasil.

*E-mail: silvestrebrilhante@hotmail.com

Introdução

Trypanosoma vivax é um hemoparasita patogênico causador de graves problemas reprodutivos em ruminantes, como epididimite e degeneração testicular, podendo gerar subfertilidade ou mesmo esterilidade em rebanhos onde a enfermidade está presente (Adamu et al., 2007). O diagnóstico desse parasita é comumente realizado através da análise do sangue periférico por meio de esfregaços sanguíneos ou pelo método da gota espessa (Bezerra et al., 2008), entretanto dados da pesquisa do parasita em foco extravascular ainda são escassos. Dessa forma, com este trabalho objetivou-se pesquisar a presença de *T. vivax* nos tecidos testicular e epididimário de ovinos através da reação em cadeia da polimerase (PCR).

Material e Métodos

Fragmentos de 1 cm dos testículos e epidídimos direitos e esquerdos de ovinos (n=2) no 30º dia pós infecção (dpi) experimental, e de um ovino controle não infectado foram digeridos em tampão de lise (1% SDS, 100mM de EDTA pH 8.0, 20mM de Tris-HCl pH 8.0 e 350mg/mL de proteinase K) a 37º por 18 horas. Realizou-se centrifugação a 17.530g por 10 minutos e uma alíquota de 300µl do sobrenadante foi processada através de colunas de purificação de DNA (Wizard® DNA Clean-Up System, Promega). As PCRs foram realizadas de acordo com metodologia descrita por Bezerra et al. (2008) para amplificar uma região de 177pb do domínio catalítico do gene da Catepsina L, específica para *T. vivax* e conservada entre diferentes amostras do parasita, utilizando-se 8µL de DNA-alvo em um volume final de 50µL. Uma alíquota de 25µl de cada amostra foi examinada em gel de agarose a 2%.

Resultados e Discussão

A PCR diagnóstica despontou como uma técnica altamente sensível e específica para a detecção do parasita em tecidos, visto que 100% das amostras dos tecidos testicular e epididimário evidenciaram-se positivas para ovinos no 30º dpi, enquanto as amostras do ovino controle se apresentaram negativas. Assim, os dados do presente estudo confirmam a migração extravascular do parasita para órgãos reprodutivos como o testículo e o epidídimo.

Referências bibliográficas

Adamu S, Fatihu MY, Useh MN, Mamman M, Sekoni VO, Esievo KAN. Sequential testicular and epididymal damage in Zebu bulls experimentally infected with *Trypanosoma vivax*. *Vet Parasitol*, v.143, p.29-34, 2007.

Bezerra FSB, Garcia HA, Alves HM, Oliveira IRS, Silva AE, Teixeira MMG, Batista JS. *Trypanosoma vivax* nos tecidos testicular e epididimário de ovinos experimentalmente infectados. *Pesq Vet Bras*, v.28, p.575-582, 2008.

Palavras-chave: Foco extravascular, *Trypanosoma vivax*, danos reprodutivos, ovino.

Keywords: Extravascular foci, *Trypanosoma vivax*, reproductive damage, ovine.

248

Achados patológicos em testículos e epidídimos de ovinos experimentalmente infectados por *Trypanosoma vivax* (*Pathological findings in the testicular and epididymal tissues from rams experimentally infected by Trypanosoma vivax*)

H.M. Alves^{1*}, I.R.S. Oliveira¹, A.E. Silva¹, R.A. Lira¹, J.S. Batista¹, F.S.B. Bezerra¹

¹Laboratório de Patologia Veterinária, UFERSA/Mossoró-Brasil. *E-mail: heron_med_alves@hotmail.com

Introdução

A tripanossomíase por *Trypanosoma vivax* em ruminantes tem sido relatada cada vez com mais frequência no Brasil. Nos casos crônicos da doença, onde o parasita realiza uma migração extravascular, bovinos apresentam alterações reprodutivas como aborto e queda na produção de leite (Nonga e Kambarage, 2009). Porém, estudos que relacionam os efeitos desse parasita sobre o sistema reprodutivo de carneiros ainda são escassos. Assim, objetivou-se descrever as lesões anatomopatológicas nos testículos e epidídimos de ovinos aos 30 dias pós-infecção (dpi).

Material e Métodos

O grupo experimental consistiu em quatro ovinos machos, SRD, de aproximadamente um ano, infectados experimentalmente por via intravenosa com 1 mL de sangue contendo $1,25 \times 10^5$ tripomastigotas de *T. vivax*. O grupo controle consistiu de quatro carneiros não infectados. Trinta dias após a infecção, todos os ovinos foram orquiectomizados. A avaliação macroscópica dos testículos e epidídimos foi realizada, seguida da sua fixação em solução

de Boin por 48 horas. Os testículos foram seccionados na porção média, e os epidídimos na região da cauda para o processamento histológico, onde os tecidos foram cortados a 5µm, corados com hematoxilina-eosina e avaliados sob microscopia óptica (400x). Utilizou-se o teste de Tukey ($P < 0,05$) para a comparação entre os grupos e entre as gônadas direita e esquerda.

Resultados e Discussão

Os testículos direito e esquerdo de todos os ovinos do grupo infectado apresentaram, macroscopicamente, consistência flácida e coloração pálida. Quanto às alterações histopatológicas, os animais infectados apresentaram degeneração testicular bilateral moderada, caracterizada pela redução de células da linhagem germinativa e diminuição da altura do epitélio seminífero, com espermatogônias remanescentes vacuolizadas, com citoplasma granuloso e núcleos em picnose ou cariorrhexe. Apenas um animal do grupo infectado apresentou degeneração testicular acentuada com áreas de ausência do epitélio seminífero e membrana basal espessada, epididimite multifocal com infiltrado perivascular de linfócitos e plasmócitos. Para todas as alterações histopatológicas, não houve diferença significativa ($P > 0,05$) entre as gônadas direita e esquerda. Os animais do grupo controle apresentaram-se dentro da normalidade.

Referências bibliográficas

H.E. Nonga, D.M. Kambarage. Prevalence of bovine trypanosomosis in Morogoro, Tanzania. *Pakistan Journal of Nutrition*, v.8, p.208-213, 2009.

Palavras-chave: Degeneração testicular, epididimite, *Trypanosoma vivax*, pequeno ruminante.

Keywords: Testicular degeneration, epididymitis, *Trypanosoma vivax*, small ruminant.

249

Avaliação de diferentes antibióticos na inibição do crescimento de *Brucella ovis* em sêmen ovino congelado (Evaluation of different antibiotics on inhibiting the growth of *Brucella ovis* in frozen ram semen)

M.N. Xavier², V.S. Moustacas², C.A. Carvalho Júnior², E.A. Costa², F.M. Santanna³, M. Henry¹, R.L. Santos¹

¹Professor da EV-UFGM; ² Aluno de Pós-graduação EV-UFGM; ³Bolsista de IC/CNPq – EV-UFGM. E-mail: mariananx@gmail.com

Introdução

A infecção por *Brucella ovis* é reconhecida como principal causa de epididimite em rebanhos ovinos em várias regiões do mundo, resultando em perdas econômicas significativas devido à subfertilidade/infertilidade e descarte precoce de reprodutores (Santos *et al.*, 2005). A principal via de eliminação da bactéria é através do sêmen, fato que torna os machos reprodutores a principal fonte de disseminação da doença no rebanho. No presente trabalho, objetivou-se testar a eficiência de antibióticos, utilizados em meios diluidores na inibição o crescimento de *Brucella ovis* em sêmen criopreservado de animais positivos por isolamento bacteriano.

Material e Métodos

Foram utilizados 20 ejaculados de um carneiro sabidamente positivo para *B. ovis* por sorologia, cultura e PCR de sêmen. Uma alíquota de 100 µL do sêmen fresco e uma do sêmen diluído em meio sem antibióticos foi plaqueada em meio seletivo (Thayer-Martin modificado) e incubada durante 5 a 7 dias em estufa a 37°C e 5% de CO₂. O meio diluidor base utilizado foi o Tris-gema (Salamon e Visser, 1972), variando-se apenas o antibiótico utilizado. Assim, cada ejaculado foi fracionado em cinco tratamentos: (i) controle – sem antibióticos; (ii) 100 U.I./mL de penicilina + 1000 µg/mL de estreptomicina; (iii) 150 µg/mL de lincomicina; (iv) 600 µg/mL de sulfadiazina; (v) 250 µg/mL de sulfato de gentamicina. O sêmen foi diluído para a concentração final de 150 x 10⁶ spz/mL e envasado em palhetas de 0,25 mL. Após o descongelamento (37°C por 30s), as amostras foram avaliadas quanto à motilidade total (MT), vigor e morfologia celular, além da observação do crescimento bacteriano como descrito anteriormente.

Resultados e Discussão

Não houve diferença significativa entre os tratamentos na motilidade total, vigor e morfologia espermática após o descongelamento. As médias (± d.p.) de MT foram 26,0 ± 12,3%; 21,0 ± 16,1%; 21,0 ± 16,8%; 19,4 ± 15,2% e 31,7 ± 16,8%, para os tratamentos i, ii, iii, iv e v, respectivamente. A média geral do vigor e do percentual de células normais foi de 2,0 ± 0,6 (escala de 1 a 5) e 92,5 ± 3,6%. O crescimento bacteriano foi observado em 100% (20/20), 0% (0/20), 95% (19/20), 100% (20/20) e 5% (1/20) das amostras dos tratamentos i, ii, iii, iv e v, respectivamente. O uso de diferentes antibióticos no meio Tris-gema não influenciou os parâmetros espermáticos avaliados. Para a diluição adotada, a utilização de 100 U.I./mL de penicilina + 1000µg/mL de estreptomicina ou 250µg/mL de gentamicina foi eficiente ($P < 0,0001$) para a inibição do crescimento de *B. ovis* em sêmen ovino criopreservado, enquanto que a utilização de 150µg/mL de lincomicina ou 600µg/mL de sulfadiazina não foi eficaz.

Referências Bibliográficas

Salamon, S.; Visser, D. *Aust. J. Biol. Sci.*, v. 25, p. 605- 618, 1972.

Santos, R. L.; Poester, F. P.; Lage, A. P. *Cad. Téc. Vet. Zootec.*, n.47, p.42-56, 2005.

Palavras-chave: Espermatozóide ovino, criopreservação, brucelose ovina.

Keywords: Ram spermatozoa, cryopreservation, ovine brucellosis.

Apoio financeiro: CNPq e FAPEMIG.

Correlação entre parâmetros zootécnicos e andrológicos de carneiros resultantes do cruzamento das raças Dorper e Santa Inês criados no Estado da Paraíba (*Correlation between andrological and zootechnical parameters of rams resulted of Dorper and Santa Inês crossbreed raised on Paraíba State*)

A.K.G. Andrade¹, A.T. Soares^{1,2}, F.F. Freitas², P.F.B.A. Lemos², M.M.P. Guerra¹

¹Laboratório de Andrologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco - Recife-PE; ²EMEPA – João Pessoa – PB.

E-mail: Annyandrade7@hotmail.com

Introdução

O cruzamento industrial favorece a conjugação das características desejáveis de cada raça (Notter, 2000). Apesar de escassas, as associações entre desenvolvimento ponderal, medidas testiculares e características seminais de carneiros mestiços podem ser utilizadas como critério de seleção de reprodutores. Objetivou-se correlacionar parâmetros andrológicos e zootécnicos de ovinos resultantes do cruzamento das raças Dorper e Santa Inês criados no Estado da Paraíba.

Material e Métodos

Foram utilizados 19 ovinos, machos, mestiços das raças Dorper e Santa Inês, criados em sistema semi-intensivo, alimentados a pasto e suplementados com silagem de milho, sorgo e concentrado, além de água e sal mineral *ad libitum*. Foram estudados peso ao nascer (PN), ao desmame (PD) e à puberdade (PP;170d), bem como circunferência escrotal, turbilhonamento, motilidade e vigor (170 d). Amostras de sêmen foram colhidas por eletro-ejaculação e avaliadas (CBRA, 1998). Os dados foram analisados por correlação de Pearson e teste t-Student ($P < 0,01$).

Resultados e Discussão

Observou-se alta correlação entre parâmetros zootécnicos e seminais (Tabela 1), corroborando com Almeida et al. (2003), usando cordeiros da raça Santa Inês. Em virtude da elevada correlação, conclui-se que peso ao desmame, peso à puberdade e circunferência escrotal podem ser usados como critérios de seleção de carneiros jovens mestiços das raças Dorper e Santa Inês.

Tabela 1- Correlação entre parâmetros zootécnicos e andrológicos de carneiros mestiços

Parâmetros	PN (Kg)	PD (Kg)	PP(Kg)	CE (cm)	T (1-5)	M (%)	V (1-5)
PD (Kg)	0,62*						
PP (Kg)	0,38	0,86*					
CE (cm)	0,51	0,83*	0,82*				
T (1-5)	0,55	0,70*	0,72*	0,78*			
M (%)	0,51	0,73*	0,80*	0,84*	0,93*		
V (1-5)	0,48	0,81*	0,84*	0,91*	0,88*	0,93*	
C ($\times 10^6$)	0,52	0,65*	0,66*	0,68*	0,85*	0,79*	0,78*

PN= peso ao nascer; PD = peso ao desmame; P = peso à puberdade; CE = circunferência escrotal; T = turbilhonamento; M = motilidade; V = vigor; C = concentração espermática. * $P < 0,01$

Referências bibliográficas

Almeida AK, Bittencourt RF, Ribeiro Filho AL. Circunferência escrotal e medidas corporais em carneiros Santa Inês de várias idades. *Rev. Bras. Rep. Anim.*, v.27, p.197-199, 2003.

Notter DR. Development of sheep composite breeds for lamb production in the tropics. In: SINCORTE, 1, João Pessoa. *Anais...* EMEPA, p. 141-150, 2000.

Palavras chave: Carneiros, cruzamento, sêmen.

Keywords: Rams, crossbreed, semen.

Utilização de dietas de flushing durante protocolos curtos de indução e sincronização de estro em ovelhas da raça Santa Inês (*Use of diets of flushing during short protocols of induction and synchronization of estrous in Santa Inês sheep*)

I.R. Soares¹, S.S. Venturi², D.R. Oliveira², E.C. Cardoso², M.C.P. Rogério³, E.K.N. Arashiro⁴, J.F. Fonseca, F.Z. Brandão²

¹PIBIC/CNPq – FV/UFF; ²Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária – FV/UFF; ³FZ/UVA; ⁴EV/UFGM;

⁵Embrapa Caprinos e Ovinos. E-mail: fzbr@vm.uff.br

Introdução

Em ovinos a eficiência reprodutiva é o produto de três fatores: fertilidade, prolificidade e sobrevivência dos cordeiros. A prolificidade é determinada pela taxa de ovulação e, sendo esta passível de manipulação pela nutrição, observa-se na literatura diversos artigos que utilizam o tratamento nutricional por curto período de tempo com o intuito de aumentar a taxa de ovulação. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do flushing em ovelhas da raça Santa Inês durante um

protocolo hormonal de curta duração.

Material e Métodos

Foram utilizadas 43 ovelhas da raça Santa Inês, que foram divididas em dois grupos: G_m ovelhas que receberam dietas de manutenção (37,35 ± 5,84Kg; 2,96 ± 0,26; n=20) e G_f ovelhas que receberam dietas 20% acima dos requisitos de manutenção (36,59 ± 5,59kg; 2,74 ± 0,35; n=23). As dietas foram calculadas para atenderem os requisitos de manutenção e 20% acima da manutenção conforme o NRC 2007. As fêmeas mantidas em baias por um período de 30 dias, sendo que nos últimos dias receberam os implantes de progesterona (Easi-Breed – CIDR, Pfizer Saúde Animal) por um período de seis dias, sendo no penúltimo dia, estas receberam 300 UI de eCG (Novormon[®], Schering-Plough) e 12,5 mg de dinoprost (Lutalyse). Após 12 horas da retirada dos implantes, foram realizados exames ultra-sonográficos para diagnosticar o momento da ovulação, assim como o número de ovulações. Foram também realizadas rufiações.

Resultados e Discussão

A taxa de animais que ovularam no grupo G_m foi de 60% (6/10) e 80% (8/10) no G_f (P>0,05). A taxa de ovulação foi de 1,00 ± 0,00 e 1,13 ± 0,35 para G_m e G_f, respectivamente (P>0,05). O diâmetro do maior folículo (mm) nos grupos G_m e G_f foi de 6,00 ± 3,16 e 5,93 ± 6,23, respectivamente, não havendo diferenças (P>0,05). O intervalo (min) entre a retirada do implante intravaginal a ocorrência da ovulação foi de 52,77 ± 14,81 no grupo G_m e de 59,03 ± 8,50 no grupo G_f, não havendo diferença entre os grupos (P>0,05). Quanto à manifestação do estro, em ambos grupos, 60% dos animais apresentaram estro. Quanto ao intervalo da retirada do implante ao início do estro, os grupos G_m e G_f apresentaram os resultados de 30,00 ± 15,49 e 30,00 ± 13,35 horas (P>0,05). Quanto à taxa de animais ovulando, taxa de ovulação e o intervalo da retirada do implante à ovulação foram semelhantes aos encontrados por Brandão et al. (2007) que também utilizaram protocolo hormonal semelhante ao presente estudo. Conclui-se que a dieta oferecida aos animais não foi suficiente para aumentar as características ultra-sonográficas avaliadas, principalmente a taxa de ovulação.

