

# Avaliação estrutural de espermatozoides caprinos localmente adaptados criopreservados no período seco

Structural evaluation of locally adapted cryopreserved goat spermatozoa in the dry period

<u>Jefferson Hallisson Lustosa da Silva</u><sup>1,\*</sup>, Felipe Pereira da Silva Barçante<sup>1</sup>, Marcos Antônio Celestino de Sousa Filho<sup>1</sup>, Dayana Maria do Nascimento<sup>1</sup>, Dayse Andrade Barros<sup>1</sup>, Yndyra Nayan Teixeira Carvalho Castelo Branco<sup>1</sup>, Micherlene da Silva Carneiro Lustosa<sup>1</sup>, Viviany de Sousa Rodrigues<sup>1</sup>, Filipe Nunes Barros<sup>1</sup>, Antônio de Sousa Junior<sup>1</sup>, Isôlda Márcia Rocha do Nascimento<sup>1</sup>, José Adalmir Torres de Souza<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Biotecnologia da Reprodução Animal (LBRA), CCA/UFPI, Teresina-PI; <sup>2</sup>Professor de Biotecnologia da Reprodução Animal, CCA/UFPI, Teresina, PI, Brasil.

\*E-mail: jeffersonlsilva11@hotmail.com

O espermograma assume grande importância na avaliação da aptidão reprodutiva de um macho destinado à reprodução, pois permite a predição da qualidade do reprodutor, visto que ele demonstra sua potentia generandi. A criopreservação de sêmen é uma importante biotécnica reprodutiva, tendo em vista que promove a conservação de germoplasma por tempo indeterminado. Através da criopreservação de sêmen será possível resgatar populações que, por algum motivo, possam ter se extinguido e que tenham importantes características para a pecuária nacional. Foram utilizados 18 reprodutores caprinos adultos, com idade entre 2 e 5 anos, das raças Azul (AZ), Canindé (CD) e Moxotó (MX). Todos os animais foram submetidos a uma avaliação clínica e andrológica preliminar. As coletas de sêmen foram realizadas no turno da manhã, pelo método da vagina artificial, com auxílio de fêmea estrogenizada. Após a coleta, um pool dos ejaculados foram formados para análise, onde uma alíquota de cada amostra foi avaliada quanto aos parâmetros seminais físicos (volume, turbilhonamento, motilidade, vigor e concentração espermática). O sêmen foi diluído em meio Tris-Gema de acordo com a concentração espermática e congelado pelo método automatizado, sendo posteriormente armazenado em botijão criogênico a -196°C. Após a descongelação em banho maria a 37°C por 30 segundos, foi procedida a análise estrutural dos espermatozoides, utilizando sondas fluorescentes, determinando a integridade de membrana plasmática, integridade acrossomal e atividade mitocondrial das células espermáticas, em diferentes tempos pós-descongelação (0, 60, 120 e 180 minutos). As raças avaliadas não diferiram quanto aos aspectos físicos avaliados, porém o volume de sêmen da raça CD (0,37mL) não atingiu o mínimo estabelecido pelo CBRA (0,5 mL) para essa espécie, por outro lado a concentração espermática nessa mesma raça foi superior às demais raças avaliadas, mantendo um número viável de espermatozoides no ejaculado no período seco. Todas as raças avaliadas nesse período apresentaram médias de turbilhonamento reduzidas ( $\leq 4$ ), o que pode ser explicado, em grande parte, pelo reduzido vigor espermático apresentado (≤ 3), à exceção da raça MX, que apresentou vigor de 3,2. Na análise estrutural observou-se elevada percentagem de células com integridade de membrana plasmática (≥50%), sem diferir entre os tempos pós-descongelação. Dessa forma, o processo de criopreservação nesse período não gerou danos significativos à membrana espermática nessas raças. A raça AZ apresentou baixos índices de atividade mitocondrial (37,65%), que pode ter exercido efeito direto na motilidade espermática (66%) ainda no sêmen fresco, nesse período do ano. A integridade de acrossoma das células espermáticas apresentaram-se elevadas em todas as raças avaliadas nesse período (≥50%), não havendo diferença mesmo após 3 horas de descongelação das amostras. A integridade acrossomal é fundamental para manutenção da capacidade fertilizante da célula espermática pós-capacitação. Conclui-se que a criopreservação do sêmen dessas raças durante o período seco pode ser utilizada como ferramenta de conservação genética desses ecotipos, pois mantém padrões andrológicos seminais aceitáveis.

Palavras-chave: sêmen, caprino, criopreservação, banco de germoplasma.

**Keywords**: semen, goat, cryopreservation, germplasm bank.



### Crescimento folicular em cabras superovuladas suplementadas com farinha de linhaça como fonte alimentar de ácidos graxos poliinsaturados

Follicle growth in superovulated goats supplemented with linseed as source of dietary PUFA

Juliana Paula Martins Alves<sup>1</sup>, <u>Raíla Stefanie Costa Reis</u><sup>2,\*</sup>, Juliana Gomes Vasconcelos<sup>2</sup>, César Carneiro Linhares Fernandes<sup>3</sup>, Rafael Rossetto<sup>4</sup>, Davide Rondina<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias (PPGCV – UECE); <sup>2</sup>Graduanda em Medicina Veterinária - Universidade Estadual do Ceará - UECE; <sup>3</sup>Pós-doutor do PPGCV – UECE; <sup>4</sup>Professores do Curso de Medicina Veterinária da Faculdade de Veterinária – UECE, CE, Brasil.

\*E-mail: railasreis@hotmail.com

A utilização de alimentos ricos em ácidos graxos poliinsaturados como a linhaça, tem sido uma alternativa viável para a alimentação de ruminantes durante a reprodução por se tratar de um alimento constituído por ácido linolênico (ALA,18:3n-3) capaz de aumentar o conteúdo energético da dieta e melhorar o desempenho reprodutivo de pequenos ruminantes, influenciando o crescimento folicular, número de folículos, ovulação e viabilidade do corpo lúteo. Assim, o objetivo deste estudo foi investigar os efeitos da adição de linhaça na alimentação de cabras superovuladas sobre a resposta ovariana. Foram utilizadas vinte cabras adultas, com escore de condição corporal (3,0±0,2, média±DP), idade (34,5±7,5 meses) e peso (30,4±3,5 kg) homogêneos agrupadas em dois grupos experimentais alimentadas com ração mista total à base de capim-elefante picado (Pennisetum purpureum spp.) e concentrado (10% de proteína bruta e 67% de nutrientes digestíveis totais) em solução aquosa. Durante 15 dias a ração total foi administrada em quantidade para satisfazer as exigências de manutenção e reprodução para cabras adultas não leiteiras. Sete dias após o início da alimentação, foi adicionado ao concentrado farinha de linhaça (Linum usitatissimum L.) na base de 30% da matéria seca na dieta de dez animais (n=10). Cinco dias antes do início da alimentação, todos os animais tiveram o estro sincronizado através a inserção de um implante intravaginal de progesterona (CIDR®) no dia 0 (D0). No Dia 6 (D6) o CIDR foi removido e 0,075 mg de PGF2a (Prolise®) e 150 IU eCG (Folligon®) foram administrados i.m. Após 36h (Dia 7), foi administrada uma dose de 0,125 mg de GnRH (Gestran®) i.m. Para superovulação, um total de 200 mg de pFSH (Folltropin®) foi aplicado i.m. em intervalos de 12h (5 aplicações de 40 mg/mL) a partir do Dia 9 (D9) até o Dia 11 (D11). Após a retirada do CIDR, diariamente durante 6 dias, o crescimento folicular foi monitorado por ultrassonografia transretal (Mindray - DP-2200Vet) e a população folicular foi classificada em folículos pequenos (<3 mm), médios (>3 e <6 mm) e grandes (>6 mm). Os dados foram analisados mediante análise de variância utilizando como fator o grupo alimentar (linhaça e sem linhaça), tipo de folículo (pequeno, médio e grande) e dia de observação (D6 e D11) assim como as interações. A comparação entre médias foi realizada através do teste de Tukey. Os números de folículos foram analisados pelo teste qui-quadrado e os valores descritos como média e erro padrão da média. Embora a população folicular tenha apresentado incremento significativo em todas as classes foliculares nos Dias 6 e 11 para ambos os tratamentos alimentares, não foram observadas diferenças entre os grupos em relação ao número de folículos. No que se refere ao diâmetro médio dos folículos pequenos  $(2.1 \pm 0.1 \text{ mm})$  e médios  $(4.3 \pm 0.1 \text{ mm})$ , a utilização de linhaça não induziu a um efeito significativo. Foi verificado incremento no diâmetro de folículos pequenos e médios para ambos os grupos alimentares, com resultado significativo apenas nos folículos médios do grupo sem linhaca (3.8  $\pm$  0,1 mm vs. 4,4  $\pm$  0,1 mm; P=0,01). Em relação aos folículos grandes, foram observados apenas no D11 (6,9  $\pm$  0,2 mm), não tendo diferenças entre os grupos alimentares. A suplementação com ácidos graxos n-3 e n-6, pode promover o aumento nos níveis de colesterol, precursor de hormônios esteroides foliculares. Entretanto, estudo realizado em ruminantes, foi verificado que os níveis séricos de 18:3n3 não foram correlacionados com a taxa de crescimento folicular diária o que corrobora com os resultados encontrados no presente trabalho. Desta maneira, podemos concluir que a utilização de linhaça como fonte de ácidos graxos poliinsaturados em cabras superovuladas não alterou a população folicular ovariana nem o tamanho folicular.

