

Maturação *in vitro* de oócitos caprinos vitrificados

In vitro maturation of vitrified goat oocytes

**Ney Rômulo de Oliveira Paula^{1,*}, Marlene Sipaúba de Oliveira³,
Letícia Soares de Araújo Teixeira³, Ana Lys Bezerra Barradas Mineiro¹,
Kenney de Paiva Porfírio³, Pedro Henrique Fonseca Silva², Francisco Felipe Ferreira Soares⁵,
Misael das Virgens Santana⁵, Tuanny Creusa Medeiros Damasceno⁵, Clarissa de Castro e Braga⁴,
Leonardo Lopes Furtado⁴, Janaína de Fátima Saraiva Cardoso¹**

¹Professores do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Piauí; ²Pós-graduando do Programa de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Federal do Piauí; ³Pós-graduando do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, Universidade Federal do Piauí; ⁴Graduandos de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Piauí; ⁵Residente do Programa de Residência Multiprofissional na área Reprodução Animal, Universidade Federal do Piauí, Teresina, PI, Brasil.

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

As biotecnologias da reprodução são ferramentas capazes de aumentar a eficiência reprodutiva e produtiva do animal, assim como, superar alguns obstáculos envolvidos na reprodução animal. O objetivo deste trabalho foi avaliar a maturação *in vitro* de oócitos caprinos vitrificados com o kit Cryotech[®]. Para este fim, 70 complexos *cumulus*-oócitos aspirados de ovários de cabras púberes de abatedouros locais de Teresina-Pi, foram classificados morfológicamente e submetidos ao método de vitrificação (Cryotech[®]), kit indicado para criopreservação de oócitos e embriões humanos. Após o reaquecimento dos oócitos vitrificados, os classificados como viáveis foram maturados em meio de maturação *in vitro* convencional composto de TCM-199, suplementado com 10% de soro de cabra em estro, sais de Earle, L- glutamina e 25 mM de Hepes. Os oócitos foram dispostos em placa de 35 x 10 mm em gotas de 100 µL sob 3,5 mL de óleo mineral e incubado em uma atmosfera umidificada com 38, 5°C, 5% CO₂ por 24h. Ao final do processo, para avaliação da MIV os oócitos foram classificados como maturados quando presente o 1º corpúsculo polar. A análise estatística dos dados foi realizada pelo software SAS[®] e quando verificada significância (p<0,05). Após o reaquecimento 14,2 % foram classificados como degenerados e dos 85,8% dos oócitos que foram para maturação, 11,7% maturaram. A criopreservação e o uso de crioprotetores podem causar lesões nos oócitos como: fratura da zona pelúcida, perda da integridade da membrana, citoplasma retraído, retração e distensão do oócito, danos na morfologia do oócito, na estrutura e função do citoesqueleto comprometendo sua viabilidade. Todavia, mesmo com esses entraves, a vitrificação tem sido corriqueiramente utilizada na criopreservação de oócitos e embriões caprinos com grande relevância para as biotecnologias reprodutivas e banco de germoplasma feminino. Portanto, o uso kit Cryotech[®] manteve a viabilidade dos oócitos criopreservados e que pode ser alternativa utilizada na criopreservação de oócitos caprinos imaturos.

Palavras-chave: caprinos, Cryotech[®], maturação *in vitro*.

Keywords: goat, Cryotech[®], *in vitro maturation*.



Resposta estágio-específica de diferentes origens de FSH (pituitário vs. recombinantes) na expressão gênica após cultivo *in vitro* de folículos pré-antrais e antrais iniciais isolados caprinos

Stage-specific response to FSH source (pituitary vs. recombinant) in gene expression after in vitro culture of isolated caprine preantral and early antral follicles

Anna Clara Accioly Ferreira¹, Francisco Glauber Peixoto Ferreira², Naiza Arcângela Sá¹, Jesus De Los Reyes Cadenas Moreno¹, Hudson Henrique Vieira Correia¹, Denise Damasceno Guerreiro¹, Benner Geraldo Alves³, Laritza Ferreira de Lima¹, Juliana Jales de Hollanda Celestino^{2,*}, José Ricardo de Figueiredo¹

¹Laboratório de Manipulação de Oócitos e Folículos Pré-Antrais, Faculdade de Veterinária, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, CE, Brasil; ²Instituto de Ciências da Saúde, Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, Acarape, CE, Brasil; ³Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG, Brasil;

*E-mail: juliana.celestino@unilab.edu.br

O FSH é bastante utilizado como suplemento para o cultivo *in vitro* de folículos ovarianos, em diferentes concentrações, proveniente de diferentes origens e associado a diferentes substâncias. Entretanto, estudos comparando diferentes origens de FSH nas mesmas condições experimentais sobre a expressão gênica são escassos. Assim, o objetivo desse estudo foi comparar três diferentes origens de FSH (recombinante bovino – FSHrb, recombinante humano – FSHrh e pituitário porcino – FSHp) sobre a expressão gênica, após cultivo *in vitro* de folículos pré-antrais (Fopa) e antrais iniciais isolados caprinos, submetidos às mesmas condições experimentais. Folículos isolados foram cultivados por 18 dias utilizando os seguintes tratamentos: meio de cultivo base (controle); ou meio controle suplementado com 10, 50, e 100 mUI/mL de FSHp; ou com 50 mUI/mL de FSHrh; ou com 100 ng/mL de FSHrb. Para o isolamento do RNA, três *pool* de 10 células murais viáveis foram coletados de cada grupo experimental, após 18 dias de cultivo. Todas reações foram realizadas por PCR em tempo real e os *primers* foram designados para realizar amplificação relativa dos níveis de RNAm para *MMP-9*, *TIMP-2* (genes do remodelamento da membrana), *CYP17* e *CYP19A1* (genes da esteroidogênese), *FSHR*, *Insulin-R*, *BCL-2* e *BAX* (genes da apoptose). A expressão para *MMP-9* foi maior no FSHp100 em relação ao FSHrb na categoria de Fopa; já na categoria de folículos antrais, o FSHp10 e o FSHp50 foram maiores que o FSHrb e o FSHrh ($P < 0,05$). Na expressão do *TIMP-2*, maiores valores foram observados nos grupos controle, FSHp100 e FSHrh do que no FSHp50 na categoria de Fopa ($P < 0,05$). Na categoria de Fopa, a expressão do RNAm para a enzima *CYP17* foi maior nos grupos controle, FSHrb e FSHrh quando comparados a todas concentrações do FSHp ($P < 0,05$). Para a categoria antral, foi observada maior expressão relativa para o RNAm desta enzima no controle do que nos grupos FSHp50 e FSHp100 ($P < 0,05$). A expressão do RNAm para a enzima *CYP19A1* foi maior nos grupos FSHp50 e FSHp100 do que nos grupos controle, FSHrb e FSHrh na categoria de Fopa ($P < 0,05$). Na categoria antral, a expressão para *CYP19A1* foi maior nos tratamentos FSHp10 e FSHp100 que nos tratamentos FSHrb e FSHrh ($P < 0,05$). A expressão do RNAm *FSHR* foi superior no grupo FSHp100 do que no FSHp50 na categoria antral ($P < 0,05$). Já a expressão do RNAm para *Insulin-R* foi maior no controle e no FSHrh do que no FSHp50 e no FSHp100 na categoria de Fopa ($P < 0,05$). Na categoria antral, a expressão RNAm para *Insulin-R* foi maior no FSHrb do que em todas concentrações de FSHp ($P < 0,05$). A relação da expressão do RNAm para *BCL2/BAX* foi maior no FSHrh quando comparado ao FSHrb e ao FSHp100p na categoria antral ($P < 0,05$). Em conclusão, após o cultivo *in vitro*, as diferentes categorias foliculares demonstraram diferentes respostas estágio-específica na expressão gênica, às diferentes origens de FSH.