Referências bibliográficas

Brandão, FZ, Cavalcanti, AS, Pinna, AE, et al. 2007. Efeito da reutilização de implantes de progesterona sobre o momento e número de ovulações em ovelhas. In: Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, 17, 2007, Curitiba. Anais.... Belo Horizonte: CBRA, 2007.p. 214. Resumo.

Palavras-chave: ovinos, sincronização de estro, suplementação alimentar.

Keywords: ewes, estrous synchronization, flushing.

Apoio financeiro: FAPERJ (E-26/170.190/2006).

252

Caracterização morfológica do óstio da cérvix ovina da raça Santa Inês (*Morphological characterization of the external cervix of the Santa Inês sheep*)

J.F. Cruz¹, M.H.C. Cruz², M.R. Teixeira Neto¹, L.E.B. Souza¹, R.C.N. Ferraz¹

¹Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia; ²Universidade Estadual de Santa Cruz. E-mail: jfcruz@uesb.br

Introdução

A inseminação artificial (IA) se constitui em uma importante ferramenta para programas de melhoramento dos rebanhos. No entanto, quando se adota a técnica da IA transcervical (IATC) em ovinos, utilizando sêmen congelado, as taxas de concepção alcançadas são consideradas insatisfatórias em virtude de particularidade anatômica da cérvix das ovelhas, cuja disposição dos anéis dificulta ou impede a passagem da pipeta inseminante. O óstio cervical, projetado para dentro da vagina, é circundado por uma ou mais dobras de tecido fibroso, dificultando a sua visualização no momento da IA. A disposição dessas dobras é extremamente variável, o que pode explicar os diferentes resultados da IATC em ovelhas. O objetivo deste estudo foi verificar a morfologia do óstio da cérvix em ovelhas da raça Santa Inês.

Material e Métodos

Este estudo foi realizado na Fazenda Oásis, município de Barra do Choça, Bahia (14°51'58" S; 40°34'44" O). Foram utilizadas 83 fêmeas ovinas da raça Santa Inês, com idade média 38±7,0 meses e escore corporal de 3,3 ± 0,4. A caracterização anatômica do óstio da cérvix foi realizada no momento da IA, através de visualização direta, após a abertura do canal vaginal por meio de um espéculo, munido de uma fonte de luz. A classificação anatômica considerou cinco tipos de óstio cervical segundo Kershaw et al. (2005): a) bico de pato: duas dobras opostas de tecido cervical, protrusivas para a vagina com uma abertura horizontal e central; b) fenda: uma fenda, sem protrusão para a vagina, mostrando a entrada do canal cervical; c) rosa: várias dobras cervicais, protrusivas para a vagina, mascarando a entrada do canal cervical; d) cratera: uma papila protrusa em ápice para a vagina; e) aba: uma dobra de tecido cervical, protrusa lateralmente para a vagina, semelhante a uma aba de chapéu.

Resultados e Discussão

A frequência dos tipos de óstio cervical cratera, aba, fenda, bico de pato, rosa foram 22,90%; 20,48%; 20,48% 18,07%; 18,07%, respectivamente. Essa distribuição dos diferentes tipos de óstio diverge dos achados de Cruz Jr. (2006), que encontrou maior frequência da forma bico de pato (51%) e menores valores para aba (10%) e cratera (10%). Aisen (2004) ressalta que o óstio do tipo fenda apresenta maior obstáculo à penetração da pipeta inseminante e maior refluxo de sêmen para o fundo da vagina. Considerando que a forma do óstio cervical pode interferir nos resultados da IATC, a distribuição relativamente uniforme dos cinco diferentes formas possibilita o estabelecimento de critérios para seleção de fêmeas para programas de inseminação artificial transcervical.

Referências bibliográficas

- Aisen, E.G., Reproducción ovina y caprina. 1ª ed. Buenos Aires: Inter-Médica, 2004. 216p.
- Cruz Junior, C.A. Caracterização anatômica e histológica da cervix de ovelhas da raça Sana Inês. Brasília: Universidade de Brasília, 2006. 62p. Dissertação (Mestrado C. Agrárias).
- Kershaw, C.M. et al., The anatomy of the sheep cervix and its influence on the transcervical passage of an inseminating pipette into the uterine lumen. *Theriogenology*, v.64, p 1225-1235, 2005.
- Palavras-chave:** Ovinos, Inseminação artificial, morfologia cervical.
- Keywords:** Sheep, artificial insemination, cervical morphology.

253

Morfometria e função luteais em ovelhas Santa Inês cíclicas submetidas a protocolo de sincronização de estro com medroxiprogesterona e *d*-cloprostenol associados ao benzoato de estradiol e lecirelina (*Morphometry and luteal functions in Santa Ines cyclical ewe subjected protocol of estrus synchronization with medroxyprogesterone and d-cloprostenol associated with estradiol benzoate and Lecirelin*)

C.E.A. Biscarde, S.D. Bicudo, L.F. Crocomo, L.O. Magalhães, R.F. Bittencourt, D.O.L. Ferreira, C.D. Monteiro, E. Oba

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - FMVZ – UNESP – Botucatu. E-mail: ceabiscarde@yahoo.com.br

Introdução

O conhecimento da fisiologia do ciclo estral e a influência de seu controle na função luteal são necessários para se alcançar adequada eficiência nos resultados almejados. Dentre os hormônios utilizados no controle do ciclo estral encontra-se o GnRH e seus análogos como a lecirelina, utilizados na indução e sincronização da ovulação em bovinos, porém seus efeitos na função luteal das ovelhas submetidas a sincronização do estro não estão totalmente elucidados e este foi objetivo do presente estudo.

Material e Métodos

Vinte e quatro ovelhas Santa Inês cíclicas, alimentadas diariamente com 600g de ração concentrada, feno e água *ad libitum*, foram divididas em quatro grupos: Grupo controle (G1; n=06) – com administração de 45µg de *d*-cloprostenol (Prolise®-Tecopec) no dia 0, colocação da esponja vaginal impregnada com acetato de medroxi-progesterona (MAP) no dia 3, retirada da esponja juntamente com aplicação de 400UI de eCG e 45 µg de *d*-cloprostenol no dia 7; Grupo BE (G2; n=06) - submetido ao mesmo tratamento do G1, adicionando-se a aplicação de 1 mg de benzoato de estradiol (BE) no dia 1; Grupo GnRH (G3; n=06) – tratado de forma similar ao G1 com a aplicação de 25µg de lecirelina (Gestran plus® - Tecopec), 30 horas após a retirada da esponja; Grupo BE-GnRH (G4; n=06) - tratado de forma similar ao G1, com a administração de 1 mg de BE no dia 1 e 25µg de lecirelina 30 horas após a retirada da esponja. As ovelhas tiveram os ovários monitorados através de ultrassonografia (US) transretal (SSD-500, Aloka Co®), com auxílio de probe prostática de 7,5 MHz. As avaliações foram feitas a cada oito horas entre os dias 0 e 3 e do dia 7 até a observação da ovulação. Quatro dias depois de constatada a ovulação foi realizada colheita de sangue para quantificação dos níveis séricos de progesterona (P₄), por radioimunoensaio e imagens ultrassonográficas foram realizadas, para mensuração da área do corpo lúteo (CL), em elipse formada pelos pontos horizontal e vertical da imagem da estrutura (A^{eli}), e pelo contorno do seu perímetro (A^{per}). Para análise estatística empregou-se o Procedimento MEANS e GLM (com P<0,05), do pacote estatístico SAS (v.5.0, 1996).

Resultados e Discussão

A ovulação foi contatada em 23 dos 24 animais, uma ovelha do G4 não ovulou e foi excluída do experimento. O tamanho médio do maior folículo pré-ovulatório foi de 7,3mm (G1); 7,0mm (G2); 6,8mm (G3); 7,4mm (G4) não havendo diferença entre eles (P>0,05). Constatou-se elevada correlação (r=0,98, p<0,0001) entre as mensurações da A^{eli} e A^{per} com médias de 6,78 e 6,95mm² (G1); 5,41 e 5,71mm² (G2); 9,31 e 9,98mm² (G3) e 6,62 e 7,1mm² (G4), respectivamente. No quarto dia pós-ovulação estabeleceu-se correlação das áreas luteais (r=0,64; A^{eli} e r=0,65; A^{per}; P<0,001) com os níveis séricos de progesterona que em média foram de 2,37ng/mL (G1); 1,50ng/mL (G2); 3,22ng/mL (G3) e 1,99ng/mL (G4). Mee *et al.* (1993) encontraram maiores níveis de progesterona sérica em vacas leiteiras tratadas com GnRH durante a manifestação do estro. Neste experimento não foi constatada diferença significativa (P>0,05) entre os grupos em que se utilizou GnRH (G3 e G4) frente ao controle (G1). Baseando-se nos níveis de P₄, o uso do BE no início do protocolo sem a aplicação GnRH, prejudicou a funcionalidade do CL (G1=G3= G4 > G2; P<0,05). Há necessidade de mais estudos com ampliação do tamanho amostral para se demonstrar a eficácia do uso da lecirelina sobre a melhor funcionalidade do CL em ovelhas sincronizadas ao estro.

Referências bibliográficas

- Mee, M.O.; Stevenson, J.S.; Alexandre, B.R.; Sasser, R.G. Administration of GnRH at estrus influences pregnancy rates, serum concentrations of LH, FSH, estradiol-17 beta, pregnancy-specific protein B, and progesterone, proportion of luteal cell types, and in vitro production of progesterone in dairy cows. *Journal of Animal Science*, v.17, p.185-198, 1993.

Palavras Chave: Ovelhas; GnRH; Função luteal.

Keywords: Ewe; GnRH; Luteal function.

Agradecimentos: CNPq e TECNOPEC®, na pessoa da Drª Isabel Santos

PCR fetal sexing using sheep amniocytes at different stages of pregnancy (*Sexagem fetal por PCR utilizando amniócitos ovinos em diferentes estágios da gestação*)

A.N. Melo¹, E.R. Santos Júnior¹, G.M.L. Holanda¹, M. Adrião¹, A. Wischral¹

¹Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE. E-mail: arthurnascimento@msn.com; aurea@dmv.ufrpe.br

Introduction

The most well-known molecular methods for sexing involve the visualization of sex chromosomes through a karyotype (cytogenetics) or the detection of a specific DNA sequence of the Y chromosome following PCR amplification (LUZ et al., 2000). The target segments for amplification in the determination of specific chromosome fragments include genes SRY (located in the long arm of the Y chromosome) and Aml-X (found in chromosome X). The possibility of simultaneously amplifying corresponding sequences from both chromosomes makes PCR an effective and reproducible method for determining sex (PHUA et al., 2003). Makondo et al. (1997) successfully identified fetal sex in bovines based on amniotic and allantoic fluid using the PCR method. However, there are no known studies employing this method on small ruminants. Thus, the aim of the present study was to identify prenatal genetic sex using sheep amniotic fluid obtained through ultrasound-guided amniocentesis in uteri at different stages of pregnancy.

Material and Methods

Forty-five samples (10 ml) of amniotic fluid were collected from 39 pregnant uteri – 33 simple pregnancies and six twin pregnancies (two of twin males, two of twin females and two with both sexes). Following amniocentesis, fetuses were removed from the uterus, measured with a caliper (crown-rump length) and examined for the morphological determination of sex. DNA was extracted using the phenol-chloroform technique and a multiplex polymerase chain reaction was performed for each sample. Amplified products were separated by electrophoresis in 2% agarose gel and stained with ethidium bromide.

Results and Discussion

Among the 45 samples analyzed, 24 (53.33%) formed two bands (116 pb and 300 pb), which corresponded to the amplification of the SRY and Aml-X gene sequences, respectively, characterizing the fetuses as males. Conversely, 21 samples (46.66%) only amplified the 300 pb segment, which characterizes females. In all cases, sex was confirmed through a morphological analysis of the fetuses, with a single exception, in which the genital tubercle had not yet migrated; consequently, the genitalia had not yet begun to form and the sample was thus sexed as a female by the PCR method. There were no differences between the three age groups regarding fetal sexing, as it was possible to extract DNA and amplify the desired segments from all samples. The PCR technique using SRY and Aml-X markers is a fast, reliable method for the prenatal genetic sexing of amniotic cells from sheep uteri at different stages of pregnancy.

References

Luz MR, Watanabe YF, Ferro JA, Ferro MIT, Mauro SMS, Hossepian de Lima VFM, Franceschini PH. Sexing of in vitro fertilized bovine embryos by multiplex PCR. *Braz J Vet Res Anim Sc* [online] 2000, 37 (6) <http://www.scielo.br>

Makondo K, Amiridis GS, Jeffcoate IA, O'shaughnessy PJ, Boyd JS, Paterson C, Robertson L. Use of polymerase chain reaction to sex the bovine fetus using cells recovered by ultrasound-guided fetal fluid aspiration. *Anim Reprod Sci* 1997; 49:125-133.

Phua ACY, Abdullah RB, Mohamed Z. A PCR- Based sex determination method for possible application in caprine gender selection by simultaneous amplification of the Sry and Aml-X genes. *J Reprod Dev* 2003; 49: 307-311.

Keywords: Aml-X, SRY, amniocentesis.

Palavras-chave: Amelo-X, SRY, amniocentese.

Efeito da suplementação com Vitamina E e Selênio sobre taxa da prenhez em ovelhas (*Effect of supplementation with vitamin E and selenium on pregnancy rate in ewes*)

C.K. Kiya¹, P.A. Dutra¹, M.V. Resende¹, L.E.P. Martins¹, R.M. Gomes¹, A.L. Ribeiro Filho¹, M. Chalhoub¹, A.L. Gusmão¹

¹Escola de Medicina Veterinária - UFBA, Salvador, BA, CEP: 40170-110 Brasil. E-mail: clau_kiya@yahoo.com.br

Introdução

A utilização de antioxidantes como a Vitamina E e o Selênio (Se) na alimentação tem prevenido algumas desordens na reprodução da fêmea. O Se possui ação no metabolismo hormonal da progesterona, estimulando a síntese de prostaglandina E, que protege o corpo lúteo e mantém o ambiente uterino o mais sadio para receber o embrião (LIMA et al., 2007). A vitamina E é importante para o desenvolvimento do embrião. Quando esta inexistente na dieta, podem ocorrer morte e reabsorção embrionária. O objetivo desse trabalho foi avaliar a influência da suplementação alimentar com vitamina E e Se na taxa de prenhez em receptoras SRD inovuladas com embrião criopreservado.

Material e Métodos

Foram utilizadas 886 ovelhas como receptoras de embriões congelados da raça Dorper, com idades entre 2 a 5 anos. Os

animais foram divididos em dois grupos: O G1 (grupo controle, n=558) e o G2 (n=328) foram mantidos sob o mesmo regime semi-intensivo de criação, sendo que no G2 os animais foram suplementados com vitamina E e Se (10g/dia de um suplemento comercial a base de vitamina E e Se, via oral). Inseriu-se uma esponja com 60mg de Acetato de Medroxiprogesterona, retirando-se no dia 13 do protocolo, e administrados 300 UI de eCG. No dia 20 os animais foram mantidos em jejum total e no 21º, as fêmeas foram previamente anestesiadas, e, posteriormente, procederam-se as transferências com os embriões descongelados. O diagnóstico de gestação foi realizado 35 dias após as transferências. Os dados foram analisados pelo Teste do Qui-quadrado com nível de significância de 5%.

Resultados e Discussão

Das 328 ovelhas do G2, 44,5% apresentaram diagnóstico de prenhez positivo, enquanto que os animais do G1 apresentaram maior percentual, com 59,3% (P<0.0001). Sánchez et al (2008) observaram uma menor taxa de concepção em animais suplementados com Se (64%) do que as ovelhas que não foram tratadas (84%). Esse efeito negativo está, provavelmente, relacionado à alta mortalidade embrionária causada pela toxicidade do Se. Conclui-se que a vitamina E e o selênio não foram eficientes para melhorar a taxa de prenhez em programa de TE em ovelhas.

Referências bibliográficas

Lima, L.G.; Domingues, J.L. Uso do selênio na produção de bovinos. Revista Eletrônica Nutritime. v., 4, n. 4, p. 462-474, 2007.

Sánchez, J.; Jiménez, A.; Regodón, S.; Andrés, S. Inhibitory effect of selenium supplementation on the reproductive performance in synchronized Merino sheep at range conditions in a selenium-deficient area. *Reproduction in Domestic Animals*. v., 43, p. 328-332, 2008.

Palavras-chave: Vitamina E, selênio, transferência de embrião.

Keywords: Vitamin E, selenium, embryo transfer.