**Palavras-chave**: Desenvolvimento folicular, ácidos graxos poliinsaturados, linhaça, cabras.

Keywords: Follicular development, polyunsaturated fatty acids, linseed, goats.



## Desenvolvimento folicular em cabras tratadas com suplementação energética curta à base de glicerina

Follicular development in goats short-term supplemented with glycerin

Caroline Pessoa da Silva<sup>1</sup>, <u>Guilherme Araújo Kubota</u><sup>2</sup>,\*, Felipe Brener Bezerra de Oliveira<sup>1</sup>, César Carneiro Linhares Fernandes<sup>3</sup>, Rafael Rossetto<sup>4</sup>, Davide Rondina<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Doutorandos do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias (PPGCV/UECE), Fortaleza, CE, Brasil; <sup>2</sup>Graduando em Medicina Veterinária - UECE Fortaleza, CE, Brasil; <sup>3</sup>Pós-doutor do PPGCV/UECE Fortaleza, CE, Brasil; <sup>4</sup>Professores do Curso de Medicina Veterinária da Faculdade de Veterinária–UECE, CE, Brasil.

\*E-mail: guilhermekubota@hotmail.com

Subprodutos industriais, como a glicerina, podem ser uma alternativa de suplementação energética em ruminantes. Apesar do seu emprego comprovado na bovinocultura leiteira ou na engorda de ovinos, existem poucas informações sobre o seu uso na reprodução, sobretudo em caprinos. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da suplementação energética a base de glicerina sobre o desenvolvimento folicular em cabras. Trinta e duas cabras mestiças Anglo-nubiana, adultas, pluríparas, foram selecionadas aleatoriamente com idade e peso vivo (media±DS) de 43,1±8,0 meses e 35,2±5,8 kg, respectivamente, e condição corporal de 2,6±0,4. Os animais foram mantidos em duas baias e receberam dieta composta de capim elefante picado (Pennisetumpurpureum) e concentrado comercial (10.6% de proteína bruta e 66,8% de nutrientes digeríveis totais com base na matéria seca) para atender os requerimentos nutricionais de manutenção para cabras adultas não leiteiras. Todos os animais tiveram a onda folicular e o estro sincronizados utilizando o modelo de primeira onda (Viñoles C. et al. 2010. Reproduction, 140(6):865-874). Foram administradas três injeções, com intervalos de sete dias cada, do análogo a prostaglandina (PGF2α) D-Cloprostenol 100μg (Prolise®).Os animais foram divididos aleatoriamente em dois grupos: grupo controle (n=16) que receberam 200mL de solução salina, e grupo glicerina (n=16), com suplementação energética de 200mL de glicerina (99% de glicerol), equivalente a 1.03 Mcal de energia metabolizável administrados em forma de drench(90% glicerol: 10% de solução salina), 1h após a alimentação durante seis dias, a partir da 2ª aplicação de PGF2α.A análise do desenvolvimento folicular ovariano durante o período de administração da glicerina foi realizada com aparelho ultrassonográfico (Mindray- DP-2200Vet). Considerou-se como onda folicular um grupo de folículos em crescimento no intervalo de 48h com tamanho ≥ 2 mm.As imagens ultrassonográficas foram gravadas na forma de vídeo a qual seguiu a captura e mensurações das estruturas de interesse através do software Image J.Os dados foram analisados por análise de variância utilizando como fator o grupo alimentar (controle e glicerina) e dia de observação\aplicação da glicerina (Dia 0,1,2,3,4 e 5) assim como a respectiva interação. A comparação entre médias foi realizada através do teste de Tukey. Os valores foram descritos mediante média e erro padrão da média. Para comparar a dinâmica de desenvolvimento da onda folicular de forma similar para todos os animais e também em tratamentos alimentares curtos foi empregado o modelo de primeira onda. Foram observados em ambos os grupos, crescimentos positivos do diâmetro folicular ao longo da primeira onda (P<0,001). Entretanto, a administração de glicerina não afetou a taxa de crescimento, sendo semelhante ao grupo controle  $(0.13 \pm 0.1 \text{ mm})$ dia vs.  $0.15\pm0.1$ mm\dia; P=0.56). O diâmetro médio folicular não diferiu estatisticamente entre os tratamentos no Dia 5 (4,1±0,1 mm vs. 4,3±0,1 mm; P=0,14). Neste mesmo dia, foi registrado no grupo glicerina o diâmetro máximo folicular (4,58 mm).No Dia 2 de análise ultrassonográfica, em ambos os grupos, foi identificado o surgimento da segunda onda folicular não sendo observado efeito do tratamento na taxa de crescimento (0,4±0,1 mm\dia vs. 0,6±0,1 mm\dia; P=0,14), embora este último parâmetro tenha resultado em valores superiores ao da primeira onda (0,5±0,1 mm\dia vs. 0,14±0,1 mm\dia; P<0,001).O diâmetro médio no Dia 5 da segunda onda foi de 3,9±0,1mm, não tendo efeito do grupo alimentar. A suplementação energética por um curto período não interfere no recrutamento folicular da onda emergente, entretanto pode induzir à um aporte energético local beneficiando a atividade ovariana. Podemos concluir que a administração de glicerina como estratégia de suplementação energética não induziu alterações no desenvolvimento folicular em cabras.

Palavras-chave: Desenvolvimento folicular, suplementação energética curta, glicerina, cabras.

Keywords: Follicular development, short-term supplemented, glycerin, goats.



# Efeito da castração nas características de ecotextura das glândulas bulbouretrais e próstata em caprinos

Castration effect on echotextural characteristics of the bulbourethral glands and prostate of goats

Maria Júlia Dias Amâncio\*, Ricardo Perecin Nociti, Mariana Garcia Kako Rodriguez, Victor José Correia Santos, Renata Sitta Gomes Mariano, Ricardo Andres Ramirez Uscategui, Bruno Biagioli, Maria Emília Franco Oliveira