Palavras-chave: FSH, expressão gênica, folículo ovariano.

Keywords: FSH, gene expression, ovarian follicle.



Effects of two d-cloprostenol administrations given at different intervals on estrus and ovulation in cyclic dairy goats

Efeitos de duas administrações de d-cloprostenol feitas em diferentes intervalos no estro e na ovulação em cabras leiteiras cíclicas

Gisele Caldas Bonato^{1*}, Luana Rangel Côrtes², Aline Matos Arrais³, Lucas Machado Figueira⁴, Thaís de Almeida Oliveira⁵, Vitória de Oliveira Machado⁵, Ana Lúcia Rosa e Silva Maia⁶, Joanna Maria Gonçalves Souza Fabjan⁷, Jeferson Ferreira da Fonseca⁸

¹Mestranda em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, Brasil; ²Mestranda em Medicina Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói-RJ, Brasil; ³Doutoranda, Departamento de Reprodução e Avaliação Animal, Instituto de Zootecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica-RJ, Brasil; ⁴Doutorando, Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG; ⁵Estudante de Medicina Veterinária, Universidade Presidente Antônio Carlos, Juiz de Fora, MG, Brasil; ⁶Pós-graduanda, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói-RJ, Brasil; ⁷Professora adjunta, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ, Brasil; ⁸Pesquisador, Embrapa Caprinos e Ovinos, Coronel Pacheco, MG, Brasil.

*E-mail: gicbonatovet@gmail.com

Goats are seasonal breeders depending on breed and latitude. Among the hormonal methods used in controlled reproduction programs, there are those that mimic the activity of the corpus luteum and those that inhibit it. Prostaglandin (PGF2 α) fits the latter, with the advantage of having a better cost-benefit, since it is cheaper and more natural method, as it has fewer side effects than progestin devices. In addition, the literature is incipient regarding follicular and ovulatory data in goats subjected to PGF2 α or its analogues. This study aimed to check in dairy goats the efficiency of estrus synchronization treatment using two doses of d-cloprostenol administered in different intervals, during the natural breeding season. Sixteen goats received two doses of 37.5 μ g d-cloprostenol (Prolise[®]; ARSA S.R.L., Buenos Aires, Argentina) by latero-vulvar route at intervals of 7.5 days (T7.5; n=8) or 11.5 days (T11.5; n=8). The administrations were performed at 05:00 a.m. (first dose) and 06:00 p.m. (second dose). After the second dose, estrus was monitored twice a day. Transrectal ultrasound equipment (M5 Vet[®], Mindray, Shenzhen, China) coupled with 7.5 MHz linear transrectal transducer was applied to perform ovarian ultrasound evaluations after the second dose every 12 h for four days. For statistical analysis, SAEG[®] 9.0 software (UFV, Minas Gerais, Brazil) was used. Descriptive statistics was used for follicular and ovulatory data. Non-parametric data were assessed by Fisher's exact test. Pearson's correlation was performed between variables. The significance level adopted was 5%. Overall, there were no differences (P>0,05) between 7.5 and 11.5 groups, respectively: estrous response (87,5% or 7/8 vs 75 % or 6/8), intervals from second dose to estrus onset (41.1 \pm 6.8 vs 48 \pm 2.6 h), ovulation (66.8 \pm 8.3 vs 70.3 \pm 8.1 h), estrus onset to ovulation (25.7 \pm 5.3 vs 25.7 \pm 5.0 h), number of ovulations (2.8 \pm 0.3 vs 2.5 \pm 0.4). A negative correlation was observed (r = - 0.71, P < 0.01) between interval from second cloprostenol administration to ovulation and number of ovulations. The results quoted above suggest that the administration of d-cloprostenol in cyclic dairy goats can efficiently synchronize estrus and ovulation and this fact encourages further studies using these protocols in association with Fixed Time Artificial Insemination in goats.

Financial Support: CNPQ (314952/2018-7), Fapemig (Project CVZ-PPM 00201-17) and EMBRAPA (Project 02.08.02.005.00.04).

Keywords: estrus, synchronization, prostaglandin, goats; ovulation

Palavras-chave: estrus; synchronization; prostaglandin; goat; ovulation.



Indução e sincronização do estro por programa de luz e d-cloprostenol em cabras leiteiras na contra-estação reprodutiva

Estrus induction and synchronization by light program and d-cloprostenol in dairy goats during the non-breeding season

Marina Monteiro Netto^{1*}, Mario Felipe Alvarez Balaro², Caroline Gomes do Espírito Santo¹, Isabel Oliveira Cosentino¹, Felipe Zandonadi Brandão², Jeferson Ferreira da Fonseca³

¹Mestranda em Medicina Veterinária (Clínica e Reprodução Animal) Faculdade de Veterinária. Universidade Federal Fluminense- UFF, Niterói, RJ, Brasil; ²Departamento de Clínica e Patologia Veterinária. Faculdade de Veterinária. Universidade Federal Fluminense- UFF, Niterói, RJ, Brasil; ³Pesquisador, Embrapa Caprinos e Ovinos, Coronel Pacheco, MG, Brasil.

*E-mail: marinanetto.vet@gmail.com

Em latitudes elevadas, a indução do estro fora da estação de acasalamento natural é imprescindível para a produção de leite caprino ao longo do ano. O estro pode ser induzido de forma sincronizada com coquetel hormonal ou de forma não sincronizada por meio do fotoperíodo artificial (programa de luz) sem uso de hormônios. Neste caso, a associação com análogos sintéticos da prostaglandinas F2 α pode auxiliar na sincronização de estro de animais previamente estimulados pela luz. Assim, o objetivo do estudo foi avaliar a combinação de ambas as técnicas para a indução e sincronização do estro na contra-estação reprodutiva de cabras da raça Saanen. Foram utilizadas 55 cabras submetidas a um tratamento de fotoperíodo artificial (16 horas de luz e 8 horas de escuro durante 60 dias), 70 dias após o final deste tratamento os animais receberam duas doses de 37,5 μ gd-cloprostenol i.m. intervaladas entre 11,5 dias. Os animais foram divididos em dois grupos randomizados, e após a aplicação da segunda dose de d-cloprostenol, o estro foi monitorado duas vezes ao dia por quatro dias. As fêmeas foram acasaladas (MN; monta controlada) ao início do estro ou inseminadas (IA; sêmen congelado) 24 h após a detecção do estro. A gestação foi verificada por ultrassonografia transretal 30 dias após o acasalamento. Além disso, foi feita a dinâmica folicular (MN, n= 10; IA n= 8) por meio da ultrassonografia transretal, a cada 12 horas, para verificação do momento da ovulação. Os dados de frequência e quantitativos não paramétricos foram avaliados pelo Teste Exato de Fisher e teste de Mann-Whitney, respectivamente, a 5% de significância. A taxa de apresentação de estro não diferiu entre grupos (MN 64,3%; 18/28 e IA 66,7%; 18/27). A aplicação da segunda dose de d-cloprostenol ao início do estro não diferiu entre grupos (MN 48,8 \pm 15,0 e IA 40,2 \pm 12,2). Igualmente, não houve diferença entre a aplicação da segunda dose de d-cloprostenol e o momento da ovulação, (MN 74,0 \pm 12,6 e IA 69,7 \pm 4,5), assim como do início do estro a ovulação (MN 27,5 \pm 6,0 e IA 29,6 \pm 11,7). O tamanho do folículo ovulatório (MN 8,4 \pm 0,9e IA 7,6 \pm 0,9) e o número de ovulações (MN 1,7 \pm 0,5e IA 1,9 \pm 0,7) também não diferiram entre os grupos. Por fim, a taxa de gestação entre grupos não diferiu (MN 46,4 %; 13/28 e IA 40,7 %; 11/27), assim como a taxa de gestação corrigida pelos animais que apresentaram estro (MN 66,7%; 12/18 e IA 61,1%; 11/18). Os resultados deste estudo sugerem a possibilidade de associação do programa de luz e d-cloprostenol para a indução e sincronização do estro em cabras leiteiras na contra-estação. Todavia, maiores estudos são necessários de modo a melhorar os índices de estro e fertilidade obtidos. Suporte financeiro: Fapemig (CVZ-PPM 00201-17) e CNPq (314952/2018-7).