256

Desempenho reprodutivo de ovelhas Santa Inês após sincronização de estro com diferentes progestágenos no litoral sul da Bahia (*Reproductive performance of Santa Inês ewes after estrus synchronization with different progestagens on South littoral of Bahia*)

C.T.G. Alvares, A.J. Del Rei, C.C. Bartolomeu, J.A. Carvalho, F.T.B. Mello

DCAA – UESC, Ilhéus, BA. E-mail: caioalvares@uol.com.br

Introdução

A profissionalização da ovinocultura passa pela adoção de biotécnicas como sincronização de estro, o que permite a otimização da produtividade do rebanho. O presente estudo teve como objetivo avaliar o desempenho de dois protocolos de sincronização de estro em ovelhas Santa Inês criadas em sistema extensivo sob o clima tropical úmido.

Material e Métodos

No T1, 11 ovelhas receberam no D0 metade de um implante auricular a base de norgestomet (Crestar®), com 1,5 mg do progestágeno, no dia 7 receberam 125µg de cloprostenol sódico por via intramuscular (Ciosin®) e 300 UI de eCG (Novormon®), com retirada do implante auricular no dia 9 e cobertura natural dos dias 10 a 12. O T2 consistiu em sincronizar 09 ovelhas no dia 0 com implantação de esponja vaginal com acetato de medroxiprogesterona (MAP, 60mg, Progespon®) retirada da mesma no dia 14 com aplicação intramuscular de 200 UI de eCG, cobertura natural dos dias 15 a 17. Foram avaliados os parâmetros: ovelhas em estro, intervalo retirada do progestágeno e estro (RP – estro) e fertilidade ao parto.

Resultados e Discussão

Tabela 1: Ocorrência de estro, intervalo retirada do progestágeno e estro e fertilidade ao parto de ovelhas Santa Inês sob diferentes protocolos de sincronização de estro.

Tratamentos	Ovelhas em estro	RP – estro (h)	Fertilidade parto
T1	90,9% (10/11)	25,2 ± 12,2	90,9% (10/11)
T2	100% (9/9)	24,7 ± 6,4	88,8% (8/9)

Em ambos os tratamentos, o desempenho reprodutivo foi satisfatório, não se observando diferença significativa para nenhum parâmetro estudado. Ovelhas Santa Inês sofrem pouca influência da sazonalidade reprodutiva, o que permite utilização de protocolos mais baratos. Husein; Ababneh (2008) demonstraram protocolos mais complexos com MAP visando resultados de fertilidade em ovelhas sazonais. A utilização de metade do implante de norgestomet pareceu suficiente para proporcionar resultados de estro e fertilidade. Cline et al. (2001) utilizaram elevadas dosagens de eCG e prostaglandina f 2 alfa para obtenção de resultados.

Referências bibliográficas

Cline, MA, Ralston, JN, Seals, RC, Lewis, GS Intervals from norgestomet withdrawal and injection of equine chorionic gonadotropin or P.G. 600 to estrus and ovulation in ewes. *J.Anim Sci*, v.79, p. 579-584, 2001

Husein, MQ, Ababneh, MM A new strategy for superior reproductive performance of ewes bred out-of-season utilizing progestagen supplement prior to withdrawal of intravaginal pessaries. *Theriogenology*, v.69, p.373-386. 2008.

Palavras-chave: fertilidade, MAP, norgestomet

Keywords: fertility, MAP, norgestomet

257

Efeito do peso e escore de condição corporal sobre a resposta superovulatória de ovelhas na contra-estação reprodutiva, em Alegre-ES (*Effect of body weight and body condition score on ewe superovulatory response in nonbreeding season in Alegre-ES*)

M.C. Santos¹, V.S. Arêas¹, F.B. Miranda¹, E.D. Souza², C.R.F. Guaitolini¹, M.T. Oliveira³, J.G. Giannotti³, M.R. Luz³

¹PPGCV – UFES, Alegre - ES (Bolsistas FAPES/CAPES/PETROBRAS/CNPq), ²PPGBiotec – UFES, Vitória – ES,

³Depto. Med. Vet. - UFES – Alegre – ES. E-mail: mcs_vet@gmail.com

Introdução

O peso corporal em ovinos é uma medida pouco eficaz para se avaliar o estado nutricional, e em vários trabalhos têm-se utilizado a avaliação do escore de condição corporal (ECC) como um método eficaz e simples para se obter o estado nutricional do rebanho (GUNN et al. 1984). Objetivou-se com este estudo avaliar o efeito do peso e do ECC sobre a resposta superovulatória de ovelhas, em Alegre-ES.

Material e Métodos

Foram utilizadas oito ovelhas mestiças Santa Inês, com peso de $33,29 \pm 6,71$ Kg e ECC de $2,71 \pm 0,95$. As ovelhas receberam esponja vaginal contendo 60 mg de acetato de medroxiprogesterona (Progenspon[®]) no D₀. A partir do D₁₂, receberam aplicações de FSH (Pluset[®]), em doses decrescentes, duas vezes ao dia, por quatro dias, totalizando 250 UI por ovelha. Na sexta aplicação de FSH retirou-se a esponja e aplicou-se 150 µg de D-Cloprostenol (Sincrosin[®]) e 400 UI de eCG (Novormon[®]), por via IM/animal. As ovelhas foram acasaladas e a contagem dos corpos lúteos (avaliação superovulatória) foi realizada no D₇ após o início do estro, por laparotomia. A análise estatística constou de correlação linear entre as variáveis peso, ECC e resposta superovulatória pelo teste *t* de Student, pelo programa *Matlab*.

Resultados e Discussão

Foi encontrada correlação significativa entre peso e resposta superovulatória ($r = 0,80$) ($p \leq 0,05$), mas não entre ECC e resposta superovulatória ($r = 0,42$) ($p \geq 0,10$), indicando que ovelhas mais pesadas tendem a responder melhor aos tratamentos superovulatórios, concordando com Bartlewski et al. (2008), que inferiram que a resposta superovulatória em ovelhas é dependente de fatores como idade, estação reprodutiva, raça e estado nutricional. Entretanto, é possível que o efeito não significativo do ECC deste estudo esteja relacionado a um animal, o qual possuía ECC 2,0 e apresentou 17 corpos lúteos após a superovulação, promovendo assim uma discrepância nos dados dos animais de baixo ECC. Conclui-se que, neste estudo, a variável peso influencia positivamente a resposta superovulatória em ovelhas mestiças Santa Inês, em Alegre – ES.

Referências bibliográficas

Gunn RG, Maxwell TJ, Sim DA, Jones JR, James ME. The effect of level of nutritional prior to mating on the reproductive performance of ewes of two Welsh breeds in different levels of body condition. *An Prod*, v.52, p.157-163, 1991.

Bartlewski PM, Alexander BD, King WA. Ovarian and endocrine determinants of superovulatory responses in anestrus ewes. *Small Rum Res*, v. 75, p.210–216, 2008.

Palavras-chave: peso, escore de condição corporal, resposta superovulatória, ovelha.

Keywords: body weight, body condition score, superovulatory response, ewe.

258

Novo dispositivo intravaginal para sincronização de estro em ovinos (*New intravaginal device for estrous synchronization in sheep*)

P.C. Santos Neto¹, L.T. Martins¹, F.C. Zago¹, J. Machado Jr.¹, M. Bertolini¹, A. Mezzalira¹, A.D. Vieira²

¹Centro Agroveterinário - CAV / Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC / ²Universidade Federal de Pelotas – UFPEL E-mail: mezzalira@cav.udesc.br

Introdução

A sazonalidade reprodutiva dos ovinos determina a necessidade de intervenção no ciclo sexual com objetivo de maximizar a produtividade. Porém, o número de estratégias/dispositivos desenvolvido para sincronização do ciclo desses animais é bastante limitado. Atualmente, o CIDR[®] e as esponjas impregnadas com progestágenos são os dispositivos intravaginais disponíveis para sincronização de estro em ovelhas. Entretanto, restrições relativas ao custo e reações locais (aderência, vaginite) tornam necessária a criação de novas alternativas. Desta forma, o objetivo desse estudo foi determinar a viabilidade do emprego de absorventes higiênicos internos (Ob[®]) impregnados com progestágenos, como dispositivos para sincronização do estro em ovelhas.

Materiais e Métodos

Ovelhas cruza Texel/Ile de France foram homogeneamente divididas em três grupos de 20 animais: grupo CIDR[®] (2^o uso), grupo esponja e grupo OB, e submetidas ao processo de sincronização. As esponjas e os Ob[®] foram impregnados com 60 mg de acetato de medroxi-progesterona. Na inserção (D0) e remoção (D10) dos dispositivos, procedeu-se a coleta

de conteúdo do fundo de saco vaginal para determinação do número de UFC/mL em cada grupo (Suárez, 2006). Ao final do protocolo foi determinado o índice de perda dos dispositivos, grau de vaginite/aderência e aplicado 0,135mg de D-Cloprostenol. O estro foi identificado com o auxílio de machos marcadores usando coletes bloqueadores da cópula.

Resultados

Não houve perda de dispositivos em nenhum dos grupos. O número de UFC/mL aumentou em todos os grupos, sendo no entanto significativamente maior no grupo esponja. Na avaliação da resposta local, o grupo CIDR[®] foi o que apresentou as menores alterações: sem resistência a remoção (aderência grau -) e sem secreção purulenta. O grupo esponja foi o que apresentou maiores alterações: resistência moderada a remoção (aderência grau ++), com alguns casos de fragmentação da esponja e grande quantidade de secreção purulenta com estrias de sangue e odor fétido. No grupo OB as alterações foram intermediárias: resistência leve à remoção (aderência grau +), com alguns casos de deformação do dispositivo e pequeno acúmulo de secreção de aspecto seroso/leitoso sem odor. Os três dispositivos possibilitaram uma adequada manifestação de estro (CIDR = 55%; esponja = 85% e OB = 75%). Com base nos resultados obtidos, conclui-se que o absorvente higiênico interno (Ob[®]) impregnado com acetato de medroxiprogesterona é uma alternativa viável para utilização como dispositivo intravaginal para sincronização de estro em ovelhas.

Referências bibliográficas

Suárez, G., et al., 2006. Small Ruminant Research, 63:39-43.

Palavras-chave: progestágenos, dispositivo intravaginal, vaginite, UFC, ovelha.

Keywords: progestagen, intravaginal device, vaginitis, UFC, ewe.

259

Efeito do protocolo de sincronização da primeira onda folicular sobre a resposta a superovulação em ovelhas da raça Santa Inês (*Effect of first follicular wave synchronization protocol on superovulatory response in Santa Inês ewes*)

E.K.N. Arashiro¹, J.F. Fonseca², M. Henry¹, L.M. Figueira³, J.V.P. Magão³, D.R. Oliveira³, L.V.Esteves³, F.Z. Brandão³

¹Escola de Veterinária/UFMG; ²Embrapa Caprinos e Ovinos; ³Faculdade de Veterinária/UFF. E-mail: eduardoarashiro@hotmail.com

Introdução

A transferência de embriões foi objeto de muitos estudos na espécie bovina enquanto este tema recebeu menos atenção na espécie ovina. Atualmente, em função da expansão da demanda de transferência de embriões em ovinos há uma necessidade crescente de se aprimorar a técnica e melhor compreender as variáveis fisiológicas associadas ao incremento da eficiência da mesma. O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito da forma de sincronização da onda folicular sobre a resposta ovariana ao tratamento superovulatório (SOV) e a qualidade das estruturas recuperadas.

Material e Métodos

Foram utilizadas 15 ovelhas da raça Santa Inês, múltiparas, com idade variando entre 2 a 5 anos e peso vivo e escore da condição corporal (escala de 1 a 5) médio de 44,9 Kg e 3,0, respectivamente. Os animais foram aleatoriamente distribuídos em três grupos (n=5/grupo) realizando-se três repetições para cada grupo. Para o grupo I (GI), foi utilizado por 14 dias um implante vaginal (D0 = dia da inserção) impregnado com progestágeno (60mg MAP), iniciando o tratamento SOV no D12. As fêmeas do segundo (GII) e terceiro (GIII) grupos tiveram o cio base sincronizado usando um implante vaginal (D0=dia da inserção) que permaneceu por seis dias, no D5 foi aplicado 300UI de ECG e 0,025 mg de d-cloprostenol (GII) adicionado de uma aplicação de GnRH (0,025mg) 12 horas após a retirada do implante (GIII). O processo de superovulação no GII e GIII iniciou-se 48 horas após a retirada do implante de progesterona. O tratamento superovulatório dos três grupos foi realizado com FSH (Folltropin[®], Bioniche, Canadá) em dose decrescente aplicados à cada 12 horas [50/50, 30/30 e 20/20 mg]. Uma dose de cloprostenol foi aplicada juntamente com a 5ª dose de FSH. Os animais dos grupos I e II receberam um novo implante vaginal no início do tratamento SOV, que foi retirado no momento da aplicação da segunda dose de prostaglandina. Após a última dose de FSH as fêmeas em cio foram submetidas à monta natural à cada 12 horas por machos de fertilidade conhecida.

Resultados e Discussão

O número de animais que responderam ao tratamento superovulatório (>4 CLs) não diferiu entre os grupos I, II e III (64,29% - 9/14; 66,67% - 7/15 e 64,29% - 9/14, respectivamente). O número de CL (10,62±3,78; 12,71±3,64; 10,00±4,06) e de estruturas coletadas (9,25±3,92; 9,25±3,92; 9,25±3,92) também não diferiram entre os três tratamentos. Não foi observada diferença em relação ao número de embriões considerados viáveis entre os grupos (6,50±4,53; 3,00±5,32; 6,55±6,71; respectivamente). Não houve qualquer diferença na resposta ovariana e nem na qualidade das estruturas recuperadas após superovulação de ovelhas Santa Inês entre os tratamentos utilizados para sincronização da primeira onda de crescimento folicular.

Palavras-chave: onda folicular, superovulação, ovino.

Keywords: follicular wave, superovulation, ovine.

Apoio financeiro: FAPERJ (E26/171.065/2006).

260

Eficiência do Eazi-Breed CIDR[®], em protocolos de curta e longa duração, novo e reutilizado para sincronização do estro e da ovulação em ovelhas da raça Santa Inês submetidos à monta dirigida (*Efficiency of Eazi-Breed CIDR[®], protocols in short and long term, new and reused for synchronization of estrus and of ovulation in sheep race of Santa Inês submitted to mounts addressed*)

E.V. Nascimento Filho¹, S.I. Guido², J.M. Almeida-Irmão¹, C.R. Aguiar Filho¹, L.M. Freitas Neto¹, Z.B. Barreto³, P.P. Machado¹, P.F. Lima¹, M.A.L. Oliveira¹

¹Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE; ²Pesquisador do Instituto Agronômico de Pernambuco – IPA;

³Médico veterinário autônomo. E-mail: paulolima4045@hotmail.com

Introdução

A raça Santa Inês pelo seu potencial produtivo e reprodutivo, alta adaptabilidade e rusticidade, destacam-se como uma alternativa viável para a produção de carne e pele (Couto, 2001). O desempenho reprodutivo de um rebanho está entre os principais componentes responsáveis pelo sucesso da produção. Para ser mantido é importante a incorporação de biotecnologias no controle dos processos reprodutivos associado ao adequado suporte forrageiro, nutricional e sanitário. O objetivo desse trabalho foi avaliar a eficiência do Eazi-Breed CIDR[®] novo e reutilizado em protocolos hormonais de curta e longa duração na sincronização do estro e prenhez de ovelhas.

Material e Métodos

Foram utilizadas neste estudo 55 ovelhas cíclicas, mestiças de Santa Inês, além de cinco rufiões e quatro reprodutores. As fêmeas foram distribuídas em três grupos experimentais, sendo GI (Eazi-Breed CIDR[®] em primeiro uso) e GII (Eazi-Breed CIDR[®] em segundo uso) por um período de cinco a 12 dias e GIII (Eazi-Breed CIDR[®] em terceiro uso), durante cinco dias. As ovelhas foram tratadas com o implante Eazi-Breed CIDR[®] e após a retirada, aplicou-se eCG, na dose de 300UI e 12,5 mg de Dinoprost por via intramuscular. O estro foi detectado por rufiões, iniciado 12 horas após a retirada dos dispositivos. Cada fêmea em estro foi levado a um reprodutor para a realização da monta dirigida 12 horas depois de detectado o estro e 24 horas após a primeira cobertura. O diagnóstico de gestação foi realizado aos 30 dias após a monta dirigida. Os resultados foram analisados através da estatística descritiva e do teste de Qui-quadrado, considerando-se o nível de significância de 5%.

Resultados e Discussão

A sincronização do estro foi atingida em 100% das fêmeas tratadas nos diferentes protocolos, resultados equivalentes também foram relatados por Ungerfeld e Rubianes (1999) com taxa de 95,9% com Eazi-Breed CIDR[®] de primeiro uso e 93,6% em segundo uso. Com relação à taxa de prenhez foram obtidos valores que variaram de 82% a 91%. Pinna et al. (2008) obtiveram taxas de concepção de 78,57% com dispositivo novo, 42,86% com reutilizado pela primeira vez, resultados equivalentes a este experimento.

Referências bibliográficas

Couto FA. Importância econômica e social da caprinocultura brasileira. In: Seminário Apoio à Cadeia Produtiva da Ovinocaprinocultura Brasileira. 2001. Anais... Brasília: p.10-15, 2001.