FCAV/UNESP Jaboticabal, SP, Brasil. \*E-mail: mjuliadias.a@gmail.com

As glândulas sexuais acessórias tem grande participação nos eventos fisiológicos da reprodução dos machos, sendo de suma importância sua avaliação no exame andrológico. Em pequenos ruminantes, a ultrassonografia transretal é uma alternativa satisfatória para avaliação, uma vez que possibilita o exame direto das glândulas de uma forma não invasiva, simples e segura. Porém, o exame ultrassonográfico dos órgãos reprodutores masculinos ainda não apresenta ampla aplicação, sendo que a maior justificativa provém da carência de estudos sobre sua caracterização em condições fisiológicas e, principalmente, patológicas. Em virtude da grande lacuna de estudos ultrassonográficos destas glândulas em caprinos e ovinos, o objetivo do presente estudo foi analisar as características de ecotextura das glândulas bulbouretrais e próstata em caprinos antes e após serem submetidos a castração, visando simular condições patológicas relacionadas a redução ou ausência de andrógenos. Foram utilizados dez machos caprinos mestiços, sexualmente adultos, com aproximadamente 14 meses de idade. Os animais foram submetidos a dois diferentes procedimentos de castração: técnica cirúrgica de Orquiepididectomia bilateral (G1, n = 6) e Angiotripsia/Burdizzo (G2, n = 4). Os exames de ultrassonografia Modo-B foram realizados imediatamente antes do procedimento (D0), 30 (D30), 45 (D45), 60 (D60), 75 (D75) e 90 dias após as castrações (D90), utilizando o equipamento MyLab 30 Vet (Esaote, Itália) acoplado a um transdutor linear transretal de 7,5 MHz. Imagens ultrassonográficas das glândulas bulbouretrais e próstata foram analisadas quanto a ecotextura usando o software Image ProPlus®, quando se obteve os valores numéricos de pixel (VNPs) e a heterogeneidade de pixels (desvio padrão (DP) dos VNPs) dentro de regiões circulares de interesse distribuídas ao longo do parênquima das glândulas. Os dados (média±DP) foram analisados sob efeito da técnica de castração (grupos), dias de avaliação e sua interação (ANOVA para medidas repetidas com teste de Tukey post hoc (p<0,05). Para os VPNs das glândulas bulbouretrais, não houve interação entre os efeitos e tampouco diferença entre grupos (G1: 121,0±21,3 e G2: 117,4 ± 24,4). Porém, houve diferença entre os dias D0 e D30 (p=0,006; D0: 138,8±20,0, D30: 115,9±23,0, D45: 112,6±32,2, D60: 116,2±14,1, D75: 112.7±12.7 e D90: 119.2±20.5). Para a heterogeneidade destas glândula, não houve interação. tampouco efeito de grupos (G1: 21,4±3,0 e G2: 20,4±3,0) e de dias (D0: 21,4±2,0, D30: 21,5±3,3, D45: 21,1±3,9, D60: 21,0±3,1, D75; 19,9±3,4 e D90: 21,0±2,8). Para os VPNs da próstata, não houve interação, nem diferenças entre grupos (G1: 87,3±18.8 e G2: 84,1±17,5) e dias (D0: 97,0±13,6, D30: 85,9±16,5, D45: 84,6±18,9, D60: 86,6±17,3, D75: 78,2±17,1 e D90: 82,3±23,4). Enquanto para a heterogeneidade da próstata, houve interação entre os efeitos (p=0,047), sendo para G1 (D0:  $99,6\pm13,6c$ , D30:  $89,1\pm17,7cd$ , D45:  $80,4\pm17,3e$ , D60:  $86,0\pm20,8f$ , D75:  $79,2\pm15,5d$  e D90:  $89,4\pm25,9f$ ) e G2 (D0:  $93,8\pm14,6b$ , D30:  $82,0\pm15,8f$ , D45:  $90,9\pm22,1a$ , D60:  $87,4\pm13,3de$ , D75: 76,7±21,8f e D90: 71,7±16,7g). Em suma, as características ecotexturais do parênquima das glândulas bulbouretrais e próstata foram alteradas de diferentes formas após a castração por Orquiepididectomia bilateral ou Burdizzo. Apoio financeiro: Fapesp (n° 2015/22823-9).

**Palavras-chave**: ultrassonografia, glândulas sexuais acessórias, degeneração pós-castração. *Keywords*: ultrasonography, accessory sex gland, degeneration post-castration.



# Gonadotrofinas alternativas para indução do estro sincronizado em cabras: resultados preliminares

Alternative gonadotrophins for oestrus induction in goats: preliminar results

<u>Juliane Teramachi Trevizan</u><sup>1,\*</sup>, Ana Carolina Pedrosa<sup>2</sup>, Viviane Lopes Brair<sup>3</sup>, Jader Forquim Prates<sup>4</sup>, Carla Knopp Barreto<sup>5</sup>, Isabel Oliveira Cosentino<sup>6</sup>, Jeferson Ferreira da Fonseca<sup>7</sup>, Maria Emília Franco Oliveira<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Faculdade de Ciências Veterinárias e Agrárias, UNESP/FCAV, Jaboticabal, SP, Brasil; <sup>2</sup>Unirversidade de Rio Preto, (UNIRP), São José do Rio Preto, SP, Brasil; <sup>3</sup> UNIGRANRIO, Duque de Caxias, RJ, Brasil; <sup>4</sup>Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais, Rio Pomba, MG, Brasil; <sup>5</sup>Universidade Presidente Antônio Carlos (UNIPAC), Juiz de Fora, MG, Brasil; <sup>6</sup>Universidade Federal Fluminense (UFF), Niterói, RJ, Brasil, <sup>7</sup>Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral, CE, Brasil.

\*E-mail: juliane.t.teramachi@hotmail.com

A busca de diferentes gonadotrofinas para a indução do estro em cabras têm sido vista como alternativa para substituição do eCG, gonadotrofina atualmente consolida na espécie, mas que oferece algumas desvantagens quando administrada repetidamente. A mais marcante, é o desenvolvimento de anticorpos anti-eCG, que leva ao atraso do estro e da ovulação. Diante disso, o objetivo do presente estudo foi avaliar a eficácia de diferentes gonadotrofinas para indução do estro em cabras da raça Toggenburg. Foram utilizadas 82 cabras (49 pluríparas, 15 primíparas e 18 nulíparas) dividas homogeneamente em três grupos:  $G_{eCG}$  (n= 29),  $G_{hCG}$  (n=26) e  $G_{FSH}$  (n=27). As fêmeas foram submetidas à indução de estro com esponja intravaginal (60 mg de acetato de medroxiprogesterona; Progespon<sup>®</sup>, Zoetis, Brasil) por 6 dias. Vinte e quatro horas antes da retirada da esponja, foram administrados 30,0 µg d-cloprostenol (Prolise®; ARSA S.R.L., Argentina) latero-vulvar e gonadrotrofinas por via intramuscular: G<sub>eCG</sub> (controle): 200 UI eCG/animal (Novormon 5000<sup>®</sup>; Zoetis, Brasil), G<sub>hCG</sub>: 300 UI de hCG (Vetecor 5000<sup>®</sup>; Hertape Calier, Brasil) e ou G<sub>ESH</sub>: 30 UI (Pluset 500UI®Hertape Calier, Barcelona, Espanha). Após a remoção da esponja, o estro foi monitorado a cada 12 horas, e as fêmeas submetidas a monta natural 1 vez ao dia, enquanto manifestavam cio. O diagnóstico de prenhes foi realizado por ultrassonografia (Mindray, M5, China) após 30 dias das coberturas. Os dados de estro (duração do estro e intervalo da retirada da esponja ao início do estro) foram avaliados pela análise de variância e teste de Tukey, enquanto as taxas de cabras em estro e de concepção foram avaliadas por Qui-quadrado (P<0,05). As porcentagens de animais em estro foram semelhantes (P>0.05) para  $G_{eCG}$  (100% ou 29/29),  $G_{hCG}$  (96,15% ou 1/26) e  $G_{FSH}$  (88,90% ou 3/27). O intervalo para o estro foi superior (P<0,05) no  $G_{ESH}$  (64,79±13,12 h) em comparação ao  $G_{eCG}$  (26,58 ± 1,91 h) e  $G_{hCG}$  (37.90  $\pm$  5.82 h). As durações do estro foram semelhantes (P> 0.05) entre  $G_{eCG}$  (38.49  $\pm$ 2,23h),  $G_{hCG}$  (31,80 ± 2,5h) e  $G_{FSH}$  (36,67 ± 2,28h). As taxas de concepção prenhez não diferiram (P>0.05) entre os protocolos hormonais, sendo 65,52% (18/29), 48,0% (12/25) e 68% (17/24) para G<sub>eCG</sub>, G<sub>hCG</sub> e G<sub>ESH</sub>, respectivamente. Em conclusão, o FSH e a hCG podem ser utilizadas como gonadotrofinas alternativas para indução de estro sincronizado em cabras Toggenburg, em substituição ao tradicional uso da eCG.

**Palavras-Chave**: gonadotrofina coriônica equina, gonadotrofina coriônica humana, hormônio folículos estimulante, estro, taxa de concepção, caprinos.