Palavras-chave: fotoperíodo, anestro, inseminação artificial, monta natural controlada.

Keywords: photoperiod, artificial insemination, AI, natural service.

Integridade da membrana plasmática e potencial mitocondrial de espermatozoides caprinos, submetidos ou não à separação em gradiente de densidade contínuo de Percoll
Plasma membrane integrity and mitochondrial potential of goat spermatozoa, sorting or not in Percoll continuous density gradient

**Amanda Neves Ferreira da Silva*, Giovanna Isabella de Souza Couto,
Aline Helena Albuquerque da Silva, Kamila Giffoni Sales Michiles,
Maria Madalena Pessoa Guerra, Ellen Cordeiro Bento da Silva**

Universidade Federal Rural de Pernambuco, PE, Brasil.

*Email: amandafneves@gmail.com

Mundialmente, a caprinocultura assume destaque social e econômico, em função da adaptabilidade e produtividade dos animais. Isto é notório no Nordeste brasileiro, onde está concentrada a maior parte do rebanho nacional de caprinos. As biotécnicas reprodutivas têm sido progressivamente introduzidas às criações de pequenos ruminantes, com a finalidade de elevar a produtividade das criações. A sexagem espermática é uma delas e, apesar de ser uma realidade para a espécie bovina, não é para a caprina. Métodos alternativos menos onerosos e prejudiciais aos gametas masculinos têm sido investigados; a exemplo dos gradientes de Percoll. Assim, foi objetivado avaliar a integridade de membrana (iMP) e o potencial de membrana mitocondrial (PMM) de espermatozoides caprinos submetidos ou não à centrifugação em gradiente de densidade contínuo de Percoll. Foram utilizados ejaculados individuais de dois reprodutores das raças Saanen e dois Toggenburg, totalizando quatro ejaculados por raça. As amostras aprovadas (motilidade=70% e vigor=3) foram fracionadas e uma alíquota diluída em DMEM 1x, para a concentração de 400×10^6 espermatozoides/0,5mL. Este volume foi depositado sobre o gradiente contínuo de Percoll, formado por 2 mL de cada solução isotônica (90%: Percoll comercial diluído em DMEM 10x; o Percoll 85% e 80%: Percoll 90% diluído em DMEM 1x), e centrifugado a 2000 rpm, por 20 minutos. Os pellets de espermatozoides foram recuperados e lavados em DMEM 1x, suspensos na mesma solução e avaliados quanto a iMP e PMM; assim como o foi o sêmen não selecionado. Tais avaliações foram promovidas, respectivamente, pelo uso diacetato de carboxifluoresceína com iodeto de propídio e de JC-1. Os dados obtidos para as amostras selecionadas e não selecionadas, considerando ou não a raça, foram analisados pelos testes one-way ANOVA e Tuckey-Kramer, com nível de significância de 5%. Não foi observada diferença estatística ($P > 0,05$) entre as amostras selecionadas e não selecionadas em gradientes de densidade contínuos de Percoll, para a integridade de membrana plasmática (não selecionado: $iMP = 73,94 \pm 8,11$; selecionado: $iMP = 78,5 \pm 11,92$) e potencial de membrana mitocondrial (não selecionado: $PMM = 87,45 \pm 6,2$; selecionado: $PMM = 84,28 \pm 11,95$). Tal fato demonstra que a técnica é aplicável, visto que manteve os parâmetros avaliados e descritos, na literatura, como fundamentais para que o gameta masculino desempenhe sua função. Também não houve interferência da raça ($P > 0,05$) sobre os resultados obtidos após o processo de seleção (Saanen: $iMP = 78,13 \pm 17,17$, $PMM = 83,10 \pm 16,62$; Toggenburg: $iMP = 78,88 \pm 6,02$, $PMM = 75 \pm 2,66$), evidenciando a aplicabilidade da metodologia, independente da raça. Com base nos resultados obtidos, concluiu-se que a técnica de separação em gradientes de densidade contínuos de Percoll é viável para a espécie caprina, com preservação da integridade da membrana plasmática e potencial de membrana mitocondrial, independente da raça.

Palavras-chave: bode, percol, sêmen, viabilidade celular.

Keywords: goat, Percoll, sperm, cell viability.



Cinética de espermatozoides caprinos criopreservados utilizando Red Cushion® como estratégia de proteção espermática durante a centrifugação do sêmen

Kinetics of cryopreserved goat sperm using Red Cushion® as a strategy to sperm protection during semen centrifugation

**Marcelo Sant'Ana Borges¹, Ana Carolina Silva Teixeira², Letícia Martins Conti²,
Joana Larissa Barbosa Born², Fábio Morato Monteiro¹, Kleber da Cunha Peixoto Júnior²,
André Maciel Crespilho^{2,*}**

¹Instituto de Zootecnia, Estação Experimental de Zootecnia de Sertãozinho, Sertãozinho, SP, Brasil; ²UNISA - Universidade Santo Amaro, São Paulo, SP, Brasil.