Pinna AE, Brandão FZ, Cavalcanti AS, Borges AM, Loureiro AP, Fonseca JF. Fertilidade de ovelhas cíclicas submetidas à sincronização do estro utilizando implantes intravaginais (CIDR[®]) novo ou reutilizados. Acta Sci Vet. S.2. p.581, 2008.

Ungerfeld R, Rubianes E. Effectiveness of short-term progestogen primings for the induction of fertile oestrus with eCG in ewes during late seasonal anoestrus. Anim Sci. v.68, p.349-353, 1999.

Palavras-chave: progesterona, prenhez, ovelhas.

Keywords: progesterone, pregnancy, sheep.

261

Avaliação da eficiência de protocolos hormonais de longa (14 dias), média (9 dias) e curta (5 dias) duração para sincronização/indução do estro de ovelhas (*Evaluation of the efficiency of hormonal protocols of long (14 days), medium (9 days) and short (5 days) duration for synchronization/induction of estrous in sheep*)

F.A.M. Sterza¹, G.M.G. Santos², M.C. Max², W. Blaschi³, T.R.R. Barreiros³, H. Baldassare⁴, M.M. Seneda²

¹Universidade Norte do Paraná (UNOPAR), Arapongas, PR, Brasil; ²Universidade Estadual de Londrina (UEL), Londrina, PR, Brasil; ³Universidade Estadual do Norte do Paraná (UENP), Bandeirantes, PR, Brasil; ⁴Pharmathene Canada Inc, Quebec, Canadá. E-mail: fabiana.sterza@gmail.com

Introdução

O objetivo do presente estudo foi comparar a eficiência de protocolos hormonais de sincronização/indução do estro de ovelhas tratadas com progestágenos por quatorze, nove e cinco dias.

Material e Métodos

O experimento foi realizado no norte do Paraná (22°51' S, 51° 33' W) em Maio de 2008. Foram utilizadas 70 ovelhas pluríparas mestiças com ECC médio de 2,7. As ovelhas foram divididas homogêneas em 3 grupos. Os animais receberam 1,5 mg de norgestomet (Crestar[®], Intervet, Holanda) no D0 e este foi mantido por 14 dias no G14 (n= 24), 9 dias no G9 (n=23) e 5 dias no G5 (N=23). No dia da retirada do Crestar, foram administrados em todos os grupos 22,5 mg de cloprostenol sódico (Preloban[®], Intervet, Holanda) e 400 UI de eCG (Folligon[®], Intervet, Holanda). A IA cervical com sêmen resfriado misto foi realizada 54 horas após a retirada do dispositivo. A detecção e distribuição do estro foi

realizada com uso de rufiões durante 72h. Após Quinze dias foi realizado o repasse com os machos. O diagnóstico de gestação foi realizado por ultra-sonografia transretal aos 30 e 60 dias após a IA. A análise estatística foi feita por análise de variância, através do teste de Kruskal- Wallis.

Resultados e Discussão

A taxa de apresentação de estro para os 3 grupos foi de 85,71%, sendo 75% (18/24) dos animais de G14, 95,65% (22/23) de G9 e 86,96% (20/23) de G5 ($p>0,05$). Analisando a distribuição dos estros, pôde-se observar que as fêmeas dos 3 grupos apresentaram o maior número de animais em estro 48 horas após a retirada do progestágeno, porém as fêmeas do G14, apresentaram o menor intervalo entre a retirada e a apresentação do estro. A taxa de prenhez à inseminação foi de 83,33% (20/24) para G14, 60,87% (14/23) para G9 e 47,82% (11/23) para G5. Após o repasse com os machos a taxa de prenhez foi de 95,83% (23/24); 86,95 (20/23) e 73,91% (17/23) para G14, G9 e G5 respectivamente ($p>0,05$). Resultados semelhantes para protocolos de 14 e 5 dias foram obtidos por Costa (2006). Por outro lado, sugere-se que a diferença numérica obtida neste experimento, tenha sido provocada pela eventual atividade do CL em alguns animais de G9 e G5, nos quais o tempo para a ação da PGF2 α não tenha sido suficiente para provocar a luteólise, atrasando assim a entrada desses animais em estro.

Referências bibliográficas

Costa, L.B.A. Efeito da sincronização/indução do estro e do desmame precoce sobre a resposta reprodutiva de ovelhas deslanadas e desempenho dos cordeiros, 2006. 68 f. Tese (Mestrado em Zootecnia). Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

Palavras-chave: protocolos hormonais, sincronização do estro, taxa de prenhez, ovinos.

Keywords: hormonal protocols, estrous synchronization, pregnancy rate, sheep

262

Indução da ovulação com GnRH associada a protocolos de sincronização de estro longo e curto em ovelhas (*Induction of ovulation with GnRH associated with long and short estrus synchronization protocol in ewes*)

B.D.M. Silva¹, T.A.S.N. Silva¹, M.A. Paiva Neto², H.C.A. Teixeira^{1,2}, C.J.C. Almeida², J.P. Neves¹, A.F. Ramos²

¹UnB – Universidade de Brasília; ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. E-mail: biancadamiani@yahoo.com.br; aleframos@cenargen.embrapa.br

Introdução

Este trabalho teve como objetivo verificar o uso do GnRH para sincronizar a ovulação de ovelhas da raça Santa Inês utilizando protocolo longo (12 dias) e curto (7 dias) com MAP e eCG.

Material e Métodos

Quarenta e uma ovelhas da raça Santa Inês foram submetidas a quatro protocolos de sincronização e indução da ovulação: G1 (n=11) com permanência da esponja vaginal contendo 60 mg de medroxiprogesterona (MAP) por 12 dias, associada a 300UI de eCG no dia 12 e 25 μ g de GnRH (acetato de gonadorelina) 27 horas após a retirada da esponja; G2 (n=10) permaneceu com a esponja por 12 dias e foi administrado 300UI de eCG na sua retirada; G3 (n=10) teve esponja permanecendo por 7 dias, associada a 37,5 μ g de D-cloprostenoil no quinto dia, 300 UI de eCG no sétimo dia e 25 μ g de GnRH 27 horas após a retirada da esponja; G4 (n=10) a esponja permaneceu por 7 dias, no quinto dia foi aplicado 37,5 μ g de D-cloprostenoil e na retirada da esponja 300 UI de eCG. O estro foi avaliado a cada 2 horas entre 12 e 66 horas após a retirada da esponja, com auxílio de um rufião. A ovulação foi avaliada, por laparoscopia, 52, 56, 60, 66, 72 e 76 horas após a retirada da esponja. Após 12 dias da retirada da esponja foi realizada uma laparoscopia para contagem de corpos lúteos. Utilizou-se qui-quadrado e análise de variância e teste de Duncan com auxílio do programa estatístico SAEG.

Resultados e Discussão

O G1 (36,4%) e o G3 (30%) apresentaram menor índice de manifestação de estro que o G2 (80%) e o G4 (90%), possivelmente devido a indução do pico de LH, pela aplicação de GnRH, antes das ovelhas manifestarem o estro. Nos protocolos em que foi utilizado o GnRH (G1 e G3) 100% das ovelhas ovularam, enquanto 70% e 80% ovularam nos grupos G2 e G4, mostrando que o GnRH foi eficiente em induzir a ovulação tanto no protocolo longo quanto no curto. O intervalo entre a retirada da esponja e a manifestação de estro foi semelhante ($P>0,05$) entre os grupos (37,0 \pm 7,0; 44,2 \pm 6,2; 42,0 \pm 6,0; 45,6 \pm 11,6 horas; para G1, G2, G3 e G4 respectivamente). O GnRH antecipou ($P<0,05$) a ovulação em relação a retirada da esponja, tanto no protocolo longo quanto no curto (54,5 \pm 2,7^B; 71,4 \pm 4,1^A; 57,0 \pm 6,7^B; 71,5 \pm 5,0^A horas; para G1, G2, G3 e G4 respectivamente). Os grupos que receberam GnRH manifestaram ovulação em cerca de 28 horas após a aplicação do mesmo (G1 = 27,5 \pm 2,7 horas; G2 = 30,0 \pm 6,7 horas). O GnRH foi aplicado 27 horas após a retirada da esponja com o objetivo de aproximar o tempo da ovulação e o da inseminação, para melhorar a taxa de fertilidade. O número de corpos lúteos foi maior ($P<0,05$) no G1 do que nos G2 e G3 (2,4 \pm 1,1^A; 1,5 \pm 0,5^B; 1,4 \pm 0,7^B; 1,7 \pm 0,5^{AB}; para G1, G2, G3 e G4, respectivamente). De acordo com os resultados podemos concluir que o GnRH foi eficaz em induzir e antecipar a ovulação utilizando tanto o protocolo longo quanto o curto.

Palavras-chave: IATF; MAP; ovino.

Keywords: IATF; MAP; sheep.

263

Efeito do hCG na taxa de concepção de ovelhas receptoras (*Effect of hCG on conception rate of ovine recipients*)

L.M.K. Dias¹, M.B. Paes de Barros¹, J.C.B. Silva¹, W.K. Okabe², J. Anjos², J.C.O. Andrade¹, M. Nichi¹, H. Ayres¹, C.A. Oliveira¹

¹ Departamento de Reprodução Animal, FMVZ/USP, CEP 05508-000, São Paulo-SP, Brasil. ² Embryo Sys Reprodução Animal, CEP 37570-000, Ouro Fino-MG, Brasil; *E-mail: lilikirsch@yahoo.com.br*

Introdução

A administração de hCG pós-monta é uma alternativa usada para reduzir a morte embrionária no início da gestação, pois resulta em significativo aumento da concentração de progesterona plasmática (Khan et al., 2006). Com base neste dado, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do tratamento de 500 UI de hCG administrado no dia da inovulação em receptoras ovinas.

Material e Métodos

Foram utilizadas 56 receptoras mestiças Santa Inês com escore corporal entre 2,5 a 3,5 (escala 1 a 5) de 3 propriedades da região sudeste (Holambra e Minduri em São Paulo e no município de Teresópolis no Rio de Janeiro). As receptoras foram sincronizadas com o dispositivo vaginal de medroxiprogesterona (Progespon®, Syntex, Argentina) por 9 dias. No dia 9 foi administrado 37,5µg de d-Cloprostenol (Veteglan®, Hertape Calier, Brasil) e 400 UI de eCG (Novormon®, Syntex, Argentina). As inovulações foram realizadas por semi-laparoscópica no dia 16, neste momento os animais foram divididos em dois grupos experimentais, sendo que o Grupo hCG recebeu 500 UI de hCG (Vetecor®, Hertape-Calier, Brasil) e o grupo controle recebeu solução salina. Os dados foram analisados pelo Proc Glimmix do SAS com nível de significância de 5%. Ainda, o estágio de desenvolvimento do embrião inovulado (mórula, blastocisto ou blastocisto expandido) e o número de corpos lúteos (sendo 1, 2 ou > 2) presentes nos ovários das receptoras no momento da inovulação foram consideradas como covariáveis.

Resultados e Discussão

Não houve diferença na taxa de concepção entre as propriedades, nem interação entre propriedades e tratamento. A taxa de concepção foi afetada pelo tratamento [G-Controle 60% (18/30) vs. G-hCG 34,6% (9/26)]. Ainda houve efeito do estágio embrionário (P=0,01), sendo a taxa de concepção de blastocisto expandido (85,71%) foi maior do que de blastocisto (55,55%) e de mórula (35,48%). Porém, não foi observado efeito do número de corpos lúteos no momento da inovulação (p>0,05) na taxa de gestação. Conclui-se que o tratamento com hCG no dia da inovulação não foi eficiente para melhorar as taxas de concepção. Mais dados são necessários para confirmação destes resultados.

Referências bibliográficas

Khan TH, Beck NFG, Khalid M. The effects of GnRH analogue (buserelin) or hCG (Chorulon) on Day 12 of pregnancy on ovarian function, plasma hormone concentrations, conceptus growth and placentation in ewes and ewe lambs. *Animal Reproduction Science*, v.102, p.247-57, 2007.

Palavras-chave: ovelha, hCG, embrião.

Keywords: ewe, hCG, embryo.

Agradecimentos: Empresa Hertape-Calier.

264

Efeito da utilização do CIDR por até três vezes sobre o comportamento estral de ovelhas mestiças de Dorper: dados parciais (*Effect of use of CIDR for up to three times on estrus behavior of crossbred Dorper ewes: preliminary results*)

S.R. Martins¹, G.S. Borges², T.V.C. Nascimento³, C.H.S.C. Barros⁴, V.C.D. Ferreira⁴, L.C. Magalhães⁴, D.M. Nogueira⁵, E.S. Lopes Júnior⁶

¹ Acadêmica de Zootecnia – UNIVASF; ² Estudante de Mestrado – PPGCA – UNIVASF; ³ Acadêmico de Medicina Veterinária – UFBA; ⁴ Acadêmico(a) de Medicina Veterinária – UNIVASF; ⁵ Pesquisador da Embrapa Semi-Árido; ⁶ Professor Adjunto II – Colegiado de Medicina Veterinária – UNIVASF; E-mail: edilsonlopesjunior@yahoo.com.br

Introdução

Os tratamentos de sincronização do estro apresentam resultados variáveis e ainda são considerados onerosos. Nesse contexto, Guido et al. (1999) avaliaram a reutilização do CIDR e obtiveram bons resultados de fertilidade. Todavia, não foram verificados dados na literatura sobre a utilização do CIDR por mais de duas vezes consecutivas. Objetivou-se com esse trabalho avaliar a atividade estral de ovelhas mestiças de Dorper, sincronizadas com CIDR utilizados por até três vezes.

Material e Métodos

Cinquenta e quatro ovelhas mestiças de Dorper foram divididas igualmente em três tratamentos de sincronização do estro, sendo: CIDR1x, tratadas com CIDR novo, o qual permaneceu na vagina por nove dias. Dois dias antes da retirada do CIDR, foi aplicado 75 µg de d-cloprostenol e 250 UI de eCG. Para os demais grupos, foi utilizado o mesmo tratamento, porém com o uso do CIDR pela segunda vez no CIDR2x, e pela terceira vez no CIDR3x. As porcentagens de animais em estro foram comparadas pelo Qui-quadrado. Os intervalos entre a retirada do CIDR e o início do estro foram analisados pelo procedimento ANOVA e as comparações entre médias foram realizadas pelo teste Tukey, adotando 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão

Os intervalos entre a retirada do CIDR e o início do estro foram de $19,7 \pm 1,5$ h para o CIDR1x, $18,3 \pm 1,6$ h para o CIDR2x e $22,6 \pm 1,5$ h para o CIDR3x ($P > 0,05$). Os tratamentos mostraram uma pequena dispersão e uma forte sincronia ($P < 0,01$), pois 81,5% das ovelhas manifestaram estro até as 24 h após a retirada do CIDR. Guido et al. (1999), utilizando CIDR reutilizado e 100 UI de eCG, verificaram um intervalo entre o final do tratamento e o início do estro de $42,0 \pm 4,6$ horas. Em nosso estudo, o menor intervalo até o início do estro pode ter sido devido à maior dose de eCG utilizada. A utilização do CIDR por até três vezes consecutivas foi viável para sincronização do estro de ovelhas mestiças de Dorper.

Referências bibliográficas

Guido SI, Oliveira MAL, Lima PF, Paes Barreto MBD; Araujo EPM. Reutilização do controlled internal drug release (CIDR) e do programa syncromate-B (SMB) para sincronizar o estro de cabras Saanen. Rev Bras de Rep Anim, v. 23, p. 367-369, 1999.

Palavras-chave: CIDR, sincronização do estro, ovelha.

Keywords: CIDR, estrus synchronization, ewe.

265

Efeito do local de deposição do sêmen no útero e da condição reprodutiva na taxa de gestação e prolificidade de ovelhas inseminadas por laparoscopia (*Effect of site of deposition of semen in the uterus and reproductive status in pregnancy rate and prolificacy of ewes inseminated by laparoscopy*)

F.V. Quaglia¹, L.P. Barbosa², L.E.P. Martins¹, B.M. Cardoso Neto¹, P.A. Dutra¹, R.L. Oliveira¹, R.S. Souza¹, D. Santana¹

¹Universidade Federal da Bahia – UFBA, Salvador/BA; ²Universidade Federal do Recôncavo da Bahia – UFRB, Cruz das Almas/BA. E-mail: lpipes73@yahoo.com.br

Introdução

Mesmo a inseminação artificial (IA) sendo a biotécnica da reprodução mais utilizada em ovinos, ainda é utilizada de forma incipiente. Uma das razões para o limitado uso da IA nessa espécie, deve-se aos baixos resultados obtidos após IA via transcervical, sendo a IA por laparoscopia (IAL) uma alternativa para aumentar as taxas de fertilização. Objetivou-se avaliar o efeito de diferentes locais de deposição do sêmen no útero e da condição reprodutiva, na taxa de gestação e prolificidade, de ovelhas da raça Santa Inês inseminadas por laparoscopia.