**Keywords**: equine chorionic gonadotropin, human chorionic gonadotropin, follicle-stimulating hormone, oestrus, conception rate, goat.

Apoio financeiro: Capes, CNPQ 479826/2013-7.



#### Indução de estro sincronizado com diferentes dispositivos vaginais em cabras da raça Saanen durante a estação de anestro

Induction of synchronous estrus with different intravaginal devices in Saanen does during the non-breeding season

Maíra de Oliveira Veiga<sup>1,\*</sup>, Ana Lucia Rosa e Silva Maia<sup>2</sup>, Vânia Maria de Oliveira<sup>3</sup>, Jader Forquim Prates<sup>4</sup>, Viviane Lopes Brair<sup>5</sup>, Carla Knopp Barreto<sup>6</sup>, Felipe Zandonadi Brandão<sup>2</sup>, Joanna Maria Gonçalves Souza-Fabjan<sup>2,5</sup>, Maria Izabel Carneiro Ferreira<sup>7</sup>, Jeferson Ferreira da Fonseca<sup>7</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, Brasil; <sup>2</sup>Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ, Brasil; <sup>3</sup>Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG; <sup>4</sup>IFSUDESTEMG, Campus Rio Pomba, MG, Brasil; <sup>5</sup>Unigranrio, Duque de Caxias, RJ, Brasil; <sup>6</sup>Unipac-JF, Juiz de Fora, MG, Brasil; <sup>7</sup>Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral, CE, Brasil. \*E-mail: mairaveigamv@hotmail.com

Os caprinos são animais poliéstricos estacionais de dias curtos e quanto maior a distância da Linha do Equador mais evidente é este fenômeno. O decréscimo de horas luz por dia é, portanto, característica definitiva para sua reprodução que ocorre do final do verão ao início do inverno em grande parte da Região Sudeste do Brasil. Assim, a indução de estro fora da estação de acasalamento natural é imprescindível e pode ser eficientemente obtida por meio da utilização de progestágenos associados com gonadotrofinas e prostaglandinas. O objetivo deste estudo foi avaliar a eficiência de diferentes dispositivos vaginais e de doses de progesterona/progestágeno para a indução de estro em cabras da raça Saanen durante a estação de anestro. Foram utilizadas 51 cabras divididas em três grupos experimentais que receberam dispositivos vaginais por seis dias, além de 37,5 µg d-cloprostenol (Prolise<sup>®</sup>; ARSA S.R.L., Buenos Aires, Argentina) latero-vulvar e 200 UI eCG (Novormon 5000<sup>®</sup>; Zoetis, Campinas, Brasil) i.m. 24 h antes da retirada do dispositivo. Os dispositivos utilizados foram esponjas vaginais (G1, n=18; 60 mg MAP; Progespon®, Zoetis Indústria de Produtos Veterinários Ltda, Campinas, Brasil), absorvente íntimo humano tamanho mini (O.B®; Johnson & Johnson, São José dos Campos, Brasil) embebido com 200 mg (G2, n=17) ou 400 mg (G3, n=16) de progesterona micronizada (Utrogestran®, Capsugel Ploermel – Zone Industrial Camagnon, França). Foram utilizados nove machos adultos de fertilidade comprovada. Após a remoção do dispositivo, o estro foi monitorado duas vezes ao dia (manhã e tarde) por quatro dias. As fêmeas foram acasaladas ao início do estro e 24 h após se ainda em estro. A gestação foi verificada por ultrassonografia transretal realizada 60 dias após o acasalamento. Os dados qualitativos e quantitativos foram avaliados pelo teste de exato de Fisher e análise de variância/Teste de Tukey, respectivamente, a 5% de significância. A taxa de apresentação de estro foi semelhante (P>0,05) para G1 (77,8%; 14/18), G2 (88,2%; 15/17) e G3 (93,7%; 15/16). O intervalo para o estro (média ± erro padrão) não diferiu (P>0,05) entre G1 (48,8  $\pm$  7,6 h), G2 (39,2  $\pm$  5,3 h) e G3 (44,0  $\pm$  6,4 h). O número de montas por cabra também foi semelhante (P>0.05) entre G1  $(1.9\pm0.1)$ , G2  $(1.9\pm0.1)$  e G3  $(1.8\pm0.1)$ . A taxa de concepção de G1 (50.0%); 9/18) não diferiu (P>0,05) de G2 (29,4%; 5/17) e G3 (68,7%; 11/16), porém a taxa de concepção em G3 foi superior (P<0.05) a de G2. Os resultados deste estudo sugerem que o uso de ambos os dispositivos com suas respectivas doses de progestágeno/progesterona induzem eficientemente o estro sincronizado em cabras. Todavia, a dose de 200 mg de progesterona, mesmo provendo uma resposta ao estro semelhante aos demais grupos, esteve relacionada a uma taxa de concepção que deve ser considerada com cautela.

**Palavras-chave**: indução estro, progesterona, caprinos, Saanen. *Keywords*: estrous induction, progesterone, goat, Saanen.

**Suporte Financeiro**: EMBRAPA (Projeto 02.08.02.005.00.04) e CNPq (Projeto 310166/2012-8).



#### Mastectomia bilateral em caprino com mastite gangrenosa associada à ovariectomia: Relato de caso

Bilateral mastectomy and ovariectomy in a goat with gangrenous mastitis: Case report

Bruna Marcele Martins de Oliveira<sup>2</sup>, <u>Bianca Tainá Azevedo<sup>1</sup></u>,\*, Débora Fernandes Barreira<sup>1</sup>, Juliano Nunes de Oliveira<sup>1</sup>, Willian Guimarães Gilloni<sup>1</sup>, Nathália Helen Alves<sup>1</sup>, Noel Eduardo de Oliveira Cintra<sup>1</sup>, Thayná Florêncio<sup>1</sup>, Paula Guimarães Félix<sup>2</sup>, Nara Lúcia Ricelli<sup>2</sup>, Danielle Cristinne Baccarelli da Silva<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Graduandos do curso de Medicina Veterinária da Faculdade Anhanguera de Campinas, Campinas, SP, Brasil; <sup>2</sup>Professores do curso de Medicina Veterinária da Faculdade Anhanguera de Campinas, Campinas, SP, Brasil.

\*E-mail: bianca ta@outlook.com

Mastite é o processo de inflamação da glândula mamária relacionado com o nível de exposição do teto a patógenos por más condições de higiene, lesões, manejo inadequado, problemas na ordenha mecânica ou manual. A mastite gangrenosa é a mais radical das formas de mastite, que leva a perda do úbere acometido, sendo necessária a realização de tratamento cirúrgico para retirada do tecido necrosado. A ovariectomia possui indicações terapêuticas e experimentais e neste caso, foi associada à mastectomia com o intuito de manter o animal de estimação na propriedade, sem correr o risco de prenhez indesejada. Um caprino, fêmea, de 3 anos de idade, sem raça definida, foi atendida no Hospital Veterinário São Francisco de Assis (Faculdade Anhanguera Campinas) com aumento de volume em toda a extensão do úbere, com aumento de temperatura local e sinais de necrose em ambos os tetos, com evidente perda parcial de tecido mamário. À anamnese o proprietário salientou que o animal iniciou as alterações da glândula mamária cerca de um mês antes do atendimento. Ao exame físico o animal apresentava leve taquicardia e taquipneia, temperatura 40 °C, discreta apatia e perda parcial de apetite. Os exames complementares evidenciaram anemia, hipoproteinemia e leucocitose. O animal em questão era de estimação e por ficar solto com outros animais na propriedade possuía possibilidades de nova gestação. O animal foi submetido à jejum alimentar de 48 horas e hídrico de 24 horas. Após o período de jejum foi submetido à sedação com xilazina 2% e induziu-se anestesia geral com propofol. O caprino foi entubado por via orotraqueal e mantido em anestesia inalatória com isoflurano. Para a mastectomia realizou-se incisão elíptica ampla para a exposição de todo tecido glandular. À seguir as artérias e veias mamárias foram pinçadas e ligadas com poliglactina n°1. Realizou-se a retirada de todo tecido mamário em bloco, com os linfonodos supramamários. O tecido subcutâneo foi aproximado com Cushing (poliglactina n°1) e a pele com pontos simples separados (náilon n°0). Foi realizada a laparotomia pelo flanco, identificação dos ovários esquerdo e direito, transfixação em bloco de cada pedículo e posterior retirada dos ovários. Em seguida procedeu-se a laparorrafia. Foram instituídos penicilina benzatina (20.000 UI/kg, IM, SID por 5 dias), Soro antitetânico (5.000 UI) e flunixina meglumina (1 mg/kg, IV, SID, por 3 dias). Foram realizados curativos diários da ferida com água e sabão e pomadas à base de neomicina. Os pontos foram retirados com 12 dias e as feridas cirúrgicas apresentaram completa cicatrização. Os procedimentos cirúrgicos do presente caso foram realizados mediante ao interesse do proprietário em manutenção de vida do animal, sem interesses econômicos. A mastectomia total realizada com a extirpação da glândula mamária foi eficiente no controle da infecção e o animal apresentou cicatrização completa da região. A ovariectomia pelo flanco possibilitou a retirada cirúrgica dos ovários com o objetivo de não manutenção do cio no paciente.