*E-mail: andremacc@yahoo.com.br

A maior parte dos protocolos de criopreservação preconizam o uso de centrifugação (CE) para remoção do plasma seminal (PS) do sêmen de bodes. No entanto, esse tipo de processamento pode resultar em danos significativos à estrutura das células espermáticas, influenciando negativamente nos padrões cinéticos e no potencial de fertilidade dos espermatozoides. Para redução dos efeitos deletérios da CE muitos protocolos recentes de criopreservação têm indicado o uso de colóides de alta densidade para amortecer o impacto mecânico imposto aos espermatozoides durante a centrifugação. Dentre as opções de colóide o produto Red Cushion® (Botupharma, Botucatu, Brasil) à base de Iodixanol já demonstrou sua efetividade para a proteção de espermatozoide equinos durante a centrifugação. Nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a efetividade e inocuidade do Red Cushion® (RC) como método de separação do plasma seminal caprino previamente ao processo de criopreservação. Para o estudo foram obtidos 5 ejaculados de 5 bodes da raça Anglo Nubiana (n=25 amostras). Imediatamente após cada coleta os ejaculados foram acrescidos de solução fosfato salina (PBS) previamente aquecida a 37°C de forma a fixar o volume final em 3 mL. As amostras diluídas foram fracionadas em 3 alíquotas iguais (1 mL cada) para compor 3 grupos experimentais: GC (Controle; centrifugação convencional); G1 (centrifugação usando 1ml de Red Cushion® previamente depositado em tubo cônico de centrifuga) e G2 (centrifugação usando 0,5 mL de RC previamente depositado em tubo de centrifuga). Todos os grupos experimentais receberam PBS até completar o volume final de 5mL e foram centrifugados a 600xG por 10 minutos. Após a CE foi descartado o sobrenadante do GC. No G1 foi recuperado apenas o pellet seminal e no G2 o pellet seminal foi integralmente misturado ao Red Cushion® após a remoção do sobrenadante. Para criopreservação as amostras dos 3 grupos experimentais foram diluídas em meio BotuBov® (Botupharma, Botucatu Brasil) respeitando-se a concentração final de 120×10^6 espermatozoides/mL, envasadas em palhetas de 0,5mL e submetidas a curva de refrigeração em caixa isotérmica com temperatura constante de 5°C por 4 horas. Todas as amostras foram criopreservadas em vapor de nitrogênio líquido (20 minutos a 5 cm de distância de coluna líquida de N₂ adicionado à caixa de isopor de 45L) e armazenadas em botijão criobiológico até o momento das análises. A cinética espermática foi avaliada através de sistema computadorizado de análise (CASA) ISAS® V.1.2 (Proiser®, Valencia, Espanha) após a descongelação (36°C/30) e após teste de termorresistência rápido (46°C/30 minutos) e os dados gerados foram submetidos a análise de variância (GLM®, SAS Institute, Cary, USA). Não foram observadas diferenças para motilidade total avaliada pós-descongelação (GC=45,1%, G1=51,86% e G2=55,28%) ou pós-incubação (GC=10,32%, G1=11,44% e G2=13,16%), bem como para nenhum outro parâmetro cinético analisado objetivamente através de CASA. Conclui-se que o Red Cushion® não apresenta nenhum efeito deletério à cinética dos espermatozoides caprinos; entretanto, esse colóide comercial não foi capaz de proporcionar nenhum benefício ao movimento de células espermáticas caprinas submetidas à CE previamente ao processo de criopreservação.

Palavras-chave: caprinos, centrifugação, criopreservação, sêmen, iodixanol.

Keywords: goats, centrifugation, cryopreservation, semen, iodixanol.

Avaliação da membrana plasmática do espermatozoide caprino usando sondas fluorescentes e citometria de fluxo

Assessment of the plasma membrane of goat spermatozoa using fluorescent probes and flow cytometry

**Marciane da Silva Maia^{1*}, Claudio Avelino de Oliveira Lucena²,
Carlos Eduardo Bezerra de Moura³**

¹Embrapa Semiárido, Petrolina, PE; ²Unidade Acadêmica Especializada em Ciência Animal, UFRN, Macaíba, RN;

³Departamento de Ciências Animais, UFERSA, Mossoró, RN, Brasil.

*E-mail: marciane.maia@embrapa.br

Para melhorar a análise de rotina dos espermatozoides, é necessário desenvolver métodos rápidos, objetivos e acessíveis de avaliação de diferentes aspectos da viabilidade espermática. A membrana plasmática é essencial para a função espermática, uma vez que fornece proteção física à célula, atua como uma barreira seletiva e desempenha um papel fundamental nas interações intercelulares. Muitos dos métodos atualmente utilizados para avaliar o seu status baseiam-se no aumento da permeabilidade das membranas espermáticas danificadas a diferentes substâncias, incluindo a eosina-nigrosina e diversas sondas fluorescentes. A associação das sondas fluorescentes com a citometria de fluxo tem a vantagem possibilitar a avaliação rápida de características específicas de um grande número de espermatozoides. O sêmen, oriundo de um pool de dois ejaculados de um mesmo bode (n=8) foi dividido em duas partes iguais submetido à centrifugação (2 x 600 g por 10min) e em seguida diluído (400 x 106 sptz/ml) em diluidor à base de leite desnatado-glicosado ou Tris-glicose-gema e submetido a criopreservação. A integridade da membrana foi analisada por citometria de fluxo (Citômetro de fluxo FACS Canto II; BD Bioscience, CA, EUA) após coloração com Diacetato de carboxifluoresceína (DIC, 0,002 mg/ml) e Iodeto de propídio (IP, 0,01 mg/ml) e por microspia ótica (Leica DM 750, 1000x) após coloração vital Eosina-nigrosina. A relação entre as populações de espermatozoides quantificadas pela citometria de fluxo e pela coloração vital foi estabelecida pela análise de correlação simples e o efeito do diluidor sobre os parâmetros estudados pela ANOVA com comparação de médias pelo teste de Duncan a $P < 0,05$. A coloração dupla de DIC/IP analisada em citometria de fluxo permitiu a identificação de três populações de espermatozoides: A= células positivas para IP (fluorescência vermelha); B= células coradas por IP e que também retiveram DIC e C= células que retiveram apenas DIC (fluorescência verde). A porcentagem de espermatozoides que retiveram fluorescência verde (viáveis) após a descongelação foi maior nas amostras congeladas em Tris-gema ($49,1 \pm 14,5\%$) comparada ao Leite ($32,8 \pm 13,6\%$). Comportamento semelhante foi observado na avaliação por coloração vital com 72,3% de viáveis no Tris-gema e 58% no Leite. Diferenças na retenção de viabilidade entre os diluidores foram detectadas mesmo entre amostras de espermatozoides oriundas do mesmo ejaculado sugerindo que o diluidor Tris-gema proporcionou uma melhor proteção à membrana plasmática durante a congelação e descongelação, do que o diluidor à base de leite. Observou-se também uma alta correlação positiva entre a população C com a porcentagem de espermatozoides viáveis determinada por coloração vital ($r = 0,69$; $P < 0,01$), demonstrando que a combinação de DIC e IP analisados por citometria de fluxo é um método viável para avaliar a viabilidade do espermatozoide caprino além de ser mais rápido e preciso. Nossos resultados validam o método da citometria de fluxo para avaliar a integridade da membrana plasmática do espermatozoide caprino e indicam que o diluidor Tris-gema, na formulação utilizada, é menos prejudicial para os espermatozoides dessa espécie do que o leite desnatado.

Palavras-chave: criopreservação, citometria de fluxo, sondas fluorescente, sêmen, viabilidade espermática.

Keywords: cryopreservation, flow cytometry, fluorescent probes, semen, sperm viability.

Uso da Polpa desidratada do fruto de *Mauritia flexuosa* como suplemento ao diluente de congelação do sêmen caprino

Use of dehydrated pulp of Mauritia flexuosa fruit as a supplement to the freezing diluent of goat semen

Leonardo Lopes Furtado⁴, Homero Batista da Rocha², Laércio Fontinele Bandeira de Macedo⁵, Clarissa de Castro e Braga⁴, Kenney de Paiva Porfirio³, Pedro Henrique Fonseca Silva², Ana Lys Bezerra Barradas Mineiro¹, Janaína de Fátima Saraiva Cardoso¹, Ney Rômulo de Oliveira Paula^{1,*}

¹Professores do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Piauí; ²Pós-graduando do Programa de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Federal do Piauí; ³Pós-graduando do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, Universidade Federal do Piauí; ⁴Graduandos de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Piauí; ⁵ Pós-graduando do Mestrado Profissional e Biotecnologia em Saúde Humana e Animal, Universidade

Federal do Piauí, Teresina, PI, Brasil.