Material e Métodos

Foram inseminadas 95 ovelhas da raça Santa Inês, distribuídas em um fatorial 2X2, variando o local de deposição do sêmen no útero, ápice (n=15) e meio do corno (n=26); e a condição reprodutiva, nulípara (n=17) e múltiparas (n=37). As fêmeas tiveram seus estros sincronizados e foram inseminadas por laparoscopia com sêmen congelado entre 48 e 50 horas após a retirada das esponjas. O diagnóstico de gestação foi realizado entre 45 e 90 dias da inseminação. Foram avaliadas a taxa de gestação e prolificidade, pelo teste qui-quadrado e ANOVA.

Resultados e Discussão

Houve diferença na taxa de gestação das ovelhas nulíparas em relação ao local de deposição do sêmen no útero, com valores inferiores para o ápice (53%), em relação ao terço médio (62%). Essa diferença não foi observada para as ovelhas múltiparas, com taxa de gestação de 65 e 62% para ápice e meio do corno, respectivamente. Houve efeito da condição reprodutiva na taxa de gestação das ovelhas, quando o sêmen foi depositado no ápice. O objetivo da deposição no ápice do corno uterino seria elevar as taxas de prenhez, visto que o sêmen congelado tem menor taxa de sobrevivência no útero (Hill et al., 1997). No entanto, isto não ocorreu nas fêmeas nulíparas, provavelmente pelo excesso de manipulação uterina e possível transposição do corno. Não houve efeito dos locais de deposição e da condição reprodutiva na prolificidade, com média de 1,8. Assim, o terço médio do corno torna-se o melhor local para deposição do sêmen, independente da condição reprodutiva de ovelhas inseminadas por laparoscopia.

Referências bibliográficas

Hill JR, Thompson JA, Peskins NR Factors affecting pregnancy rates following laparoscopic insemination of 28.447 merino ewes under commercial conditions: a survey. Theriogr., v.49, p.697-709, 1998.

Palavras-chave: Ovinos, cornos uterinos, fertilidade

Keywords: Sheep, uterine horns, fertility

266

Dinâmica folicular em protocolo de sincronização de curta duração em ovelhas Ile de France durante estação de anestro (*Follicular dynamic in synchronization protocol of short duration in Ile de France sheep in anoestrus season*)

M.E.F. Oliveira, A.S. Carmo, J.S.P. Pieroni, M.F. Cordeiro, N.M.B.L. Zeola, A.G. Silva Sobrinho

¹UNESP/FCAV, Jaboticabal-SP, Brasil E-mail: m_emiliafraoli@yahoo.com.br

Introdução

Em ovelhas, protocolos de curta duração têm se mostrado tão ou mais eficientes que os convencionais (longos) por evitarem a ocorrência de concentrações sub-luteais de progesterona, o que promoveria crescimento excessivo e

persistência de folículos grandes, aumentando a idade dos folículos ovulatórios (Viñoles et al., 2001). O objetivo do presente trabalho foi caracterizar a dinâmica folicular e eficiência do protocolo de sincronização de curta duração em ovelhas Ile de France durante estação de anestro.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no mês de setembro/2008 no câmpus da FCAV (21°15'18"S, 48°19'19"O). Dez ovelhas Ile de France foram submetidas a protocolos de sincronização de curta duração. No D0, os animais receberam esponja intravaginal contendo 60 mg de MAP (Progespon®, Shering-Plough), que foi mantida por seis dias. No D5, 300 UI de eCG (Novormon®, Shering-Plough) e 37,5 µg de d-cloprostenol (Preloban®, Shering-Plough) foram administradas por via IM. Do D0 ao D6, foram realizadas avaliações ultrassonográficas diárias, sendo intensificadas a cada 12 horas até o D9. Os dados foram divididos em categorias de acordo com o diâmetro folicular (Ø): Pequenos (FP: Ø=1,5-3,5 mm); Grandes (FG: Ø=4,0-5,5 mm) e Pré-ovulatórios (FPO: Ø=6,0-8,5 mm) e analisados pelo programa Prisma (Bonferroni t- test).

Resultados e Discussão

A dinâmica folicular está apresentada na Figura 1. No D0, a ausência de corpos lúteos (CL) e FPO indicaram que os animais estavam em anestro. Do D0 ao D4, foi verificado aumento no número de FP ($p<0,05$), e para FG, observou-se diminuição entre o D3 e D4 ($p<0,05$). Adicionalmente, o número de FP foi maior que FG e FPO no D4 ($p<0,05$), indicando emergência da onda folicular. O diâmetro dos FP neste dia foi $2,02\pm 0,2$ mm. Do D4 ao D6, notou-se aumento do número de FG ($p<0,05$). Para o número de FPO, o aumento foi apenas numérico para o mesmo período. As ovulações ocorreram a partir do D8, em média, $69,33\pm 12,71$ horas após a retirada da esponja. O diâmetro ovulatório foi de $7,15\pm 1,0$ mm. Portanto, pode-se concluir que o protocolo induziu a ovulação das ovelhas, bem como apresentou dinâmica folicular dentro do esperado, considerando a duração do protocolo e momento da aplicação do eCG. Embora a ausência de CL indicaria o não uso da PGF2 α , esta é recomendada quando não se conhece a população folicular dos animais submetidos à sincronização do estro e ovulação.

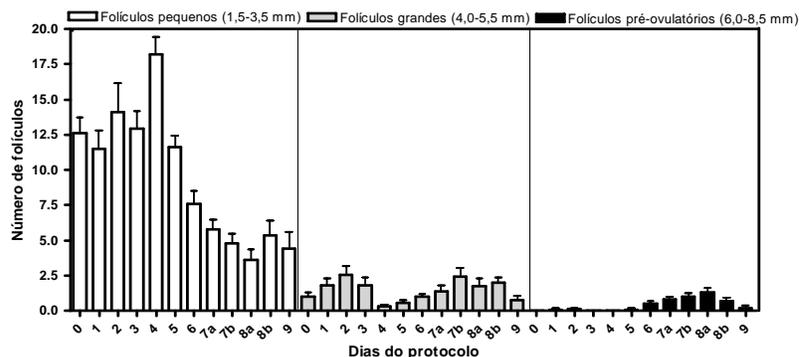


Figura 1. Dinâmica do número de folículos das categorias durante protocolo de sincronização em ovelhas Ile de France

Referências Bibliográficas

Viñoles, C.; Forsberg, M.; Banchero, G.; Rubianes, E. Effect of long-term and short-term progestagen treatment on follicular development and pregnancy rate in cyclic ewes. *Theriogenology*, 55:993-1004, 2001

Palavras-chave: Sincronização, Dinâmica Folicular, Ovinos.

Keywords: Synchronization, Follicular Dynamic, Sheep.

Agradecimentos: Intervet Shering-Plough Animal Health.

267

Sincronização-indução do estro com protocolo de curta duração(PCD) em ovelhas Santa Inês inseminadas em tempo fixo com sêmen congelado-descongelado pela via transcervical (*Estrus synchronization-induction in short-term protocol for Santa Inês ewes submitted to timed transcervical artificial insemination with frozen-thawed semen*)

D.O.L. Ferreira, S.D. Bicudo, C.E.A. Biscarde, R.F. Bittencourt

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP – Botucatu. E-mail: dolferreira@yahoo.com.br

Introdução

A inseminação artificial é a biotécnica mais abrangente para o melhoramento genético do rebanho. A técnica de inseminação transcervical em ovelhas é pouco explorada devido à dificuldade em se transpor a cérvix. Em fêmeas Santa Inês isto é agravado pela maior sinuosidade cervical, quando comparado às raças lanadas. Porém, com desenvolvimento de novos dispositivos de inseminação, esta técnica vem sendo viabilizada. A utilização da inseminação artificial em tempo fixo (IATF) contorna o problema da moderada incidência de ovulações sem manifestação de estro nas ovelhas. O surgimento de protocolos de curta duração (PCD) para sincronização-indução de estro é uma alternativa aos tradicionais mais longos, a fim de promover a ovulação de folículos com oócitos mais aptos a serem fertilizados e levarem a gestação a termo (UNGERFELD & RUBIANES, 1999). Objetivou-se testar a eficiência da inseminação intra-uterina transcervical nos PCD.

Material e Métodos

Foram utilizadas 126 ovelhas Santa Inês pluríparas mantidas a pasto, durante o mês de dezembro de 2008, no município de Piraju-SP, latitude 23°11'S, longitude 49°23'W, divididas em dois grupos. Como Grupo Controle (n=82), induzidos ao estro por protocolo de longa duração (PLD) que consistia no uso por 12 dias do pessário vaginal impregnado com 60 mg de medroxiprogesterona (MAP), e em sua retirada aplicação de 400UI de eCG e IATF via transcervical realizada cerca de 52 horas após este procedimento. No Grupo induzido ao estro por PCD (n=44) o pessário vaginal impregnado com a mesma dosagem de MAP foi mantido por seis dias, sendo que no dia 5 foi administrado 50 µg de *d*-cloprostenol (Prolise® -Tecnopac) e 400UI de eCG. No dia 6 foi retirado o pessário e 52 horas após procedeu-se a IATF da mesma forma que para o Grupo Controle. O sêmen utilizado foi proveniente de processamento da mesma partida, sendo analisado através do método computadorizado (CASA – Hamilton-Thorn Research®), com os valores de 84% de espermatozoides móveis, destes 68% em movimento rápido, 45% de motilidade progressiva, VAP 115,2 µ/s; VCL 93 µ/s; VSL 195,3 µ/s e linearidade (LIN) de 80% após descongelamento. A comparação estatística para taxa de gestação foi realizada pelo teste de qui-quadrado.

Resultados e Discussão

Em seis ovelhas não foi possível atingir o útero por transposição cervical, sendo três animais de cada grupo, sendo retirados do experimento. O Grupo Controle apresentou taxa de gestação de 45,6% vs 24,3% para o Grupo PCD (p<0,05). Estes resultados podem sugerir que, mesmo antecipando a administração do eCG e do análogo da prostaglandina-F-2α, hipoteticamente pode ter ocorrido uma dispersão do momento ovulatório com a utilização do PCD, corroborando com os achados de Takada (2004) em ovelhas Sulffolk. Desta forma são necessários mais estudos envolvendo a associação de PCD em programas de IATF pela via transcervical, com determinação das taxas de ovulação, além da adequação dos tempos para realização da inseminação com sêmen congelado-descongelado.

Referências bibliográficas

Takada, L. Avaliação da resposta ovariana na sincronização do estro e da ovulação utilizando protocolo de curta duração em ovelhas da raça Sulffolk. Dissertação (mestrado) FMVZ - UNESP-Botucatu, 152p. 2004.

Ungerfeld, E.; Rubianes, E. Effectiveness of short-term progestogen priming for the induction of fertile oestrus with eCG in ewes during late seasonal anoestrus. *Animal Science*, 68, p 348-53, 1999.

Palavras-chave: Inseminação transcervical, ovelhas, curta duração.

Keywords: Transcervical insemination, ewe, short-term.

Agradecimentos: TECNOPAC® e CNPq.

268

IATF em ovelhas com protocolos de curta e longa duração de Eazi-Breed CIDR® para sincronização do estro e da ovulação (*Fixed-time artificial insemination using protocols for short or long periods with Eazi-Breed CIDR® of the synchronization of estrus and ovulation in sheep*)

E.V. Nascimento Filho¹; S.I. Guido²; P.F. Lima¹; M.A.L. Oliveira¹

¹Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária da UFRPE, ²Instituto Agrônomo de Pernambuco. E-mail: espedito.nascimento@pfizer.com

Introdução

O uso da inseminação artificial em tempo fixo pode proporcionar a utilização de carneiros de alto padrão genético, bem como a introdução de raças mais produtivas atendendo às necessidades de mercado (Moraes, 2002). O objetivo desse trabalho foi avaliar o estro e a prenhez de ovelhas em programa de IATF com protocolos curto e longo utilizando CIDR®.

Material e Métodos

Foram utilizadas 48 ovelhas distribuídas dois grupos GC e GL. As ovelhas foram tratadas com um dispositivo intravaginal de progesterona Eazi-Breed CIDR®, por cinco dias no GC (n=24) e por 12 dias no GL (n=24). No momento da retirada do dispositivo, todas as fêmeas receberam, por via intramuscular, a aplicação de 12,5 mg Dinoprost Trometamina e 300 UI de eCG. Todas as fêmeas foram inseminadas em tempo fixo por via transcervical 50 horas após a retirada do dispositivo. O diagnóstico gestacional ultrassonográfico foi realizado no 30º dia após a IATF.

Resultados e Discussão

A sincronização do estro foi atingida em 100% das fêmeas tratadas nos diferentes protocolos, fato também relatado por Souza e Bicudo et al. (2003). Os resultados de taxas de prenhez obtidos foram 33,3% no GC e 41,7% no GL, não evidenciando diferença significativa (P > 0,05) entre os grupos. Resultados equivalentes foram reportados por Rabassa et al. (2007) de 40,00% e Machado et al. (2006) 35,70%.

Referências bibliográficas

Moraes, J.C.F. O emprego da inseminação artificial nas ovelhas. EMPRAPA. 2002. n.25, p 5.

Souza, D.B.; Bicudo, S.D. Associação de progestágeno, prostaglandina e eCG em protocolo de curta duração para a indução/sincronização do estro em ovelhas Suffolk. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, Belo Horizonte, v.27, n.3, p.473-474, 2003.

Rabassa, V.R.; Tabeleão, V.C.; Pfeifer, L.F.M. et al. Efeito das técnicas transcervical e laparoscópica sobre a taxa de prenhez de ovelhas inseminadas em tempo fixo. *Ciência animal brasileira*, v.8, n.1, p.127-133, 2007.

Palavras-chave: Santa Inês, progesterona, prenhez.

Keywords: Santa Inês, progesterone, pregnancy.

269

Características ultraestruturais de ovócitos ovinos durante a maturação *in vitro* (*Ultrastructure characteristics of sheep oocytes during in vitro maturation*)

D.M. Máximo¹, R.G. Mondadori², C.M. Lucci¹, K.L. Miranda¹, J.P. Neves¹

Universidade de Brasília¹, Universidade Federal de Mato Grosso².E-mail: deborahmaximo@yahoo.com.br

Introdução

Com o crescimento da ovinocultura, há necessidade de aprimorar-se biotécnicas que promovam a multiplicação desses animais. A produção *in vitro* de embriões (PIVE) é uma biotécnica que em ovinos ainda possui resultados inconsistentes e seu sucesso está ligado à maturação *in vitro* (MIV), sendo este um fator limitante. Prova disso é que mesmo após seleção cuidadosa de complexos *cumulus oophorus* (CCOs), menos da metade terá maturação citoplasmática completa e produzirá blastocistos viáveis. A microscopia eletrônica permite a investigação ultraestrutural da maturação e tem sido utilizada para elucidação da morfologia de ovócitos bovinos (Hyttel et al., 1986). A espécie ovina é carente nesses estudos e, portanto, o objetivo desse trabalho foi elucidar aspectos ultraestruturais da MIV nessa espécie.

Material e Métodos

Ovários de abatedouro foram coletados e seus folículos aspirados. Os CCOs selecionados foram divididos em grupos e transferidos para o meio de maturação (Nutricel®) onde permaneceram por 6, 12, 18 e 24 horas após o início do processo, exceto o tratamento 0 hora. Após a retirada das estruturas nos diferentes tempos de maturação, essas foram processadas para a microscopia eletrônica de transmissão.

Resultados e Discussão

Na hora 0 os ovócitos possuíam características de estruturas imaturas e após 6 horas de MIV havia migração de mitocôndrias e lipídeos para a periferia citoplasmática; processo relacionado ao aumento de atividade metabólica ovocitária e início da maturação. Entre 12 e 18 horas de MIV houve o alinhamento dos grânulos da cortical junto à membrana plasmática, o que permitiu inferir sobre a maturação nuclear (HOSOE; SHIOYA, 1997). Sugere-se que com 18 horas de MIV o estágio de metáfase II tenha sido alcançado. As mitocôndrias *hooded* encontradas podem estar relacionadas há aumento do metabolismo mitocondrial durante o período de migração de organelas. Após 24 horas de MIV, os ovócitos apresentavam características de degeneração o que pode estar ligado ao envelhecimento celular devido ao longo tempo de permanência no meio de MIV após aquisição de competência para fertilização. Mais estudos devem ser realizados para aprimorar essa importante biotécnica na espécie.

Referências bibliográficas

Hosoe, M.; Shioya, Y. Distribution of cortical granules in bovine oocytes classified by cumulus complex. *Zygote*, v. 5, p. 371-376, 1997.

Hyttel, P. et al. Ultrastructure of *in vitro* oocyte maturation in cattle. *J Reprod Fertil*, v. 78, p. 615-625, 1986.

Palavras-chave: Microscopia eletrônica de transmissão, produção *in vitro* de embriões.

Keywords: Transmission electron microscopy, *in vitro* embryo production.

270

Desempenho reprodutivo de ovelhas Santa Inês criadas no nordeste paraense (*Reproductive performance of ewes Santa Ines created in northeast paraense*)

A.C.B. Moura², L.F.S. Rodrigues¹, A.A. Araújo², H.L.L. Sousa², P.P.M. Teixeira³

¹Universidade Federal Rural da Amazônia, ²Universidade Federal do Ceará. UNESP - Jaboticabal

E-mail: cpcop@ufra.edu.br

Introdução

O Estado do Pará vem surgindo como pólo na criação de ovinos porém, sua alta temperatura e umidade, tem exigido estudos que possam compreender e limitar os entraves impostos pelos fatores ambientais na busca do manejo adequado, possibilitando a racionalização da ovinocultura paraense. Diante disso, objetivou-se conhecer o comportamento dos ovinos explorados no estado do Pará, evidenciando a necessidade de se avaliar o desempenho reprodutivo de ovelhas criadas sob as condições climáticas do norte do país.