**Palavras-chave**: Ovariectomia, mastectomia, mastite gangrenosa, caprinos.

Keywords: Ovariectomy, mastectomy, gangrenous mastitis, goats.



# Mini-Percoll processing of domestic ruminant frozen-thawed semen dispenses the use of heparin in capacitating medium

Processamento pela técnica de mini-Percoll em sêmen congelado/descongelado de ruminantes domésticos dispensa o uso da heparina em meio capacitante

Carolina Cerqueira Sarmento Olivares<sup>1,\*</sup>, Joanna Maria Gonçalves Souza-Fabjan<sup>1,2</sup>, Jeferson Ferreira da Fonseca<sup>2</sup>, Ribrio Ivan Tavares Pereira Batista<sup>1</sup>, Mario Felipe Alvarez Balaro<sup>1</sup>, Helena Fabiana Reis de Almeida Saraiva<sup>1</sup>, <u>Vivian Angélico Pereira Alfradique<sup>1</sup></u>, Luana Rangel Côrtes<sup>1</sup>, Felipe Zandonadi Brandão<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ; <sup>2</sup>Universidade do Grande Rio, Duque de Caxias, RJ; <sup>3</sup>Embrapa Caprinos e Ovinos, Coronel Pacheco, MG, Brasil. \*E-mail: ccs.olivares@gmail.com

Sperm capacitation is a prerequisite for mammal successful fertilization. Although usually a capacitating substance such as heparin is used during sheep in vitro fertilization, evidences suggest that the cryopreservation process and Percoll technique could induce spontaneous capacitation. This study aimed to compare ovine, caprine and bovine frozen-thawed sperm after mini-Percoll processing on sperm parameters, receiving or not heparin supplementation. To evaluate the sperm motility and capacitation parameters in caprine (n = 3; Alpine), ovine (n = 3; Santa Inês) and bovine (n = 3; Holstein) species, commercial frozen- thawed semen were used. For each replicate (n = 6), two straws of each animal were thawed at 37 °C for 30 s, totaling six straws for each species. From this pool, samples (after thawing) were obtained to determine sperm concentration, motility, plasma membrane integrity and capacitation status. The remainder pool was submitted to sperm selection with Percoll gradient. After selection, the samples were evaluated and received or not 5 µg/mL heparin (Sigma Chemical, USA) supplementation in incubation medium. Finally, these samples were submitted to 1.5 h, 3 h, 6 h and 18 h incubation. Sperm parameters were assessed in all intervals. ANOVA was performed with Tukey or Fisher-LSD tests for means comparisons. The non-normal variables were subjected to Kruskal-Wallis test followed by Dunn's test. After mini-Percoll, there was a reduction (P<0.05) in total motility in ovine and bovine when compared with after thawing values, respectively (ovine:  $14 \pm 2 \text{ vs. } 46 \pm 6$ ; bovine:  $28 \pm 2 \text{ vs. } 46 \pm 5\%$ ). Similarly, there was a decrease (P<0.05) in progressive motility after mini-Percoll in ovine and bovine (ovine:  $3 \pm 1$  vs.  $23 \pm 3$ ; bovine:  $8 \pm 1$  vs.  $20 \pm 3\%$ ). Conversely, there was an increase (P<0.05) in capacitation rates after mini-Percoll in all species (ovine:  $28 \pm 7$  vs.  $17 \pm 3$ ; caprine:  $41 \pm 1$  vs.  $26 \pm 3$ ; bovine:  $41 \pm 3$  vs.  $32 \pm 2\%$ ) and an increase (P<0.05) in acrosome-reacted cells after mini-Percoll when compared with after thawing moment (ovine:  $61 \pm 2$  vs.  $55 \pm 4$ ; caprine:  $48 \pm 2$  vs.  $46 \pm 4$ ; bovine:  $45 \pm 5$  vs.  $40 \pm 1$ %). Ovine presented higher acrosome-reacted cells after thawing and after mini-Percoll than the other species. Heparin supplementation did not affect (P>0.05) the parameters evaluated. However, a lower (P<0.05) rate of sperm agglutination was observed under heparin presence than heparin abscence in ovine in all moments assessed. Additionally, ovine showed a lower (P<0.05) rate of intact cells and a higher (P<0.05) agglutination rate along the incubation compared to the other species. However, capacitation status was similar (P>0.05) among all species throughout the incubation, regardless the presence of heparin. In conclusion, frozen-thawed ovine, caprine and bovine spermatozoa processed with mini-Percoll behave similarly regarding to capacitation status and does not require heparin supplementation during in vitro incubation to achieve capacitation.

**Keywords**: sperm capacitation, ovine, caprine, bovine.

Palavras-chave: capacitação espermática, ovinos, caprinos, bovinos.

Financial support: FAPERJ, CNPq.



## Occurrence of hydrometra in dairy goats after estrous induction by either light program or hormonal protocol

Ocorrência de hidrometra em cabras leiteiras após indução de estro por programa de luz ou protocolo hormonal

Ana Lucia Rosa e Silva Maia<sup>1,\*</sup>, Felipe Zandonadi Brandão<sup>1</sup>, Maíra de Oliveira Veiga<sup>2</sup>, Joanna Maria Gonçalves Souza-Fabjan<sup>1,3</sup>, Olivardo Facó<sup>4</sup>, Jeferson Ferreira da Fonseca<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ, Brasil; <sup>2</sup>Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, Brasil; <sup>3</sup>Universidade do Grande Rio, UNIGRANRIO, Duque de Caxias, RJ, Brasil; <sup>4</sup>Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral, CE, Brasil. \*E-mail: maia.analucia@gmail.com

Hydrometra is considered one of the most important causes of infertility in dairy goats. The development of the disease as a result of the use of methods for estrous induction remains questionable. Goats mated out of season (October/November) arrive at the end of pregnancy (March/April) during natural breeding season and return to the reproductive cyclicity at the end of this period. Without the ability to induce luteolysis, some females exhibit persistent corpus luteum and the development of hydrometra without any breeding. This study aimed to report the occurrence of hydrometra in different herds using multi-hormonal protocol (Herd 1) or light program (Herd 2). Saanen does, with ages ranging from eight months to nine years old from two different herds, both located in the Southeast region of Brazil, were used. In Herd 1, 31 of 105 goats had estrus induced by intravaginal sponges for six days, containing 60 mg of MAP (Progespon®, Schering-Plough Animal Health, São Paulo, Brazil), associated to the administration of 37.5 µg of d-cloprostenol laterovulvar and 280 IU of eCG (Novormon 5000<sup>®</sup>, Schering-Plough Animal Health, São Paulo, Brazil), 24 hours before sponge removal. In Herd 2, 54 of 115 goats received 16 h of light and 8 h of darkness during 60 days (30th of June to 29th of August) for induction of estrus. About 60 days from the end of this program, goats began to present estrus. Transrectal ultrasonography exams (Mindray® DP330-Vet, Shenzhen, China) to diagnose hydrometra were performed in all females during September and October (five to six months after kidding). Females whose estrus was not induced were also evaluated. Chi-square test was applied to compare the occurrence of hydrometra in each herd and between herds. In Herd 1, a total of 11.4% (12/105) of goats presented hydrometra, either after hormonal estrous induction (25.8%; 8/31) or not (5.4%; 4/74) (P<0.01). In Herd 2, a total of 14.8% (17/115) of goats presented hydrometra, either after light program induced estrus (16.7%; 9/54) or not (13.1%; 8/61) (P>0.05). Both herds had similar occurrence of hydrometra, independently from estrous induction method (P>0.05). Although hydrometra was significantly associated with estrous induction in Herd 1, this disease is more like to be associated with the fact of parturition during the onset of natural breeding season rather than estrous induction method.