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

O Brasil em sua diversidade possui vários tipos de frutas nativas, acompanhadas de características sensoriais ímpares com alto teor nutricional e econômico. Como exemplo a polpa do fruto de *Mauritia flexuosa*, composta por carotenoides, polifenóis e ácido ascórbico. Face ao exposto, apesar dos vários estudos desenvolvidos utilizando diluentes de origem vegetal na biotecnologia do sêmen, há poucos relatos sobre a eficiência da polpa desidratada do fruto de *Mauritia flexuosa* na conservação seminal. Neste contexto, este estudo teve como objetivo avaliar a qualidade *in vitro* do sêmen caprino descongelado utilizando diluente suplementado com a polpa desidratada do fruto de *Mauritia flexuosa*. Foram utilizados três machos caprinos com idade média de 6 anos. As coletas de sêmen foram realizadas pelo método da vagina artificial. O experimento foi dividido em duas etapas, na primeira foram utilizados 15 *pools* sendo fracionado em 13 tratamentos com diferentes concentrações do extrato bruto (0,25%; 0,5%; 0,6%; 0,7%; 0,8%; 0,9%; 1,0%; 2,0%; 3,0%; 4,0%; 5,0%; 10%) diluídos em TRIS, como grupo controle foi utilizado TRIS isento do extrato. O *pool* foi diluído e avaliado os parâmetros espermáticos (motilidade, vigor e morfologia) sob TTR lento (T05 - T120 minutos). As melhores concentrações do extrato bruto (0,25%; 0,5%; 0,6%; 0,7%; 0,8%; 0,9%; 1,0%) obtidas na primeira foram utilizadas na segunda para criopreservação. Nesta etapa foram utilizados 15 *pools* e formou-se dois grupos de tratamento, sendo um diluente constituído TRIS + 7% Glicerol + melhores concentrações do extrato bruto e outro pelo diluente TRIS + 2,5% gema + Glicerol 7% + Melhores concentrações do extrato bruto. O sêmen foi criopreservado em sistema automatizado (TK 3000[®]). Após a descongelação das amostras foi realizada a avaliação da cinética espermática pelo CASA. A análise estatística dos dados foi realizada pelo software SAS[®] e quando verificada significância ($p < 0,05$) procedeu-se o teste de Tukey. Na primeira etapa os grupos contendo baixa quantidade do extrato não diferiram do grupo controle ($p > 0,05$). Já na segunda etapa, após descongelação os grupos TRIS contendo 2,5% gema ou 0% gema, foi observado diferença significativa entre os grupos nos parâmetros de VCL, VSL, VAP, LIN, STR, ALH, BCF, WOB ($p < 0,05$), sendo que o grupo TRISGLGEMF06 foi superior ao grupo controle nos parâmetros de VCL, VAP e ALH. A gema de ovo é um constituinte presente em crioprotetores de origem animal que pode apresentar riscos. Todavia, mesmo com esse entrave, tem sido corriqueiramente utilizada na criopreservação de sêmen caprino. Neste contexto, é imprescindível que a mesma seja substituída por meios isentos de produtos de origem animal. Em conclusão, A polpa desidratada do fruto de *Mauritia flexuosa* nas concentrações de 0,25% a 1% em solução tampão TRIS adicionados ao *pool* de sêmen caprino permitiu uma boa manutenção da viabilidade dos espermatozoides após o processo de criopreservação. A polpa desidratada do fruto de *Mauritia flexuosa* nas concentrações 0,25% a 1% adicionado no diluente TRIS contendo 2,5% de gema de ovo atuou de forma benéfica nos parâmetros espermáticos, podendo ser uma alternativa viável para tecnologias reprodutivas como a inseminação artificial.

Palavras-chave: caprinos, criopreservação seminal, *mauritia flexuosa*.

Keywords: goat, seminal cryopreservation, *mauritia flexuosa*.

Determinação do início de protocolo superovulatório “Dia Zero” em cabras leiteiras da raça Saanen

Determining the beginning of the "Day Zero" superovulatory protocol in Saanen dairy goats

Isabel Oliveira Cosentino^{1,*}, Mário Felipe Alvarez Balara¹, Felipe Seabra Cardoso Leal^{1,2}, Ana Luiza Cunha Bade¹, Lucas de Figueiredo Cardoso Barbosa¹, Fernanda Martins Gonçalves¹, Paula Renata Cortat de Souza¹, Paulo Victor dos Santos Pereira¹, Gabriel Feliciano Felizardo¹, Felipe Zandonadi Brandão¹

¹Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense - UFF, Niterói, RJ, Brasil; ²Capril Vale das Almathéias, Sapucaia, RJ, Brasil.

*E-mail: isabelcosentino@id.uff.br

A múltipla ovulação e transferência de embriões (MOTE) é uma biotécnica que contribui para o rápido melhoramento genético na produção animal. O início do tratamento superovulatório na ausência de dominância folicular é vantajoso. Assim, o protocolo Dia zero foi proposto como um método para, inicialmente, promover a ovulação nas doadoras e, por conseguinte, sincronizar a emergência folicular iniciando o estímulo superovulatório subsequente (dia 0 do ciclo estral). Este estudo objetivou avaliar o momento da aplicação de GnRH sobre a sincronização da ovulação e o surgimento de uma nova onda folicular. 57 cabras Saanen foram utilizadas. As fêmeas foram sincronizadas com um protocolo curto de seis dias de esponja (Progespon; Schering Plough, SP, Brasil), no dia anterior à retirada foi aplicada 200 UI de gonadotrofina coriônica equina (eCG, Novormon, Schering Plough, São Paulo, Brasil), e 0,24 mg de cloprostenol sódico (Estron, Agner União, São Paulo, Brasil). Após a retirada da esponja, as fêmeas foram divididas em três grupos (n=19), de acordo com a aplicação de 0,025 mg de acetato de gonadorelina (GnRH – Gestran Plus, Tecnopec, São Paulo, Brasil), tendo o primeiro recebido 1mL de salina 28h após a retirada da esponja (G_{con}), o segundo, análogo do GnRH 28h após a retirada da esponja (G_{28h}), e o terceiro, análogo do GnRH 36h após a retirada da esponja (G_{36h}). Foi acompanhada a dinâmica folicular de 12 fêmeas de cada grupo, com avaliações ultrassonográficas a cada 8h a partir da retirada da esponja até o momento da ovulação e a cada 12h até 96h pós-ovulação. Os folículos foram classificados em pequenos ($\leq 3,0$ mm), médios (3 -6 mm) ou grandes ($\geq 6,0$ mm). O momento da ovulação foi sincronizado de forma mais homogênea pela aplicação de GnRH (retirada da esponja até a ovulação - G_{28h}: $52,7 \pm 4,2$; G_{34h}: $53,8 \pm 5,5$; G_{con}: $59,6 \pm 13,6$). A quantidade de folículos grandes aumentou gradativamente do momento da ovulação (0h) até a última avaliação (96h). Houve efeito do tratamento sobre o número de folículos grandes nos momentos iniciais (0h e 12h) pós-ovulatórios. No momento 0h, os grupos G_{28h} e G_{34h} foram iguais entre si e apresentaram população de folículos grandes menor que o grupo G_{con} (G_{28h}: $0,3 \pm 0,5$ e G_{34h}: $0,3 \pm 0,6$ vs. G_{con}: $2,2 \pm 1,5$). Já no momento 12h, o número de folículos grandes do G_{28h} não diferiu dos outros grupos. Todavia, o G_{34h} apresentou menor população de folículos grandes quando comparado ao grupo G_{con} (G_{28h}: $0,3 \pm 0,6$; G_{34h}: $0,1 \pm 0,3$; G_{con}: $1,4 \pm 1,2$). Nos momentos seguintes, não houve efeito de tratamento sobre a população folicular. Assim, para um protocolo de superovulação em caprinos leiteiros, recomenda-se a aplicação do análogo de GnRH 34h após a retirada da esponja e o início das aplicações de FSH 53h após a retirada da esponja. Deste modo, a superovulação será iniciada na ausência ou na menor presença de folículos grandes (dominantes), havendo assim a emergência sincrônica de folículos oriundos da primeira onda folicular fisiológica pós-ovulação.