Material e Métodos

O experimento foi realizado no município de Igarapé-açu, nordeste do Pará. Foram utilizadas 96 fêmeas Santa Inês separadas aleatoriamente em dois grupos (GA n:38 e GB n: 58). O GA foi submetido à estação de monta no período seco com parição no período chuvoso ocorrendo o oposto com o GB. As taxas reprodutivas foram submetidas ao teste do Qui-Quadrado ou teste Exato de Fisher pelo programa SAS.

Resultados e Discussão

Os Grupos A e B, respectivamente, apresentaram taxas de 86,8% e 93,1% para prenhez, 76,3% e 79,3% para parto, 9% e 7,4% para abortamento, 86,8% e 89,6% para fecundidade, 103,4% e 113% para natalidade, 113,8% e 113% para prolificidade, 2,6% e 13,8% para mortalidade das matrizes e 26,6% e 48% para mortalidade das crias até 10 dias. Somente

a taxa de mortalidade das crias mostrou-se diferente ($P<0,05$), ocorrendo mais óbitos durante a época seca. A manifestação de estro foi similar entre as duas estações do ano ($P>0,05$). Convergindo a esses resultados, Sasa (2001), em São Paulo, observaram não haver sazonalidade reprodutiva em ovelhas da raça Santa Inês. Porém, Ribeiro (2008), no Paraná, afirmaram que a taxa de mortalidade dos cordeiros não diferiu entre épocas de monta no verão e outono. A época em que a estação de monta foi realizada pareceu não influenciar de forma evidente no desempenho reprodutivo das ovelhas criadas nessa região devendo-se, no entanto, privilegiar a parição durante o período chuvoso, o qual garantiu maior índice de sobrevivência das crias.

Referências bibliográficas

Sasa A. Perfil plasmático de progesterona e incidência mensal de ovulações silenciosas em borregas lanadas e deslanadas criadas no estado de São Paulo. Goiânia. Anais...Goiânia: Associação Brasileira de Zootecnia, 2001. p.16.
Ribeiro ELA. Desempenho produtivo de ovelhas submetidas a acasalamentos no verão ou no outono no Norte do Paraná. Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 29, n. 1, p. 229-236, jan./mar. 2008.

Palavras-chave: Clima. Estação de monta. Estação de parição. Época do ano. Taxas reprodutivas.

Keywords: Birth station. Climate. Reproductive rates. Reproductive station. Season

271

Comparação dos efeitos das estações do ano e sistema de amamentação sobre o período de puerpério de ovelhas Santa Inês no nordeste do Pará (*Comparison of the effects of the seasons and breastfeeding system on the period of puerperium of Santa Inês sheep in northeastern Pará*)

L.F.S. Rodrigues¹, H.L.L. Sousa², A.C.B. Moura², A.A. Araújo², M.E.F. Oliveira³

¹Universidade Federal Rural da Amazônia; ²Universidade Federal do Ceará; ³UNESP- Jaboticabal E-mail: luiz.rodrigues@ufrpa.edu.br.

Introdução

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a influência das estações do ano e do controle da amamentação sobre a eficiência reprodutiva de ovelhas Santa Inês, no norte do Brasil. Buscando o manejo pós-parto adequado para cada estação do ano.

Material e Métodos

No período chuvoso (P1) foram utilizadas 27 matrizes separadas em dois grupos: amamentação contínua ($n=14$) e amamentação controlada ($n=13$). No período seco (P2) o número de reprodutoras utilizado foi de 50 animais divididos em 25 fêmeas para cada tratamento. Foi analisado intervalo entre parto e o primeiro cio (IPPC), Intervalo entre o parto e o primeiro cio fértil (IPPCF). Como forma de detectar o estro e diagnosticar a prenhes, os reprodutores tinham os peitos pintados diariamente e foi realizado ultrasonografia a cada 15 dias até o desmame com 90 dias. Os dados foram expressos em média e desvio padrão analisados por ANOVA a 5% de probabilidade para o teste “F”.

Resultados e Discussão

O IPPC mostrou, no período chuvoso e período seco, que o sistema de amamentação controlado apresentou o menor intervalo (P1; contínuo: $57,64 \pm 18,24d$; controlado: $30,53 \pm 10,93d$ e P2; contínuo: $39,30 \pm 8,74d$; controlado: $27,84 \pm 5,39d$). O intervalo do parto ao primeiro cio fértil não mostrou diferença entre os tratamentos de amamentação contínua ($71,50 \pm 16,47d$) e controlada ($58,69 \pm 17,32d$) durante a época chuvosa ($P=0,006$). Durante o P2 o sistema de amamentação controlada ($44,92 \pm 6,62d$) apresentou menor intervalo que as fêmeas do tratamento de amamentação contínua ($58,50 \pm 9,10d$), ($P<0,05$). Após o parto, o estímulo de sucção eleva os níveis circulantes de prolactina (Negrão et al., 2001). Por outro lado, elevados níveis circulantes de prolactina determinam, normalmente, uma inibição da liberação de LH (Mwaanga e Janowski, 2000). O IPPCF encontrado, nas fêmeas de ambos os tratamentos, mostraram que no período chuvoso e período seco o intervalo de parto (IDP) apresentou-se dentro do intervalo de três partos a cada dois anos (IDP; P1: contínuo 221 d, controlado 208 d; P2: contínuo 208 d, controlado 194 d)

Referências bibliográficas

Mwaanga, E.S. E Janowski, T. (2000). Anoestrus in dairy cows: causes, prevalence and clinical forms. *Reprod Dom Anim*, 35, 193-200.

Negrão, J.A., Marnet, P.G. E Labussière, J. (2001). Effect of milking frequency on oxytocin release and milk production in dairy ewes. *Small Ruminant Research*, 39 (2), 181-187.

Palavras-chaves: Santa Inês, puerpério, amamentação, clima.

Keywords: Santa Ines, postpartum period, breastfeeding, climate.

272

Identificação do sexo fetal por ultra-sonografia em ovinos (*Identification of fetal sex for ultrasonography in sheep*)

M.V. Azevedo, S.R. Silva, C.R. Aguiar Filho, N.M. Souza, L.M. Freitas Neto, M.H.B. Santos, P.F. Lima, M.A.L. Oliveira

Laboratório de biotecnias reprodutivas do DMV da Universidade Federal Rural de Pernambuco

E-mail: mutley_pb@hotmail.com

Introdução

A ovinocultura na região do semi-árido paraibano, que outrora amargava resultados ruins tem experimentado significativo progresso na qualidade genética dos rebanhos em função do emprego de biotécnicas reprodutivas que motivam a tecnificação do manejo. O diagnóstico de gestação acompanhado da sexagem fetal dá sustentação a está evolução tecnológica, racionalizando o processo produtivo. Esta pesquisa objetivou determinar diferenças no diagnóstico ultrasonográfico trans-retal, entre ovinos de distintas raças e idades, além de identificar o período gestacional mais favorável para a determinação do sexo.

Material e Métodos

As atividades foram realizadas na Estação Experimental de Pendência (EMEPA), localizada no município de Soledade, Paraíba, sendo utilizado o aparelho ultra-sonográfico (modelo 240 Parus – Pie Medical) equipado com transdutor linear (6,0 e 8,0 MHz) adaptado a um suporte de PVC. Com objetivo de comparar o dia da migração do tubérculo Genital (TG) entre fetos oriundos de monta natural, foram utilizados 130 fetos (Morada Nova = 36; Santa Inês = 36; Dorper = 32; Damara = 28), entre o 30º e o 60º dia de gestação, foram efetuados exames diários, onde cada feto foi examinado visando identificar o sexo pré-natal, levando-se em consideração a localização do tubérculo genital ou a presença da vulva, das tetas, prepúcio e saco escrotal, de acordo com Oliveira et al. (2004).

Resultados e Discussão

Foi observado que a sexagem de machos é mais facilitada devido ao maior número de estruturas anatômicas utilizadas para essa finalidade. Outro fato interessante é que a cauda e o cordão umbilical podem se posicionar entre os membros posteriores e impedirem a visualização da vulva e das tetas na fêmea, já nos machos existirão o TG e o prepúcio para serem adequadamente visualizados. Fato que segundo Bürstel (2002), é comum na rotina de sexagem fetal, especialmente nos ovinos que possuem uma cauda comprida para provocar estes transtornos. A migração do TG ocorreu em um intervalo aproximado de 15 dias, entre o 36º e 51º dias de gestação. Tendo como média da migração do TG $41,3 \pm 3,1$ dias. Nos fetos ovinos não houve diferença do tempo de migração entre as raças estudadas ($P > 0,05$).

Referências bibliográficas

Bürstel, D. Untersuchungen zur intrauterinen Geschlechtsfeststellung bei Feten kleiner Wiederkäuer mittels Ultrasonographie. Hannover, 2002. 142p. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Institut für Reproduktionsmedizin, Tierärztliche Hochschule Hannover.
Oliveira, M.A.L.; Reichenbach, H.-D.; Santos, M.H.B. et al. Aplicabilidade do scan B na reprodução de pequenos ruminantes. In: Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha. São Paulo: Varela, 2004. p.85-96.

Palavras-chave: diagnóstico de gestação, tubérculo genital, pequenos ruminantes, biotécnicas.

Keywords: diagnosis of gestation, genital tubercle, small ruminants, biotechnologies

273

Caracterização genotípica de ovinos das raças Santa Inês e Morada Nova para o marcador microsatélite SSR-GHR (*Genotypic characterization of sheep breeds of Santa Inês and Morada Nova by SSR-GHR microsatellite marker*)

C.A.S. Leal, M. Adrião, A. Wischral, G.M.L. Holanda, D.M.F. Silva, D.M.B. Souza

Universidade Federal Rural de Pernambuco, DMFA, Lab. Fisiologia Animal Molecular Aplicada FAMA, Recife, PE

E-mail: manoeladriao@yahoo.com.br

Introdução

Receptores moleculares específicos de hormônio do crescimento (GHR) têm sido encontrados em muitos tecidos, inclusive no músculo; contudo, são mais abundantes no fígado (Douglas, 1999). Estes genes são estudados como marcadores genéticos em animais domésticos relacionados à produção e reprodução. Animais da uma mesma espécie possuem o mesmo grupo de genes, que contém as informações para a síntese das diversas proteínas do organismo, porém as diferenças de produção entre os animais são resultantes de pequenas mudanças que ocorrem nas seqüências de nucleotídeos que constituem a informação genética de cada indivíduo (Coutinho e Reginato, 2001). O presente trabalho teve como objetivo analisar o polimorfismo de microsatélite localizado na região reguladora do gene do receptor de GH (SSR-GHR) em ovinos da raça Santa Inês e Morada Nova com diferente número de crias/parto.

Material e Métodos

Foram colhidas amostras de 5 ml de sangue total, de ovinos da raça Santa Inês (n= 76) e Morada Nova (n=115), clinicamente sadios, provenientes do semi-árido do Nordeste do Brasil, com diferentes históricos de crias/parto. O DNA leucocitário foi extraído pelo método fenol-clorofórmio modificado (Maniatis et al., 1989). O polimorfismo do microsatélite para o SSR-GHR foi realizada por PCR, utilizando *primers* descritos por Lucy et al. (1998). Os *amplicons* foram visualizados em gel de poliacrilamida 8% (m/v), plotado com Blue Green Loading Dye I, visualizado em transiluminador de UV e comparado a um padrão de DNA-Ladder (10 pb).

Resultados e Discussão

Em nossos resultados preliminares, a técnica de PCR utilizada com os *primers* específicos para SSR-GHR demonstrou polimorfismo entre animais das duas raças estudadas, independente do número de crias/parto. Contudo, quando se compara animais da mesma raça, com número de crias/parto diferente, observa-se um padrão monomórfico. Estes dados sugerem que há uma variação genética entre as raças Santa Inês e Morada Nova quando se compara a região reguladora do gene *GHR*, que pode estar relacionada a diferentes características fenotípicas.

Referências bibliográficas

- Douglas CR. Tratado de fisiologia aplicada à ciência da saúde. 4 ed. São Paulo: Robe Editora, 1999. cap. 71., p. 1022-1035.
- Coutinho LL, Reginato LCA. Uso de marcadores moleculares na indústria animal. In: Reginato, L. C. A.; Coutinho, L. L. (ed.) Biologia molecular aplicada à produção animal. 1 ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2001. p. 11-24.
- Lucy MC, Johnson GS, Shibuya S, Boyd CK, Herring WO. Rapid communication: Polymorphic (GT)_n microsatélite in the bovine somatotrophin receptor gene promoter. J Anim Sci, v. 76, p. 2209-2210, 1998.
- Maniatis T, Fritsch EF, Sambrook J. (eds). Molecular cloning: a laboratory manual. New York: Cold Spring Harbot Laboratory Press, 1989. 3v.
- Palavras-chave:** PCR, Microsatélite, Ovino, GHR
- Keywords:** PCR, microsatellites, Sheep, GHR.

SUÍNOS

274

Implicações do peso ao nascimento sobre parâmetros reprodutivos em varrões (*Birth weight implications for reproductive parameters in boars*)

A.L.N. Alvarenga, H. Chiarini-Garcia, F.R.C.L. Almeida

Laboratório de Biologia Estrutural e Reprodução – ICB – UFMG. E-mail: analuisaneves@ig.com.br

Introdução

A seleção para prolificidade parece ter criado um desequilíbrio entre o número de conceptos vivos no período pós-implantação e a capacidade uterina (1). A competição entre os fetos por nutrientes e oxigênio resulta em fetos menores a termo que apresentam características de Crescimento Intra-Uterino Retardado (CIUR). O presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos do CIUR sobre os testículos de leitões de baixo peso ao nascimento.

Material e Métodos

Leitões machos recém-nascidos (n=6; DanBred x PIC), nascidos de porcas de 4^a a 6^a parições e leitegadas de 10 a 15 leitões, foram identificados e separados em dois grupos: alto peso (1,8 a 2,2 kg) e baixo peso (0,8 a 1,2 kg). Os animais foram castrados aos sete dias de idade e seus testículos foram coletados para a avaliação das características morfológicas. O efeito do CIUR foi analisado pela comparação do número médio de gonócitos e células de Sertoli presentes em vinte seções transversais de cordões testiculares escolhidos aleatoriamente por testículo. O delineamento utilizado foi o inteiramente ao acaso e as médias foram comparadas pelo teste t.

Resultados e Discussão

Os leitões de baixo peso apresentaram testículos mais leves, menor índice gonadossomático (IGS = peso testicular/peso corporal x 100) e menores números de gonócitos e de células de Sertoli por cordão testicular comparados com os animais de alto peso (Tabela 1).

Tabela 1. Características reprodutivas dos leitões de baixo e alto peso (P<0,0001)

Parâmetros	Baixo peso	Alto peso	Erro padrão
Peso ao nascimento (kg)	1,170 b	2,020 a	0,0140
Peso aos 7 dias (kg)	2,030 b	3,300 a	0,0290
Peso testicular médio (g)	0,440 b	0,970 a	0,0140
IGS (nascimento)	0,038 b	0,048 a	0,0007
IGS (castração)	0,021 b	0,029 a	0,0004
Gonócito / cordão testicular	0,870 b	1,580 a	0,0900
Célula de Sertoli / cordão testicular	19,22 b	22,36 a	0,4190

Como o número de células de Sertoli estabelecido antes da puberdade determina o tamanho dos testículos e a produção espermática do animal adulto (2), varrões com baixo peso podem apresentar um pior desempenho reprodutivo.

Referências bibliográficas

1. Foxcroft, G.R.; Dixon, W.T.; Novak, S.; et al. The biological basis for prenatal programming of postnatal performance in pigs. Journal Animal Science, 84, p.105-112, 2006.
2. McCoard, S.A.; Lunstra, D.D.; Wise, T.H.; et al. Specific staining of Sertoli cell nuclei and evaluation of Sertoli cell number and proliferative activity in Meishan and white composite boars during the neonatal period. Biology of Reproduction, v.64, p.689-695, 2001.

Palavras-chave: CIUR, testículos, células de Sertoli, gonócitos.

Keywords: pigs, IUGR, testes, Sertoli cells, gonocytes.