**Keywords**: pseudopregnancy, reproductive seasonality, ultrasonography. *Palavras-chave*: pseudogestação, estacionalidade reprodutiva, ultrassonografia.

**Financial support**: Embrapa - Project 02.08.02.005.00.04, CNPq - Project 479826/2013-7. **Fapemig**: Project CVZ-PPM 00042-14.



# Perfil de melatonina, cortisol e progesterona em cabras Alpinas tratadas com o FSH e fotoperíodo artificial

Melatonin, cortisol and progesterone profile in Alpine goats treated with o FSH and artificial photoperiod

#### Antonio Carlos Duenhas Monreal<sup>1,\*</sup>, Gilson Hélio Toniollo<sup>2</sup>, Joaquim Mansano Garcia<sup>2</sup>, Vicente José de Figueirêdo Freitas<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Biocapri, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, Brasil; <sup>2</sup>Universidade Estadual Júlio de Mesquita Filho (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal; Jaboticabal, SP, Brasil; <sup>3</sup>Laboratório de Fisiologia e Controle da Reprodução, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza-CE, Brasil.

\*E-mail: monreal.tocarlo@gmail.com

Já é bem conhecido a importância de hormônios como progesterona, cortisol e melatonina sobre a reprodução das fêmeas de diversas espécies. No entanto, no que se refere à espécie caprina, verifica-se ainda uma carência de dados, sobretudo em animais utilizados em programas de doação de oócitos para posterior produção in vitro de embriões. Assim, este estudo teve por objetivo verificar o perfil de progesterona, cortisol e melatonina durante o tratamento hormonal de estimulação ovariana no período de anestro, transição e estação reprodutiva em cabras Alpinas com emprego do fotoperíodo artificial e natural. Foram utilizadas 17 cabras Alpinas, adultas e criadas na latitude de 21°15'22''S. Os animais foram tratados com 10 mg de oFSH (Ovagen, ICP, Nova Zelândia), em doses decrescentes, durante quatro dias consecutivos ao final de um tratamento progestágeno com CIDR® (Intervet, Nova Zelândia) em período de estação reprodutiva (G1, n=7) e anestro com fotoperíodo artificial (G2, n=5) ou natural (G3, n=5). As colheitas de sangue foram realizadas antes, durante e após o período de estimulação ovariana e durante a colheita oocitária por laparotomia. A colheita de sangue para melatonina foi efetuada durante a noite, já para progesterona e cortisol foram realizadas por 16 dias, pela manhã. Os valores foram apresentados como média, desvio padrão e mediana para os grupos e comparados por análise não paramétrica (Kruskal-Wallis, análise de variância e Friedman). No que se refere à progesterona, verificou-se diferença (P<0,05) entre os três grupos estudados e nos dois períodos (estação reprodutiva/anestro), com valores superiores na estação reprodutiva. Entre grupos, não observou-se diferença estatística (P>0,05) para o cortisol, no entanto após a laparotomia verificouse uma elevação significativa (P<0.05) nas cabras operadas (G1: 40.94 ± 18.53 nmol/L) em comparação àquelas não operadas na estação reprodutiva (G2: 17,86 ± 14,90 nmol/L e G3: 16,00 ± 16,51 nmol/L). Em relação à cirurgia, durante o anestro estacional, os valores séricos de cortisol foram inferiores aos da estação reprodutiva para todos os grupos, G1 (13,18 ± 9,43 nmol/L, fotoperíodo natural, cabras não laparotomizadas), G2 (26,70 ± 15,39 nmol/L, fotoperíodo artificial, cabras laparotomizadas) e G3 (35,35 ± 17,10 nmol/L, fotoperíodo natural, cabras laparotomizadas). Entretanto, o grupo laparotomizado (G2 em fotoperíodo artificial) apresentou valores séricos de cortisol intermediários entre o grupo não cirurgiado (G1 em fotoperíodo natural) e o grupo laparotomizado (G3 em fotoperíodo natural), levando a crer que a melatonina possa ter interferido nos valores do cortisol desses animais em anestro. Durante o período experimental, os valores de melatonina sempre apresentaram-se altos em todos os grupos no período de anestro (G1: 68,19 pg/mL, G2: 45,53 pg/mL e G3: 58,28 pg/mL). Em conclusão, nas condições deste estudo, pode-se verificar uma influência da estação (reprodutiva ou anestro), e possivelmente da melatonina, sobre a secreção de cortisol nesses animais.

**Palavras-chave**: caprinos, hormônios, CIDR<sup>®</sup>. *Keywords*: *caprines*, *hormones*, *CIDR*<sup>®</sup>.



# Preparação de um extrato alcoólico de *Hibiscus sabdariffa* para estudos em espermatozoides caprino

Preparation of an alcoholic extract of Hibiscus sabdariffa for studies on goat spermatozoa

Ana Paula Vieira Possidônio<sup>1,\*</sup>, Camilla Flávia Avelino de Farias<sup>1</sup>, Alex Souza Rique<sup>1</sup>, André Luiz Pereira Tork<sup>1</sup>, Josefa Isabela Lopes Batista<sup>1</sup>, Julyana Paula de Freitas Marcone<sup>1</sup>, Kristerson Reinaldo de Luna Freire<sup>2</sup>, Sildivane Valcácia Silva<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Graduandos do curso de Bacharelado em Biotecnologia, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB, Brasil; <sup>2</sup>Professores do curso de Bacharelado em Biotecnologia, Universidade Federal da Paraíba, PB, Brasil. \*E-mail: anapaulavieira48@gmail.com

A criopreservação é uma importante biotécnica reprodutiva que permite que células, tecidos ou embriões sejam conservados por tempo prolongado, através da refrigeração ou por tempo indeterminado, através da congelação. Esse processo, além de possibilitar redução dos custos com transporte e alimentação de reprodutores, possibilita aumento do ganho genético, reduz riscos de transmissão de doenças, promove uso de sêmen após perda das funções reprodutivas do doador, conserva espécies em ameaças de extinção como também favorece rápida difusão de material genético entre regiões, países e continentes. Entretanto, essa tecnologia pode acarretar efeitos deletérios às células. Um deles é o aumento da produção de oxidantes, espécies reativas do oxigênio (ROS) que podem reagir com os ácidos graxos poli-insaturados presentes nas membranas das células espermáticas e desencadear o processo de peroxidação lipídica. O hibisco (Hibiscus Sabdariffa) é uma espécie vegetal que pertence à família Malvaceae proveniente da África Oriental. Essa planta é rica em vitamina C, fibras, compostos fenólicos, antocianinas e fonte considerável de polifenóis, que possuem propriedades antimicrobianas e antioxidantes, sendo capazes de sequestrar radicais livres com grande eficiência. Diante do exposto, os objetivos deste trabalho foram preparar e avaliar as características físico-químicas do extrato alcoólico de H. sabdariffa em diferentes solventes de diluição como também descartar a possível ação tóxica das soluções contendo o extrato na célula espermática caprina e propiciar estudos mais detalhados da interação do extrato com estas células. No preparo do extrato, foram adicionados 22g de flor seca de H. sabdariffa, obtidas comercialmente, em 300 mL de etanol durante três dias, para ocorrer a extração. A solução extrativa foi filtrada e concentrada em evaporador rotativo. O extrato, então, foi diluído em diferentes solventes como água destilada, solução fisiológica (NaCl 0,9 %), dimetilsufóxido (DMSO), solução tampão TRIS e solução tampão fosfato-salino PBS. Na concentração de 5 mg de extrato alcoólico de H. sabdariffa para 1000 ul de cada solvente testado, foi possível observar que o extrato se solubilizou em todos, sendo a análise de pH a próxima etapa, onde pôde-se perceber que o extrato apresenta característica muito ácida (pH 1,5), mas ao acrescentar as soluções ao diluidor Tris-gema, estas apresentaram pH entre 6,0-6,5, estável na refrigeração a 5 °C por até 48 horas. Na avaliação de interação do extrato com as células espermáticas caprinas, através da análise de motilidade e vigor, observou-se que o extrato diluído em DMSO e em solução tampão TRIS foram letais nas concentrações maiores testadas (10% do extrato), sendo estes solventes descartados para uso em espermatozoides caprinos. No entanto, PBS, solução fisiológica (NaCl 0,9%) e água destilada, respectivamente, melhor preservaram a motilidade e vigor das células. Diante disso, pode-se concluir que o extrato alcoólico de hibisco pode ser um potente antioxidante e colaborar na preservação de espermatozoides caprino submetidos aos processos de refrigeração e congelação e que os solventes PBS, solução fisiológica (NaCl 0,9%) e água destilada são aptos para serem usados na solubilização do extrato e possibilitar estudos mais detalhados com células espermáticas.