Palavras-chave: MOTE, caprinos, dinâmica folicular.

Keywords: MOET, caprine, follicular dynamics.

Administração de hCG após a inseminação artificial eleva a taxa de gestação em cabras Saanen acíclicas submetidas a indução de estro sincronizado

hCG administration after artificial insemination increases pregnancy rate in synchronous estrus induced acyclic Saanen goats

Vitória de Oliveira Machado^{1,*}, Felipe Seabra Cardoso Leal², Gisele Caldas Bonato³, Jenniffer Hauschildt Dias³, Aline Matos Arrais⁴, Ana Lúcia Rosa e Silva Maia⁵, Luana Rangel Côrtes⁶, Joanna Maria Gonçalves Souza-Fabjan⁷, Jeferson Ferreira da Fonseca⁸

¹Graduanda de Medicina Veterinária, Universidade Presidente Antônio Carlos, Juiz de Fora, MG, Brasil; ²Médico Veterinário, Capril Vale das Amaltheias, Teresópolis-RJ, Brasil; ³Mestranda/Doutoranda em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, Brasil; ⁴Doutoranda, Departamento de Reprodução e Avaliação Animal, Instituto de Zootecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica-RJ, Brasil; ⁵Pós-Doutoranda, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói-RJ, Brasil; ⁶Mestranda em Medicina Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói-RJ, Brasil; ⁷Professora adjunta, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói-RJ, Brasil; ⁸Pesquisador, Embrapa Caprinos e Ovinos, Coronel Pacheco-MG, Brasil.

*E-mail: vitoliveirama@gmail.com

A produção e produtividade dos rebanhos de caprinos leiteiros do Brasil figuram entre as maiores do mundo (Lôbo, et al. 2017. *Small Rumin Res*, 153:9–16). Neste cenário torna-se evidente o interesse por alternativas que tragam melhorias na criação e na eficiência e emprego de biotecnologias da reprodução. A inseminação artificial (IA) é uma das mais empregadas neste contexto, mas seu sucesso é dependente de vários fatores, dentre eles do adequado nível plasmático de progesterona (P4), sendo a gestação da cabra dependente da P4 produzida pelo corpo lúteo (CL) durante toda a gestação. Em situações em que a P4 não atinja níveis adequados, a gestação não se estabelece ou se mantém. Pode-se incrementar a P4 de forma exógena e endógena, mas a primeira forma parece comprometer a função luteal (Fonseca et al. 2008. *Anim Reprod Sci*, 103:366–373). A outra forma seria a indução de CL acessório (CLA) por meio da aplicação estratégica de gonadotrofinas como a coriônica humana (hCG). O objetivo desse estudo foi verificar o efeito da administração de hCG na taxa de gestação de cabras Saanen submetidas à IA. Foram utilizadas 60 cabras que receberam dispositivos vaginais (60 mg MAP; Progespon[®], Zoetis Indústria de Produtos Veterinários Ltda, Campinas, Brasil) por seis dias, além de 37,5 µg d-cloprostenol (Prolise[®]; ARSA S.R.L., Buenos Aires, Argentina) latero-vulvar e 200 UI eCG (Novormon 5000[®]; Zoetis, Campinas, Brasil) i.m. 24 h antes da retirada do dispositivo. Todos os procedimentos foram feitos entre 17:00 e 18:00h. Após a retirada do dispositivo o estro foi monitorado duas vezes por dia por machos inteiros e 54 cabras em estro foram inseminadas entre 18 e 24 h após o início do estro com sêmen congelado/descongelado (Fonseca et al. 2017. *Reprod Biol*, 17:268-273). Em seguida, as cabras foram distribuídas em função do intervalo para o estro e do escore da condição corporal (ECC, variação de 1 a 5) em dois tratamentos. Os animais receberam 300 UI hCG (Grupo hCG; Vetecor[®] 5000; Hertape Calier, São Paulo, Brasil; n=28) ou 1 mL de solução salina (Grupo controle; n=26), por via intramuscular, sete dias após o início do estro. Todas as fêmeas foram avaliadas para detecção de gestação por meio de exame ultrassonográfico com aparelho de ultrassom acoplado (KX2000G Vet[®], Kaixin, Xuzhou, China) a um transdutor linear de 7,5 MHz (via transretal) 35 dias após a realização da IA. As taxas de gestação foram comparadas pelo teste exato de Fisher a 5% de significância. As taxas de gestação observadas foram de 75,0% (21/28) para cabras tratadas com hCG e 42,3% (11/26) para aquelas do grupo controle (P<0,05). Os resultados obtidos sugerem que a administração de hCG sete dias após o início do estro pode atuar de forma benéfica para a estabelecimento da gestação em cabras Saanen acíclicas submetidas à indução de estro sincronizado e inseminação artificial.

Suporte financeiro: Fapemig (CVZ-PPM 00201-17) e CNPq (314952/2018-7).

Palavras-chave: Caprinos, gonadotrofina coriônica humana, reprodução.

Keywords: *Caprine*, human chorionic gonadotropin, reproduction.

Utilização de pipeta descartável para inseminação artificial em caprinos com intuito de prevenir a transmissão artrite infecciosa caprina (CAE)

Use of a disposable pipette for caprine artificial insemination in order to prevent Caprine Arthritis Encephalitis (CAE) transmission

Marcela Sene Rocha¹, Calina Maria da Silva Mancilha², Silvia Edelweiss Crusco^{1,*}

¹Curso de Medicina Veterinária da Universidade Paulista, UNIP, São Paulo, SP, Brasil; ²Médica Veterinária autônoma.