Hormônio folículo estimulante relacionado à espermatogênese de reprodutores suínos de alta performance (*Follicle-stimulating hormone and the relation with the gametogenesis of high performance boars*)

T.S. Gaggini, E.C.P. Cunha, D.M. Silva, M.G. Zangeronimo, L.D.S. Murgas, D. Lima

Laboratório de Fisiologia e Farmacologia Veterinária da Universidade Federal de Lavras. E-mail: thaischwarz@hotmail.com

Introdução

O Hormônio Folículo Estimulante (FSH) tem como uma de suas principais funções estimular a gametogênese nos testículos até o desenvolvimento de espermatozoides secundários. A liberação dos espermatozoides, depois de iniciado o processo de espermatogênese em suínos, dura de 40 a 45 dias (Hafez, 1998). Logo, a ação deste hormônio deve ocorrer nos primeiros dias deste processo e sua determinação poderia auxiliar no processo de seleção ou avaliação de reprodutores em uma granja comercial ou em centrais de inseminação. Objetivou-se, assim, correlacionar a quantidade de FSH sanguíneo de reprodutores suínos com o número total de espermatozoides presentes no ejaculado 46 dias após, a fim de verificar se a concentração deste hormônio pode estar associada à concentração espermática em machos suínos.

Material e Métodos

Foram utilizados seis reprodutores de alta performance, pertencentes ao DZO/UFLA, sendo três animais da linhagem comercial A e os outros três da B. Durante as colheitas de sêmen rotineiras na granja, foram coletadas oito amostras de sangue dos machos e, depois de 46 ± 5,1 dias, foram colhidos os ejaculados para a quantificação no número total de espermatozoides no ejaculado (NTESP). O sangue coletado foi então congelado (-26 °C) e a concentração de FSH no plasma (CFSH) foi obtida através da técnica de ELISA (kit ELISA Radim para determinação de FSH). Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste F. Para testar a correlação entre a CFESH e o NTESP, aplicou-se o teste de Pearson, utilizando o programa estatístico SAS (1996).

Resultados e Discussão

Houve efeito ($P < 0,05$) das linhagens quanto a CFESH e NTESP (Tabela 1), demonstrando que possam haver fatores genéticos ou fenotípicos envolvidos na liberação do hormônio e conseqüentemente na produção espermática. Entretanto, observou-se correlação negativa entre a CFESH e NTESP apenas na linhagem B, enquanto que não houve correlação na linhagem A. Estes resultados sugerem que possa haver um limite para a produção de FSH, acima do qual existe um mecanismo de feedback negativo. Desta forma, fica evidente que novos estudos devem ser conduzidos com outras linhagens para se estabelecer um protocolo de avaliação reprodutiva de machos suínos de alta performance.

Tabela 1. Concentração de FSH no plasma (CFESH), número de células espermáticas (NTESP) no ejaculado, correlação e respectivos valores de probabilidades entre CFESH e NTESP de suínos de alta performance de duas linhagens comerciais.

Linhagem de Reprodutores	CFESH (pg/mL)	NTESP ($\times 10^9$)	r^2	P
A	1,611 a	72,0 a	-0,19	0,3636
B	1,681 b	95,6 b	-0,46	0,0232

* a, b Médias seguidas de diferentes letras na coluna diferem pelo Teste F a 5%

Referências bibliográficas

Hafez, E.S.E Reprodução Animal. Trad. R.C. Barnabé, 6 ed. Cap.1 e 7. 3-20 e 167-190p. São Paulo: editora Manole, 1998, SAS Institute. User's guide: statistics. Versão 6.12. 956 p. Cary, EUA: Universidade Estadual da Carolina do Norte, 1996.

Palavras-chave: suíno, análise hormonal, número total de espermatozoides.

Keywords: swine, hormonal analysis, sperm total number.

Qualitative and quantitative analysis of porcine sperm transcripts and characterization of a normalized cDNA library (*Análise qualitativa e quantitativa dos transcritos do espermatozóide suíno e caracterização de um banco de cDNA normalizado*)

L.P. Rauber^{1,2}, S. Bauersachs^{1,3}, M. Boelhaue¹, H. Blum^{1,3}, E. Wolf¹

¹Institute of Molecular Animal Breeding and Biotechnology, LMU, Munich/Germany; ² Department of Veterinary Medicine, CAV-UDESC, Lages/SC; ³Laboratory for Functional Genome Analysis LMU, Munich/Germany. E-mail: lucio.rauber@gmail.com

Introduction

During the development of the spermatozoon the nuclear histone proteins are replaced by protamine, resulting in a higher condensation of the chromatin. This terminates the production of messenger RNAs at the late spermatogenesis until the protamines are replaced by histones after fertilization. The aim of this work was i) to analyze the quantity of RNA in ejaculated boar sperms and ii) the characterization of the mRNA population to identify e.g. genes with different transcript abundance associated with different levels of male fertility.

Material and Methods

To characterize the RNA population in boar spermatozoa the ejaculates of five males were recovered and washed, and the

total RNA was isolated using a modified TRIzol protocol. For the construction of the normalized complementary DNA (cDNA) library the total RNA was extracted and first strand cDNA synthesis was carried out with an oligo(dT) primer. The resulting cDNA was normalized and ligated into a plasmid vector, followed by electroporation into electro-competent cells. The bacterial suspension was transferred to agar plates and bacterial clones were randomly picked. After overnight incubation, the bacteria were lysed to release the plasmid DNA. The cDNA fragments were amplified, sequenced and compared with sequences of public databases using the BLAST-Algorithm (National Center for Biotechnology Information).

Results and Discussion

The total RNA extracted from boar spermatozoa is predominantly composed of small fragments between 20 to 700 bp. The sperm cells carry a high variety of transcripts that can be successfully extracted with standard reagents like TRIzol. These RNAs are represented in low copy numbers and mostly composed of low molecular fragments, whereas the fragments smaller than 100 bp have no poly(A) tail. Four to ten ng total RNA was recovered from 1×10^6 boar spermatozoa, representing only a few copies per transcript per spermatozoon. Sequencing of 4,224 cDNA clones resulted in 1,892 unique transcripts covering functions from basic cell metabolism and cell division to transcripts needed in the late spermatogenesis, capacitation and fertilization. However, only 15% were from known porcine genes and 404 sequences were not found in the NCBI GenBank databases. The application of the generated cDNA array for the analysis of sperms could be a helpful tool for the investigation of new target molecules related to the prognosis of the fertilization capacity.

Keywords: spermatozoon, transcripts, molecular biology, fertility.

Palavras-chave: espermatozoides, transcritos, biologia molecular, fertilidade.

277

Criopreservação de sêmen para formação de banco de germoplasma de suínos da raça Piau (*Sus scrofa*)

(*Cryopreservation of semen to formation a germplasm bank from Piau swine breeds (Sus scrofa)*)

M.H.C. Barros, L.S. Amorim, H.H. Shiomi, S.E.F. Guimarães, P.S. Lopes, J.D. Guimarães

Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, Brasil. E-mail: mauriciohoshino@hotmail.com

Introdução

A preservação de raças nativas nos dias atuais deixou de ser uma preocupação de natureza histórica para ser uma realidade. Dentre as raças suínas nativas brasileiras catalogadas como de alto risco de extinção, apenas a raça Piau (*Sus scrofa*) ainda existe, uma vez que é considerada a melhor e mais importante raça naturalizada nacional (Pereira, 2004). O objetivo do presente trabalho foi verificar a possibilidade da criação de um banco de germoplasma de suínos da raça Piau por meio da criopreservação do sêmen desses animais.

Material e Métodos

Foram coletados 33 ejaculados de 5 machos suínos adultos da raça Piau pertencentes à Granja de Melhoramento Genético de Suínos do DZO-UFV/MG. O congelamento foi realizado segundo a técnica modificada de Westendorf et al. (1975), com concentração final de 2% de glicerol e envase em palhetas finas (0,25 mL). As amostras foram avaliadas quanto à motilidade e vigor pós-descongelamento (MPD e VPD, respectivamente) e após o teste de termor-resistência (M120 e V120), teste hiposmótico (H), esfregaços corados com eosina-nigrosina (EN) e porcentagem de acrossomas normais (AN). Para testar a fertilidade do sêmen, 4 fêmeas pluríparas foram inseminadas duas vezes intra-uterinamente, 12 e 24 horas após a detecção do estro, com a dose inseminante contendo 600 milhões de espermatozoides e 50 mL de BTS.

Resultados e Discussão

Tabela 1. Médias e desvio padrão dos parâmetros espermáticos avaliados por testes *in vitro*.

MPD(%)	VPD(0-5)	M120(%)	V120(0-5)	H(%reativos)	EN(%vivos)	AN(%)
49,5±12,1	3,4±0,4	23,4±13,0	2,2±0,8	18,8±5,7	39,9±10,4	44,6±14,4

Durante as inseminações, foi possível a introdução do cateter no lúmen uterino de todas as fêmeas. Dessas, duas pariram uma média de 10,5 leitões totais, bem acima das médias encontradas na literatura para monta natural (Pereira, 2004). Com um estoque de aproximadamente 1200 doses de sêmen, possuindo fertilidade comprovada, conclui-se que foi possível a formação do banco de germoplasma de suínos da raça Piau, recursos genéticos que poderão ser utilizados em futuros programas estratégicos de melhoramento animal.

Referências bibliográficas

Pereira JCC. Melhoramento genético aplicado à produção animal, 4.ed., p.539-552, Belo Horizonte, 2004.

Westendorf P, Richter L, Treu, H. Zur tiefgefrierung von ebersperma. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, v.82, p.26-67, 1975.

Palavras-chave: Criopreservação, sêmen, suíno, germoplasma, inseminação intra-uterina.

Keywords: Cryopreservation, semen, swine, germplasm, deep intra-uterine insemination.

278

Acrossomal integrity after cryopreservation of boar semen treated with cholesterol loaded cyclodextrin

(*Integridade acrossomal após criopreservação de sêmen suíno fresco tratado com colesterol carregado com ciclodextrina*)

E.A. Moraes¹, C.A.A. Torres¹, J.K. Graham², P.L. Romualdo¹

¹Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, Brasil. ²Departamento de Ciências Biomédicas, Colorado State University, Fort Collins, CO, EUA. E-mail: eamufv@yahoo.com.br

Introdução

The cryopreservation process induces many stresses on spermatozoa, including destabilizing the plasma membrane. Treating bull sperm with cholesterol-loaded cyclodextrin (CLC) before cryopreservation results in increased sperm cryosurvival (Amorim et al., 2009). The present study was to compare the effect of adding the different concentrations with CLC could alter the percentages of acrossomal membrane integrity after freezing boar sperm.

Material e Métodos

Ejaculates from each of 6 boars were collected, diluted 1:1 in BTS and kept to 2 hs at room temperature. After, the ejaculates were put at 15°C for 60 min. Later, the ejaculates were centrifuge at 15°C for 400 g to 10 min and supernatant were suspended to 120×10^6 cells in Cooled diluent (80ml of lactose solution 11%, 20 ml of egg yolk) and divided in 2 treatments: T1: 0 mg control and T2: 1.5 mg of CLC and samples were incubated for 15 min at 15°C. The samples were cooled to 5°C over a 90 min period and diluted 1:1 with Freeze diluent (72.5ml of lactose solution 11%, 6ml of glycerol, 1.5ml of Orvus-es-Paste). The sperm were packaged into 0.5ml straws, frozen 4.5 cm above the liquid nitrogen for 20 min before being plunged into liquid nitrogen for storage. Straws were thawed at 37°C for 30 sec and an aliquot of 0.1ml was diluted in 1ml of formalin-saline solution to assess the percentage of cells with intact acrosome. The percentage of acrossomal integrity was determined using a microscope and the cells were classified into 5 different categories (C) by Pursel et al. (1972). The data were determined by Anova.

Resultados e Discussão

The percentages of acrossomal integrity of spermatozoa was higher for spermatozoa treated with 1.5 mg of CLC (91% spermatozoa with normal acrosome (C1), 3.5% with sperm acrossome loss (C2), 2.2 with swollen acrosomes (C3), 1.7 with damaged acrosomes (C4) and 0.5% without acrosome (C5) compared to spermatozoa treated with control. Boar sperm membranes treated with 1.5 mg of CLC improved the acrosome membrane integrity.

Referências bibliográficas

Amorim EA, Graham JK, Spizziri B, Meyers M, Torres CAA. Effect of cholesterol or cholesteryl conjugates on the cryosurvival of bull sperm. *Cryobiology*, 58(2): 210-214, 2009.

Pursel VG, Johnson LA, Rampacek GB. Acrosome morphology of boar spermatozoa incubated before cold shock. *J. Anim. Sci.*, 34:278-83, 1972.

Palavras-chave: ciclodextrina, colesterol, espermatozóides, integridade do acrossoma, varrões.

Keywords: cyclodextrin, cholesterol, spermatozoa, acrossomal integrity, boars.

279

Adição de cisteína ao diluente Beltsville Thawing Solution para preservação de sêmen resfriado suíno (*Addition of cysteine into Beltsville Thawing Solution extender for boar semen preservation*)

C.K. Severo, A.M. Pereira, G.F. Ilha, L.F. Possebon, G.R. Pereira, M. Soares, J.F.C. Oliveira, P.B.D. Gonçalves

Laboratório de Biotecnologia e Reprodução Animal - BioRep, Universidade Federal de Santa Maria, 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil. E-mail: bayard@ufsm.biorep.br

Introdução

A cisteína atua como protetor de membranas celulares através da manutenção dos grupos sulfídricos e interação com peróxidos e radicais livre, reduzindo assim, as reações do oxigênio responsáveis pela peroxidação lipídica e conseqüente diminuição da função espermática. Ultimamente, um grande desafio enfrentado é obter um método de conservação de sêmen que possibilite a manutenção da capacidade fertilizante dos espermatozóides durante um tempo prolongado na espécie suína. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da adição de diferentes concentrações de cisteína ao diluidor de sêmen *Beltsville Thawing Solution* (BTS) resfriado.

Material e Métodos

Foram coletados ejaculados de três varrões e as amostras de sêmen diluídas em BTS e armazenadas a 17°C de acordo com os tratamentos: sêmen diluído com BTS (BTS), BTS+2,5mM de cisteína (CIS-2,5), BTS+5mM de cisteína (CIS5), BTS+10mM de cisteína (CIS-10), e BTS+20mM de cisteína (CIS-20). As avaliações quanto a motilidade, vigor, alterações morfológicas e compactação do ácido desoxirribonucleico (DNA) foram realizadas antes e após a diluição do sêmen, enquanto que, o teste de viabilidade espermática foi realizado através de sondas fluorescentes após a diluição. Os testes foram realizados 0, 24, 48 e 72h após a diluição. As sondas fluorescentes foram utilizadas em uma combinação de 100µg/mL FICT-PSA, 0.5mg/mL PI, e 153µM JC-1. O efeito dos diferentes tratamentos em relação a hora foi determinada pelo modelo de análise para dados repetidos com o programa estatístico SAS.

Resultados e Discussão

A motilidade e o vigor foram inferiores nos grupos CIS-10 e CIS-20 na hora 0 e superiores no grupo BTS após 24h de armazenamento ($P < 0,05$). O teste de DNA não foi influenciado pela adição de cisteína. Durante todos os períodos analisados, o grupo CIS-20 apresentou menor número de espermatozóides viáveis em relação aos demais grupos. Em conclusão, a cisteína junto ao BTS diminui a motilidade, o vigor e a viabilidade espermática em função do tempo e da

concentração de cisteína.

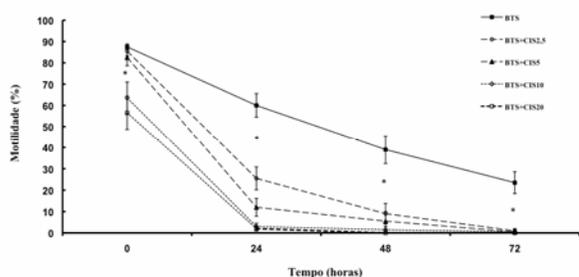


Figura 1. Efeito da adição de cisteína junto ao diluidor Beltsville Thawing Solution sobre a motilidade do sêmen suíno estocado a 17°C. *diferença significativa ($P<0,05$) entre tratamentos.

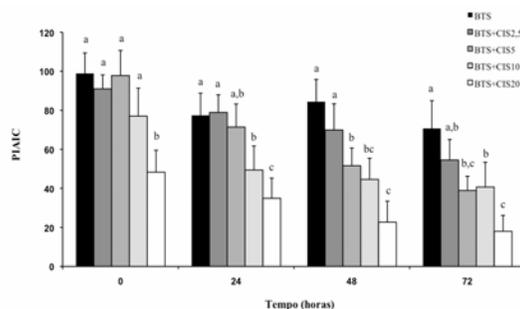


Figura 2. Efeito da adição de cisteína junto ao diluidor Beltsville Thawing Solution na viabilidade espermática (PIAIC) de sêmen suíno estocado a 17°C. Letras diferentes entre tratamentos ($P<0,05$).

Palavras-chave: Suíno, Beltsville Thawing Solution, diluente, cisteína, qualidade espermática.

Keywords: Swine, Beltsville Thawing Solution, extender, cysteine, sperm preservation.