**Palavras-chave**: antioxidante, criopreservação, hibisco. *Keywords*: antioxidant, cryopreservation, hibiscus.



### Qualidade pós-descongelamento do sêmen de caprinos utilizando ácido docosahexaenoico no diluente

Goat semen post-thaw quality using docosahexaenoic in the diluent

Rosileia Silva Souza<sup>1</sup>, Larissa Pires Barbosa<sup>2</sup>, <u>Anita Soares Barbosa Guimarães</u><sup>3,\*</sup>, Gabriel Candido Oliveira Silva<sup>3</sup>, Emmanuel Emydio Gomes Pinheiro<sup>1</sup>, Ronival Dias Lima de Jesus<sup>3</sup>, Manoel Diran Maia Ribeiro Júnior<sup>3</sup>, Rosimere Santana dos Santos<sup>3</sup>, Laura Nicole Filipin da Costa<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal da Bahia (UFBA), Salvador, Ba, Brasil; <sup>2</sup>Professora da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), Cruz das Almas, Ba; Brasil; <sup>3</sup>Graduandos do curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), Cruz das Almas, Ba; Brasil.

\*E-mail: anitasoaresbg@gmail.com

Os ácidos graxos poliinsaturados presentes na membrana plasmática espermática, como o ácido docosahexaenoico, permitem a fluidez e flexibilidade que os espermatozoides precisam para participarem do processo de fecundação e manterem a função normal após o processo de criopreservação. Desta forma, o estudo teve como objetivo avaliar a qualidade pós-descongelamento do sêmen de caprino utilizando ácido docosahexaenoico (DHA) no diluente. Foram utilizados cinco machos da raça Anglo Nubiana com idade média de 3,30±1,64 anos, escore de condição corporal 3,0±0,47 e peso corporal médio de 54,46±13,68kg. Os animais foram submetidos a sistema intensivo de manejo, recebendo feno de Tifton-85 (Cynodon sp), mistura concentrada à base de farelos de milho e soja, formuladas para atender as exigências nutricionais da categoria e água à vontade. As coletas de sêmen foram realizadas pela técnica de vagina artificial, utilizando-se uma fêmea em estro como manequim, duas vezes por semana, totalizando cinco coletas. Após as coletas procedeu-se a avaliação física do sêmen com formação de um pool, e fracionamento em quatro alíquotas com níveis de ácido docosahexaenoico (0; 10; 20 e 30 ngmL<sup>-1</sup>), acrescido de 0,2mmol de alfa-tocoferol diluído em solução de etanol a 0,05%, ao diluente citrato-gema. O sêmen foi criopreservado em máquina de congelamento TK 3000<sup>®</sup> utilizando curva apropriada para caprinos e posteriormente descongelado a 37°C por 30 segundos. Foram realizadas avaliações da qualidade física pós-descongelamento, teste de termorresistência (TTR) por 180 minutos e teste hiposmótico (HO). Os dados foram avaliados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk, as variáveis que apresentaram comportamento normal foram submetidas à análise de variância e teste de regressão e para os dados não paramétricos utilizouse o teste Kruskal Wallis, a 5% de significância. Não houve diferença para motilidade espermática progressiva pós-descongelamento e nos tempos cinco, 60, 120 e 180 minutos no TTR (P>0,05), apresentando médias de: 64,50±6,66; 69,25±5,95; 46,50±9,40; 20,75±13,05 e 1,00±7,75%, respectivamente. Não houve diferença para vigor espermático pós-descongelamento e nos tempos cinco, 60, 120 e 180 minutos no TTR (P>0,05), com valores de: 2,05±0,57; 2,65±0,54; 1,575±0,55;  $0.4\pm0.5$  e  $0.1\pm0.175$ , respectivamente. Não houve diferença entre os grupos (P>0.05) no teste hiposmótico, apresentando médias de 37,47±9,75%, para espermatozoides reativos e 62,52±9,75%, para não reativos. A inclusão entre 10 e 30 ngmL<sup>-1</sup> de DHA no diluente para criopreservação do sêmen de caprinos não promoveu melhora nos parâmetros de qualidade física seminal pós-descongelamento e teste complementares, desta forma, não sendo recomendado seu uso nas concentrações testadas.

Palavras-chave: DHA, espermatozoide, lipídeos, reprodução, vitamina E.

Keywords: DHA, sperm, lipids, reproduction, vitamin E.



# Risk of transmission of caprine arthritis - encephalitis virus (CAEV) through embryos transfer from naturally infected donors

Risco de transmissão o vírus da artrite encefalite caprina (CAEV) através de embriões oriundos de cabras sorologiamente positivas

Paula Maria Pires do Nascimento-Penido<sup>1,3</sup>,\*, André Penido Oliveira<sup>1,2</sup>, Grazielle Cossenzo Florentino Galinari<sup>1,3</sup>, Jeferson Ferreira da Fonseca<sup>4</sup>, Rômulo Cerqueira Leite<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Escola de Veterinária/Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brasil; <sup>2</sup>Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG), Belo Horizonte, MG, Brasil; <sup>3</sup>INCT Pecuária; <sup>4</sup>Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral, CE, Brasil. \*E-mail: paulampn@gmail.com

The caprine arthritis encephalitis is an important viral and most important infectious disease in dairy goats. The infection causes several economic losses. The high prevalence CAEV infection in countries that export goat genetics generated a great concern, since the international trade might introduce the virus in different countries by embryo transfer spreading the disease. Thus, the aim of the study was to evaluate the risk of caprine arthritis encephalitis virus (CAEV) transmission by in vivo embryos from naturally infected donors. Nine CAEV-AGID positive donors and 62 nested-PCR CAEV-negative recipients were selected for the study. After the superovulation protocol, 23 transferred embryos were collected from the donors by transcervical method. After that, the embryos were washed ten times using PBS medium and two using in trypsin. Subsequently transferred to 23 recipients does also by transcervical method. Transretal ultrasonography carried out 45 days after embryo transfer for the pregnancy identification. During the pregnancy (five months) and for four months postpartum, blood samples were collected from the recipients does to CAEV identification by nested PCR test. The tests were also performed by the same method on the newborn animals during the first four months of life. The ultrasonography revealed 34.8 % pregnancy rate (8/23). The transcervical embryos transferred is a new method in small ruminants and a good option for that, once it shows easier implementation and speed. Throughout the period of investigation (five months of gestation plus four months of postpartum period) for recipients and newborn animals, no proviral DNA was identified in blood samples. Previous study from our group showed embryos from positive donors from transcervical recovery method in goats are safety. Thus, results of the present study showed no transmission of CAEV by embryos originated from CAEV positive donors by embryos from transcervical method washing treatment.

**Keywords**: embryo transfer, transcervical recovery embryos, goats, biotechnology. **Palavras-chave**: transferência de embrião, recuperação transcervical de embriões, caprino, biotecnologia.

**Funding:** This work was supported Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento: Project CNPq 553989/2010-4.