*E-mail: silviacrusco@terra.com.br

O objetivo deste trabalho foi a utilização de pipetas descartáveis para a inseminação de cabras como método para evitar a transmissão de artrite infecciosa caprina (CAE). A CAE, uma enfermidade multissistêmica crônica provocada por um vírus, do gênero *Lentivirus* da família *Retroviridae*. A principal forma de transmissão do vírus acontece com a ingestão do colostro e/ ou do leite de animais infectados, a transmissão horizontal e iatrogênica também pode ocorrer, mas somente após longos períodos de contato. Os sinais clínicos mais frequentes são artrite, encefalite, mastite, emagrecimento progressivo e pneumonia. Um dos controles mais importantes dessa enfermidade se baseia em separar os cabritos das mães positivas para a doença e serem alimentados com colostro pasteurizado ou colostro de vaca, bem como a realização do exame anual dentro do rebanho, descartando os animais soropositivos. Por ser uma enfermidade que não apresenta cura, as medidas de prevenção deste vírus devem ser consideradas, observando-se todos os possíveis fatores de risco de transmissão, sendo a transmissão via material utilizado para inseminação artificial um desses fatores. Foram utilizadas 40 cabras da raça saanem com idade entre 2 e 6 anos, peso entre 30 e 45 kg. Os animais deste estudo pertenciam ao Capril SP situado em Jacareí – SP. submetidas a indução de cio com o protocolo hormonal a seguir: D0 – colocação de esponjas vaginais com medroxiprogesterona (Progespon®), D3 – aplicação de prostaglandina (1,0 ml de D9 – retirada das esponjas vaginais, D10 – rufiação, D11 – inseminação. O sêmen utilizado no trabalho foi colhido no capril em os bodes estavam, foi diluído em diluidor próprio imediatamente após a coleta e mantido refrigerado a 5°C até o momento da utilização para a inseminação e mantido em refrigeração. Para cada fêmea foi utilizada uma pipeta média com 22 cm de comprimento que estava embaladas e esterilizadas individualmente pelo método de radiação gama. As pipetas utilizadas são as mesmas preconizadas para inseminação artificial em cadelas (Provar®). No momento da inseminação, a fêmea foi colocada em posição para inseminação e foi utilizado um espécúlo para a visualização do fundo vaginal e cérvix, após este procedimento o sêmen foi aspirado com a pipeta acoplada a uma seringa e injetado no fundo vaginal. O diagnóstico de gestação foi feito 30 dias após a data da inseminação através de ultrassonografia (Chisson D850®). A taxa de prenhez do lote foi de 38,46%. O método se mostrou seguro para evitar que a pipeta de inseminação seja uma via de transmissão de CAE e também promoveu prenhez positiva nas fêmeas.

Palavras chave: caprinos, inseminação artificial, CAE, pipeta descartável.

Keywords: caprine, artificial insemination, CAE, disposable pipette.



Técnica de colección de semen: comparación de la colección mediante masaje transrectal de las glándulas sexuales accesorias guiado por ultrasonido y la electroeyaculación en chivos durante la transición hacia la estación reproductiva

Semen collection technique: comparison of the collection by transrectal massage of accessory sex glands guided by ultrasound and electroejaculation in goats during the transition to the reproductive season

Madeleine Guerrero-Gutiérrez*, Rodolfo Ungerfeld, Julián Santiago-Moreno, Julia Giriboni

Facultad de Veterinaria Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.

*E-mail: madeleineguerrero@gmail.com

Existen varios métodos de colección de semen, los que influyen sobre distintos aspectos de la calidad del mismo. En los pequeños rumiantes, el semen se colecta frecuentemente con el uso de una vagina artificial, lo que implica que la producción está relacionada con el estado fisiológico y el comportamiento sexual del individuo. Es posible que fuera de la estación reproductiva se produzca semen, pero no se pueda colectar por falta de libido. Otra limitante es que los animales deben ser entrenados para eyacular en una vagina artificial que limita la recuperación del semen en varias circunstancias, todo lo que genera que frecuentemente se utilice la electroeyaculación (EE). La EE es fácil de aplicar y tiene una gran eficacia, pero su aplicación tiene efectos negativos sobre el bienestar animal (BA), por lo que recientemente se desarrolló una técnica alternativa por miembros del equipo de trabajo: el masaje transrectal de las glándulas sexuales accesorias guiado por ultrasonido (TUMASG). El TUMASG requiere pocos o ningún pulso eléctrico para lograr la eyaculación por lo que induce una respuesta de estrés menor que la EE. Aunque el TUMASG tendría un menor impacto negativo sobre el BA, la efectividad de la técnica varía con la especie. El objetivo del presente estudio fue comparar el espermiograma básico del semen colectado mediante TUMASG o EE durante la transición hacia la estación reproductiva (noviembre). El estudio se realizó en el Departamento de Fisiología, Facultad de Veterinaria, con 10 chivos adultos Gabón. Se colectó semen a 5 de ellos con TUMASG, y a los 5 restantes con EE, intercambiando los tratamientos en una segunda colecta realizada a los 2 días, de forma que se colectó semen de todos los animales con ambos métodos. Una vez colectada la muestra de semen se determinó el volumen del eyaculado y la motilidad espermática de masa en forma subjetiva, y la motilidad individual y motilidad progresiva mediante un software específico [Integrated Semen Analysis System (ISAS, Valencia, España)]. Se determinó la funcionalidad de la membrana de los espermatozoides mediante la técnica de HOST, el porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales y con acrosoma normal. Se calculó la cantidad de espermatozoides totales eyaculados, y la cantidad total mótil, con motilidad progresiva, normales y con acrosoma íntegro. No hubo diferencias en ninguna variable. En conclusión, TUMASG es un procedimiento alternativo para disminuir las preocupaciones de BA en relación a la EE en chivos sin afectar la calidad del semen fresco.

Palabras-clave: colecta de semen, masaje transrectal, electroeyaculación y chivos.

Keywords: *semen collection, transrectal massage, electroejaculation and goats.*



Caracterização da citologia vaginal em cabras realizada no dia da inseminação artificial em protocolo hormonal com indução de cio

Vaginal cytology description in goats performed on the day of artificial insemination in a hormonal protocol with induction of estrus

Marcela Sene Rocha^{1,*}, Silvia Edelweiss Crusco², Cláudio Alvarenga de Oliveira¹

¹FMVZ/USP; ²Universidade Paulista (UNIP), São Paulo, SP, Brasil.

E-mail: marcela_sene@hotmail.com

O objetivo deste estudo foi caracterizar a citologia vaginal em cabras no momento da inseminação após indução de cio por protocolo hormonal. Foram utilizadas 40 cabras submetidas ao protocolo a seguir: D0 – colocação de esponjas vaginais com medroxiprogesterona (Progespon®), D3 – aplicação de prostaglandina (1,0 ml de Ciosin®), D8 - aplicação de gonadotrofina coriônica equina (2,0 ml de Norvormon®), D9 – retirada das esponjas vaginais, D10 – rufiação, D11 – inseminação. As cabras com idade entre 3 e 5 anos, peso entre 40 e 50kg pertenciam a raça saanen. Os animais deste estudo pertenciam ao Capril SP situado em Jacaré – SP. No dia D11 do protocolo, no momento da colocação do espéculo vaginal e anterior a introdução da pipeta de inseminação foi colhido material do fundo vaginal com auxílio de um swab estéril. Com o material colhido foram realizados esfregaços vaginais em lâmina de vidro e corados com coloração Panótico Rápido®. Para cada amostra foram contadas 200 células sob a luz de microscópio, e estas foram divididas em quatro tipos morfológicos de células epiteliais sendo, célula superficial queratinizada anucleada (SA), superficial queratinizada com núcleo (SN), intermediária (I) e parabasal (P). Estes dados foram agrupados e expressos em percentagem dos tipos celulares encontrados para cada amostra proveniente de cada fêmea. Os resultados obtidos foram: 64,78% ($\pm 18,76$) de células epiteliais superficiais anucleadas, 28,94% ($\pm 15,76$) células epiteliais superficiais nucleadas, 5,88% ($\pm 7,38$) e parabasais 0,4 % ($\pm 0,43$). A taxa de prenhez do lote foi de 40% e estatisticamente não houve correlação do quadro de citologia vaginal específico com a prenhez positiva ($p < 0,05$). Em duas lâminas foi encontrada a presença espermatozoides, o que nos leva a pensar em investigar o rufião, porém as duas fêmeas ficaram vazias, na lâmina de apenas uma fêmea foi observada a presença de hemácias em grande quantidade, a mesma não ficou prenhe e na citologia das 16 fêmeas prenhes foi observada a presença de muco corado em 7 lâminas, o que estatisticamente demonstrou ter uma correlação positiva moderada ($r=0,5145$). Este trabalho caracterizou a citologia vaginal típica do momento de inseminação artificial com protocolo hormonal.