280

Uso de dois protocolos de criopreservação de sêmen de suínos em processo de extinção sobre os parâmetros de viabilidade *in vitro* (*Use of two semen freezing protocols from endangered boars at in vitro viability parameters*)

L.S. Amorim¹, M.H.C. Barros¹, H.H. Shiomí¹, S.E.F. Guimarães², P.S. Lopes², J.D. Guimarães¹

¹ Dep. Veterinária, ² Dep. de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, Brasil. E-mail: lnlsamorimufv@gmail.com

Introdução

O processamento do sêmen na espécie suína para criopreservação tem limitações devido a maior sensibilidade das células ao processo, sendo necessárias de 7 a 9 horas, desde a coleta até o final do congelamento, evidenciando a necessidade de aperfeiçoamento e otimização dos protocolos de criopreservação para conservação de germoplasma. O objetivo do presente estudo foi comparar a eficácia de duas curvas de congelamento de sêmen avaliados por meio de testes de viabilidade *in vitro*, utilizando sêmen de animais da raça Piau em processo de extinção.

Material e Métodos

Foram coletados 22 ejaculados de 5 machos adultos da raça Piau (*Sus scrofa*) alojados na Granja de Melhoramento Genético de Suínos DZO-UFV/MG. Os ejaculados foram submetidos a duas curvas de criopreservação (CC): P1 – CC descrito por Fürst et al. (2005); P2 – CC descrito por Ohata et al. (2001), utilizando-se de meios de resfriamento e congelamento proposto por Ohata et al. (2001). A avaliação da viabilidade espermática do sêmen *in natura* e após o descongelamento (37° C/30seg.) foi realizada por meio de análise da motilidade (MOT) e vigor espermático (VIG), coloração supravital (SUP) e porcentagem de acrossomas normais (PAN). O vigor espermático foi analisado pelo teste não paramétrico de Kruskal Wallis, e os demais parâmetros por ANOVA e comparação de médias pelo teste de Tukey.

Resultados e Discussão

Tabela 1 – Parâmetros espermáticos do sêmen *in natura* e após-descongelamento

	MOT (%)	VIG (0-5)	SUP (%)	PAN (%)
Sêmen <i>in natura</i>	83,4±5,4 ^a	3,3±0,5 ^{ab}	82,6±7,1 ^a	95,9±2,7 ^a
P 1	20,9±12,4 ^b	2,5±0,5 ^b	14,8±12,0 ^b	14,8±10,3 ^b
P 2	49,5±12,1 ^c	3,4±0,4 ^a	39,9±10,4 ^c	44,6±14,4 ^c

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ($P<0,05$).

Os parâmetros de viabilidade espermática, com exceção do vigor, foram reduzidos ($P<0,05$) após o congelamento do sêmen. Entretanto, P1 apresentou valores inferiores para todas as variáveis analisadas quando comparado ao P2. Embora a curva de resfriamento rápida imposta pelo P1 (142,7 min.) tenha sido menor em relação a P2 (410,5 min.), a mesma mostrou efeito negativo sobre os parâmetros de viabilidade espermática após o descongelamento.

Referências bibliográficas

Fürst R, Carvalho GR, Fürst MCO, Ruas JRM, Borges AM. Efeito do resfriamento do sêmen equino sobre sua congelabilidade. *Arq Bras Med Vet Zootec*, v.57, n.5, p.599-607, 2005.

Ohata PM, Wentz I, Bernardi ML, Castagna C, Bortolozzo FP. Viabilidade do sêmen suíno congelado submetido a um período de equilíbrio pré-congelamento com ou sem a presença de plasma seminal. *Arq Fac Vet*, UFRGS, v.29, n.2, p.123-129, 2001.

Palavras-chave: Criopreservação, sêmen, testes *in vitro*, tempo de processamento, suíno.

Keywords: Cryopreservation, semen, *in vitro* tests, processing time, swine.

281

Isolamento mecânico e quantificação de folículos pré-antrais de suínos em diferentes intervalos de corte (*Mechanic isolation and quantification of preantral porcine follicles on different sections intervals*)

B.G. Alves, J.O. Jacomini, M.E. Beletti, J.F.L. Franco, V.R. Araújo, L.R. Faustino, K.A. Alves, R.M. Santos
Laboratório de Reprodução Animal da Universidade Federal de Uberlândia – UFU. E-mail: bennervet@gmail.com

Introdução

O isolamento de milhares de folículos ovarianos pré-antrais (FOPA) a partir de um único ovário e o posterior cultivo *in vitro*, depende do desenvolvimento de métodos eficientes de isolamento. Apesar da eficiência do procedimento enzimático em isolar FOPA, a utilização de enzimas pode prejudicar a viabilidade folicular em cultivo. Objetivou-se com este estudo determinar o melhor intervalo de secção utilizando um procedimento mecânico similar ao desenvolvido para bovinos (Figueiredo et al., 1993; Lucci et al., 2002).

Material e Métodos

Foram coletados 30 ovários de marrãs entre 6 e 8 meses. Após o abate os ovários foram transportados em frascos com PBS mais 5% de soro fetal bovino a 4°C. No laboratório os pares ovarianos foram pesados e divididos em 8 partes. Cada fragmento foi submetido a diferentes intervalos de corte: T1 (25µm), T2 (50µm), T3 (75µm), T4 (100µm), T5 (125µm), T6 (150µm), T7 (175µm) e T8 (200µm). Em seguida, os fragmentos foram dissociados e filtrados em malhas de náilon de 500 e 100µm de diâmetro. Os FOPA isolados foram avaliados sob microscópio invertido (200x) e mensurados em microscópio óptico (400x) acoplado ao software HImage97. Os dados foram analisados pelos testes t de Student para amostras pareadas e correlação de Pearson com nível de significância de 5%.

Resultados e Discussão

O número médio de FOPA isolados de cada tratamento foi de 49380 (T1), 65840 (T2), 105593 (T3), 81666 (T4), 79746 (T5), 74320 (T6), 79460 (T7) e 40400 (T8). Altas variações individuais num mesmo tratamento foram observadas. O limite de recuperação oscilou entre 2900 (T1) e 237700 (T7) folículos pré-antrais. O T3 (75µm) obteve a melhor média de isolamento, apesar de não haver diferença estatística em relação a T4, T5, T6, T7 e T8. No entanto, os resultados obtidos com os tratamentos T1 e T2, foram estatisticamente inferiores ($p < 0,05$) ao T3. O diâmetro médio dos folículos pré-antrais foi de $17,05 \pm 3,86 \mu\text{m}$ variando entre 10,55 e 29,85µm. Os ovários pesaram em média $3,98 \pm 1,06\text{g}$, havendo relação ($p < 0,05$) entre as variáveis peso e número de folículos pré-antrais isolados.

Referências bibliográficas

Figueiredo JR, Hulshof SCJ, Van den Hurk R, et al. Development of a combined new mechanical and enzymatic method for the isolation of intact preantral follicles from fetal, calf and adult bovine ovaries. *Theriogenology*. v.40, p.789-799, 1993.

Lucci CM, Rumpf R, Figueiredo JR, et al. Zebu (*Bos indicus*) ovarian preantral follicles: morphological characterization and development of an efficient isolation method. *Theriogenology*. v.57, p.1467-1483, 2002.

Palavras-chave: Isolamento, Folículos pré-antrais, Suínos, Ovários.

Keywords: Isolation, Preantral follicles, Porcine, Ovaries.

Agradecimento: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais – FAPEMIG.

282

Correlação entre o peso de placenta, tempo de expulsão e índice de natimortalidade de leitões (*The correlation between placental weight, expulsion length and stillborn rates of piglets in a farm*)

M.V.R. Christ¹, L.E. Kozicki²

¹Mestranda do Programa de Pós Graduação em Ciência Animal – PUCPR. José dos Pinhais, P – Brasil; ²Curso de Medicina Veterinária - Programa de Pós Graduação em Ciência Animal – PUCPR. São José dos Pinhais – PR. Brasil, E-mail: vicelle.ch@hotmail.com; kozicki.l@pucpr.br

Introdução

Os leitões natimortos representam cerca de um quarto das mortes do parto até o desmame e são a maior causa de mortalidade no ciclo produtivo, variando de 4 a 10% (DIAL et al., 1992). Sendo este um índice representativo dentro da suinocultura, a presente pesquisa objetivou correlacionar o peso de placenta com o tempo de sua expulsão e o índice de natimortalidade de leitões.

Material e Métodos

O estudo foi conduzido em fêmeas suínas primíparas, híbridas e hiperprolíferas, em uma granja produtora de leitões, na Região Metropolitana de Curitiba (Pr- Brasil). Os animais eram criados em sistema de gaiolas e a alimentação das gestantes era fornecida duas vezes ao dia e água disponibilizada *ad libitum*. Todas as fêmeas foram submetidas à inseminação artificial com sêmen resfriado. Foram acompanhadas 90 parturições, separando-se as placentas e pesando-as ao final do parto. Foram contabilizados e classificados o número de leitões vivos, natimortos e mumificados. Para a análise estatística dos dados foi utilizada a análise de correlação, ao nível de significância de 5% ($\alpha = 0,05$). Todos os

cálculos foram realizados utilizando o *Software* estatístico *GraphPad Prism* version 3.00 for Windows, San Diego – Califórnia, EUA.

Resultados e Discussão

Das 90 marrãs que tiveram o parto assistido, houve o nascimento de 1.088 leitões, sendo que 43 (3,95%) eram natimortos e 20 leitões (1,83%) eram mumificados. O peso médio da placenta de uma leitegada foi de 3210,2±7623 g e o tempo médio de expulsão da placenta após o último leitão foi de 64,3 ± 84 (min.). As correlações analisadas foram: peso de placenta (g), a quantidade de fetos natimortos, bem como o peso de placenta e o tempo para sua expulsão (min.). Relatos de peso de placenta e sua relação com a natimortalidade em suínos são infreqüentes na literatura. Van RENS e LEND (2004) afirmam que o peso da placenta tem relação com o intervalo de nascimento entre leitões, favorecendo ao aumento de risco de mortalidade perinatal; isto é, uma placenta mais pesada e espessa irá prolongar o processo de expulsão. Nos dados da presente pesquisa observou-se que não houve correlação entre o peso das placentas e o índice de natimortalidade. Ao se confrontar as variáveis peso de placenta e o tempo de expulsão placentária, não se constatou correlação, muito embora van RENS e LEND (2004) façam alusão de que, leitegadas com placenta mais espessa e pesada demandam maior tempo de expulsão placentária. Frente aos dados obtidos no atual experimento, concluiu-se que o peso da placenta de suínos desta granja, não interferiu sobre os índices de natimortalidade de leitões bem como sobre o tempo de expulsão dos anexos.

Referências bibliográficas

van Rens, B.T.T.M, van der Lend, T. Parturition in gilts: duration of farrowing, birth intervals and placenta expulsion in relation to maternal, piglet and placental traits. *Theriogenology* v.62, p331-352. 2004.

Dial, G.D.; Marsh, W.E.; Polson, D.D.; Vaillancourt, J.P. Reproductive failure: differential diagnosis. In: Leman, A.D.; Straw, B.E.; Mengeling, W.L.; D’Allaire, S.; Taylor, D.J. *Diseases of Swine*. 7ed. Ed. Iowa State University Press, 1992.

Palavras-chave: peso da placenta, natimortos, expulsão da placenta.

Keywords: Placental weight, stillbirths, expulsion length.

283

Prolapso uterino em porcas – relato de caso (Uterine prolapse in sows – case report)

H.H. Shiomi, M.H.C. Barros, A.Y. Chaya, L.H. Bulos, L.S. Amorim, S.E.F. Guimarães, P.S. Lopes, J.D. Guimarães
Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, Brasil. E-mail: mauriciohoshino@hotmail.com

Introdução

Prolapso uterino é a protrusão ou eversão de parte ou de todo o útero através da fenda vulvar, sendo ocasionalmente visto em fêmeas suínas durante o parto ou nos primeiros dias de puerpério. Dentre as causas de mortalidade em porcas, Chagnon et al. (1990) observou que 6,6% dos animais morreram devido à ocorrência de prolapsos uterinos. As causas dos prolapsos uterinos ainda são desconhecidas, porém sabe-se que existem condições predisponentes. Segundo Roberts (1986), a anomalia é mais comumente observada em porcas de ordem de parto mais avançadas, sendo relacionadas com maior tamanho da pelve, útero longo e flácido, relaxamento excessivo da região perineal, e fragilidade dos tecidos de sustentação do útero. Sobestiansky (2007) ainda relaciona a ocorrência de prolapsos uterinos em porcas com atrasos na involução uterina e alimentação pobre em cálcio.

Material e Métodos

A ocorrência de prolapso uterino foi observada em uma porca primípara pertencente ao grupo de matrizes de linhagens comerciais da Granja de Melhoramento Genético de Suínos DZO-UFV/MG. A fêmea apresentou comportamento reprodutivo normal, com manifestação do primeiro estro aos 164 dias de idade e intervalo entre estros de 20,33 dias. A primeira cobertura foi realizada após o quarto estro, tendo a sua gestação confirmada por ultra-sonografia (30 dias).

Resultados e Discussão

Aos 111 dias de gestação a fêmea começou a manifestar sinais de inquietação, com contrações abdominais esporádicas associadas a episódios de prolapso retal com regressão espontânea logo após o relaxamento. O prolapso uterino sucedeu-se no momento do parto, que ocorreu na data prevista (114dias). Dada a impossibilidade de reposição manual do órgão, optou-se pela realização da eutanásia e necropsia. Durante a inspeção do trato genital do animal, notou-se a presença de 12 corpos lúteos nos dois ovários (existiam somente dois leitões) e de aplasia uterina unilateral esquerda. Embora existam relatos de prolapsos uterinos em fêmeas suínas primíparas, nenhuma relação entre malformações anatômicas do útero e ocorrência de prolapsos foi encontrada na literatura científica, o que demonstra a raridade deste quadro patológico.

Referências bibliográficas

Chagnon M, Drolet R, D’Allaire S. A prospective study of sow mortality in commercial breeding herds. *Proc Int Congr Pig Vet Soc*, v.11, p.383, 1990.

Roberts SJ. *Veterinary Obstetrics and Genital Diseases* (Theriogenology), 3rd ed. Woodstock, 1986.

Sobestiansky J. *Doenças dos Suínos*. Goiânia: Cãnone Editorial, p.650, 2007.

Palavras-chave: Prolapso, útero, aplasia, suíno, primíparas.

Keywords: Prolapse, uterus, aplasia, swine, primiparous.

284

A ocorrência da brucelose em rebanho de suínos no Estado do Rio de Janeiro (*The occurrence of brucellosis in herds of pigs in the state of Rio de Janeiro*)

G.S. Meireles¹, J.S. Rodrigues¹, R.C.G. Pereira¹, J.L.B.P. Jorge², W. Flausino¹, V.L.T. Jesus¹

¹Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica/RJ; ²Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia, Pinheiral/RJ. Email: jesus@ufrj.br

Introdução

A suinocultura no Brasil vem apresentando nos últimos anos um grande avanço tecnológico, mesmo assim há registro de baixos índices de produtividade, devido a diversos fatores, tais como a utilização de práticas de manejo inadequada e deficiências de diagnóstico de enfermidades (RIBEIRO, 2005). O diagnóstico da brucelose na espécie suína, não é aplicado como rotina nas granjas do Estado do Rio de Janeiro, portanto o objetivo deste inquérito foi de associar a ocorrência de corrimentos vaginais, abortamentos, repetições deaios, fetos mumificados e abscessos em matrizes, varrões e leitões com a brucelose.

Material e Métodos

Durante os meses de julho a dezembro de 2008, foram registrados corrimento vaginal e repetições de cio, natimortos e fetos mumificados em matrizes suínas, nas quais realizava como cobertura a monta natural. Para diagnóstico foi feita a coleta de sangue, na base auricular com tubos e agulhas estéreis, destinados ao diagnóstico da brucelose, submetido a prova de Antígeno Acidificado Tamponado com antígeno para *Brucella abortus* e a coleta de muco vaginal para a Tricomonose Genital (TG). Os dados foram inseridos no programa Epiinfo 2004(CDC), após análise foram submetidos ao teste Qui-quadrado e Fisher exato quando recomendado.

Resultados e Discussão

Foram realizadas quatro coletas no rebanho, com intervalos mensais, a primeira coleta foi das matrizes com distúrbios reprodutivos, sendo diagnosticado 3/10 (30,0%) fêmeas reagentes para a brucelose e todas negativas para TG. Na segunda coleta, de 277 animais, 14/151 (9,3%) fêmeas e 7/119 (5,6%) machos foram reagentes para a brucelose, sem diferença significativa entre os sexos. Foi recomendado o abate sanitário dos reagentes e dos leitões lactantes das matrizes reagentes. Em seguida, houve duas novas coletas, sem registro de animal reagente. Visando a certificação da granja para venda de reprodutores, o restante do rebanho foi descartado, e iniciado um novo plantel com rígidas medidas sanitárias para compra e venda de matrizes, servindo de alerta o exame de brucelose na rotina das granjas de suínos no Estado do Rio de Janeiro.

Referências Bibliográficas

Centers Disease Control and Prevention (CDC), Acessado em 12 de Março de 2009, <http://www.cdc.gov>
Ribeiro, t.c.f.s. Aspectos Produtivos da Suinocultura e Estudo Epidemiológico da Brucelose Suína na Região Metropolitana de Natal, RN. 2005. Tese (Doutorado em Ciência Veterinária) - Universidade Federal Rural de Pernambuco.

Palavras-chave: abortamento, abscesso, reprodução.

Keywords: abortion, abscess, reproduction.