#### Taxa de gestação de hemi-embriões caprinos transferidos

Rate of gestation of transferred goat's hemi-embryos

<u>Isôlda Márcia Rocha do Nascimento</u><sup>1,\*</sup>, Tatiana Parente Napoleão do Rêgo<sup>2</sup>, Antônio de Sousa Junior<sup>1</sup>, Jefferson Hallisson Lustosa da Silva<sup>2</sup>, Felipe Pereira da Silva Barçante<sup>2</sup>, Yndyra Nayan Teixeira Carvalho Castelo Branco<sup>2</sup>, Marlon de Araújo Castelo Branco<sup>2</sup>, Micherlene da Silva Carneiro Lustosa<sup>2</sup>, Marcos Antonio Celestino de Sousa Filho<sup>2</sup>, José Adalmir Torres de Souza<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Professor Colégio Técnico de Teresina, CTT, UFPI, Teresina, PI, Brasil; <sup>2</sup>Laboratório de Biotecnologia da Reprodução Animal – LBRA, CCA, UFPI, Teresina, PI, Brasil; <sup>3</sup>Professor de Biotecnologia da Reprodução Animal, CCA, UFPI, Teresina, PI, Brasil.

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

A bissecção é uma biotécnica reprodutiva através da qual, um embrião em estágio inicial de desenvolvimento é mecanicamente dividido, preferencialmente em duas partes iguais. Para execução desta técnica, é necessária uma boa seleção morfológica dos embriões visando identificar aqueles com melhor potencial de sobrevivência. A incorporação dessa técnica nos programas de transferência de embriões pode ser uma alternativa visando o aumento da gestação. Objetivou-se avaliar a taxa de prenhez em cabras inovuladas com embriões bisseccionados. Para tanto foram utilizadas dezessete doadoras, as quais foram sincronizadas com um dispositivo intravaginal contendo 0,33g de progesterona natural (CIDR®-Pharmacia, Brasil) durante 11 dias e superovuladas com 250UI de FSH-LH (Pluset®- Calier S.A., Espanha), administradas via intramuscular a partir do dia nove, em seis doses decrescentes, em intervalos de 12 horas, por um período de três dias. No último dia de aplicação, administrou-se 100µg de acloprostenol (Ciosin®-Shering-Coopers, Brasil) via intramuscular. A detecção do estro teve início logo após o término do tratamento hormonal, com auxílio de rufiões vasectomizados, em intervalos de seis horas. Caracterizada a manifestação do estro, as doadoras foram cobertas, 8 e 16 horas após o início do estro. Doze horas após a cobertura, foi reintroduzido outro dispositivo intravaginal de progesterona, para prevenir a ocorrência de regressão prematura de corpos lúteos. Os dispositivos foram removidos no dia anterior à colheita. As receptoras tiveram o ciclo estral sincronizado através de esponjas intravaginais impregnadas com 60mg de acetato de medroxiprogesterona (Progespon® - Syntex S.A., Argentina ), mantidas por 11 dias. No nono dia administrou-se 300 UI de gonadotrofina coriônica equina (Folligon® – Intervet, Brasil) e 75µg de cloprostenol (Ciosin<sup>®</sup>-Shering-Coopers, Brasil), via intramuscular. A detecção do estro foi realizada por rufiões cada 12 horas. A colheita dos embriões foi realizada por lavagem uterina utilizando 200ml de Solução Salina Fosfatada Tamponada (D-PBS - Dulbecco Modificado- Cultilab Mat Cult Cel LTDA, Brasil) por doadora, via transcervical, sete dias após a manifestação de estro. Recuperou-se 92 estruturas, porém apenas 48 embriões, estes classificados, segundo IETS, de grau de qualidade 1 e 2. No processo de bissecção, utilizou-se um micromanipulador de embriões, modelo "microtorno", composto por dois braços apoiados sobre uma base adaptada a uma lupa estereomicroscópica. De cada três embriões obtidos, um foi bisseccionado e as metades inovuladas na mesma receptora. Embriões inteiros foram inovulados aos pares. Das 16 receptoras inovuladas com dois embriões inteiros, nove (56,25%) apresentaram prenhez, sendo três com gestação dupla (37,50% dos embriões transferidos). Das 16 que receberam dois hemi-embriões, quatro (25,00%) tiveram gestações simples e uma (6,25%) gestação dupla (37,50% dos embriões transferidos). Embriões bisseccionados em estágio de mórula, independente do grau de qualidade, não resultaram em gestação, já os blastocistos de qualidade 1 o índice obtido foi 100,00% (P<0,05). Concluí-se que o a inovulação com dois hemi-embriões não resultou na melhoria da taxa de prenhez em cabras.

Palavras-chave: bissecção, transferência de embrião, caprino.

Keywords: bisection, embryo transfer, goat.



# Use of cloprostenol to synchronize estrus after induction by light program in anestrous dairy goats

Uso de cloprostenol para sincronização do estro após indução por meio de programa de luz em caprinos leiteiros na estação de anestro estacional

<u>Carla Knopp Barreto</u><sup>1,2,\*</sup>, Ana Lúcia Rosa Silva Maia<sup>2</sup>, Maíra de Oliveira Veiga<sup>3</sup>, Jader F. Prates<sup>4</sup>, Felipe Zandonadi Brandão<sup>2</sup>, Joanna Maria Gonçalves Souza-Fabjan<sup>2,4</sup>, Maria Isabel C. Ferreira<sup>5</sup>, Olivardo Facó<sup>5</sup>, Jeferson Ferreira da Fonseca<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Faculty of Veterinary Medicine, Unipac, Juiz de Fora, MG, Brazil; <sup>2</sup>Faculty of Veterinary Medicine, Fluminense Federal University, Niterói, RJ, Brazil; <sup>3</sup>Faculty of Veterinary Medicine, Federal University of Lavras, Lavras, MG, Brazil; <sup>4</sup>UNIGRANRIO, Duque de Caxias, RJ, Brazil; <sup>5</sup>Embrapa Goats and Sheep Research Center, Sobral, CE, Brazil. \*E-mail: carlaknoppbarreto@gmail.com

In Brazilian Southeast, dairy goats are expected to demonstrate natural estrus from the end of summer to the beginning of winter. A strategy to overcome this condition is to induce estrus by light program, which consists in 16 h of light and 8 h of darkness per day, during 60 days (30<sup>th</sup> of June to 29<sup>th</sup> of August). On average, after 60 days (end of October), goats efficiently show estrus but not in a synchronous form. This study aimed to test the possibility to synchronize estrus with cloprostenol in dairy goats submitted to light program, after estrous detection. Ten dairy goats (5 nulliparous and 5 pluriparous) received two 37.5 µg d-cloprostenol injections at 11.5 days apart (Prolise<sup>®</sup>; ARSA S.R.L.. Buenos Aires, Argentina) by latero-vulvar route. Body condition score ranged from 2.75 to 3.75 (1 to 5 variation). Estrus was detected twice daily after the second cloprostenol dose for five days and artificial insemination (AI) was performed at 18 (first estrous identification at the end of afternoon) to 24 h (first estrous identification at the beginning of the morning) after estrous onset. Mucus type was observed at the time of AI. Transrectal ultrassography was carried out at 60 days after AI. Data registered after the second cloprostenol administration are described in descriptive form. A total of 80% (4 nulliparous and 4 pluriparous) of estrous response was obtained and only these goats were inseminated. Interval to estrus was 42.0 ± 6.4 h (36 to 48 h range). AI performed in standing position resulted in 100% of uterine semen deposition with cervical mucus varying from striated to striatedcaseous. Conception rate was 50% (2 nulliparous and 2 pluriparous). This is possibly the first report of estrous synchronization with cloprostenol doses after estrous induction by light program. Light program is considered the less invasive and less artificial form to induce estrus in anestrous goats in the non-breeding season while PGF2α is also less artificial and low-cost form to synchronize estrus efficiently in cyclic goats. Both estrous control techniques do not require milk discharge. The sequential association of these two tools can provide synchronous estrus during the non-breeding season, allowing AI to be performed in timed like scheme similar to the breeding season in dairy goats.

**Keywords**: estrous synchronization, light program, pregnancy rate, dairy goat. *Palavras-chave*: sincronização de estro, programa de luz, taxa de gestação, caprino leiteiro.

Financial support: EMBRAPA (Project 02.08.02.005.00.04) and CNPq (Project 310166/2012-8).