Agradecimentos: CAPES, Capril São Paulo.

Palavras-chave: cabras, citologia vaginal, inseminação artificial.

Keywords: goats, vaginal cytology, artificial insemination.



Análise computadorizada do sêmen caprino imunosexado e criopreservado em ACP-101c/102c[®]

Computer analysis of goat semen immuno-sexing and cryopreserved ACP-101c/102c[®]

**Janaina de Fátima Saraiva Cardoso^{1,*}, Pedro Henrique Fonseca Silva³,
Ana Lys Bezerra Barradas Mineiro¹, Letícia Soares de Araújo Teixeira²,
Marlene Sipaúba de Oliveira², Kenney de Paiva Porfírio², Francisco Felipe Ferreira Soares⁴,
Misaél das Virgens Santana⁴, Tuanny Creusa Medeiros Damasceno⁴, Clarissa de Castro e Braga⁵,
Leonardo Lopes Furtado⁵, Ney Rômulo de Oliveira Paula¹**

¹Professores do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Piauí (UFPI), Teresina, PI, Brasil; ²Pós-graduandos em Ciência Animal, UFPI, Teresina, PI, Brasil; Pós-graduando em Zootecnia, UFPI, Bom Jesus, PI, Brasil; ⁴Residentes na Área de Reprodução Animal, UFPI, Teresina, PI, Brasil; ⁴Graduandos de Medicina Veterinária, UFPI, Teresina, PI, Brasil.

*E-mail: janainadefatima@ufpi.edu.br

A caprinocultura ganha destaque no agronegócio brasileiro de forma bastante competitiva e evidencia a importância econômica e social da exploração dessa espécie. Por outro lado, a dispersão de tecnologias, bem como os recursos humanos qualificados são os principais entraves enfrentados. Nesse sentido, é de grande valia o aperfeiçoamento e a utilização de biotécnicas reprodutivas a fim de garantir a eficiência reprodutiva e o progresso do melhoramento genético. A produção de doses de sêmen enriquecidas com espermatozoides portadores do cromossomo masculino (Y) ou feminino (X) tende a maximizar a utilização da inseminação artificial, dando-lhe um papel fundamental no melhoramento genético entre as gerações conforme a necessidade e aptidão do rebanho. Diante dessas premissas e da necessidade da realização de pesquisas que utilizem técnicas de sexagem espermática prática e eficiente associado a criopreservação do sêmen em meios diluentes que proporcionem manutenção da funcionalidade do espermatozoide pós-descongelamento, objetivou-se, avaliar por meio de análise computadorizada a qualidade *in vitro* do sêmen caprino imunosexado e criopreservado em água de coco em pó (ACP-101c/102c[®]). Foram utilizados três reprodutores caprinos com idade média de 6 anos. As coletas de sêmen foram realizadas pelo método da vagina artificial. Foram avaliados os parâmetros espermáticos (motilidade, vigor e morfologia) de 15 *pools* de sêmen. Posteriormente, formou-se três grupos: grupo controle (GC), que correspondeu ao sêmen não sexado criopreservado em meio diluente padrão TRIS + 2,5% gema + 7% Glicerol; grupo (G1), sêmen imunosexado e criopreservado em meio diluente TRIS + 2,5% gema + Glicerol 7% e grupo (G2), sêmen imunosexado e criopreservado em ACP101/102c[®] + 2,5% gema + 7% Glicerol. Realizou-se a sexagem do sêmen caprino utilizando o anticorpo macho específico para imunosexagem de espermatozoides de mamíferos (Hy Biotecnologia Ltda[®]). A criopreservação do sêmen foi realizada por meio de congelador automatizado programável TK 3000[®]. Após a descongelamento das amostras foi realizada a avaliação da cinética espermática pelo sistema CASA. A análise estatística dos dados foi realizada pelo software SAS[®] e quando verificada significância ($p < 0,05$) procedeu-se o teste de Tukey. Observou-se diferença significativa ($p < 0,05$) em todos os parâmetros (MT, MP, VCL, VSL, VAP, LIN, STR, ALH, BCF, WOB), quando comparado o GC com os grupos G1 e G2, sendo os parâmetros do GC superior. Todavia, ao comparar os grupos G1 e G2 foi constatado que não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os grupos. Os espermatozoides, em decorrência dos processos oxidativos oriundos das etapas do processo de sexagem e criopreservação, apresentam degradação dos parâmetros cinéticos, tornando-se necessário a busca por meios diluentes que minimizem esses efeitos adversos. Portanto, a água de coco em pó (ACP-101c/102c[®]) pode ser utilizada para a criopreservação do sêmen imunosexado de caprinos.

Palavras-chave: Caprino, sexagem espermática, água de coco em pó.

Keywords: Goat, sperm sexing, coconut water poder.

Inseminação artificial cervical e laparoscópica em cabras mestiças de Anglo-Nubiana utilizando sêmen congelado/descongelado diluído em ACP 101/102[®]

Artificial cervical and laparoscopic insemination in crossbred Anglo-Nubian goats using frozen/thawed semen diluted in ACP 101/102[®]

Leonardo Lopes Furtado¹, Clarissa de Castro e Braga¹, Kenney de Paiva Porfirio², Marlene Sipaúba de Oliveira², Leticia Soares de Araújo Teixeira², Laércio Fontinele Bandeira de Macedo⁵, Raissa Costa Amorim¹, Janaína de Fátima Saraiva Cardoso³, Ana Lys Bezerra Barradas Mineiro³, Cristiane Clemente de Mello Salgueiro⁴, José Ferreira Nunes⁴, Ney Rômulo de Oliveira Paula^{3,*}

¹Graduandos de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Piauí; ²Pós-graduandos do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, Universidade Federal do Piauí; ³Professores do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Piauí; ⁴Professores da Universidade Estadual do Ceará; ⁵Pós-graduando do Mestrado em Biotecnologia em Saúde Humana e Animal, Universidade Federal do Piauí.

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

A inseminação artificial utilizando sincronização simultânea do estro e indução da ovulação possui diversas vantagens, dentre elas, partos concentrados em um período programado, redução da mão de obra, elevação da prolificidade e maior produtividade. Dois tipos de técnicas de inseminação artificial destacam-se: inseminação artificial laparoscópica, onde se deposita o sêmen diretamente no corno uterino; e a inseminação artificial transcervical, onde deposita-se o sêmen dentro da cérvix. Neste contexto, objetivou-se comparar as técnicas de inseminação artificial laparoscópica e cervical e avaliar o efeito da água de coco em pó (ACP[®]) na diluição seminal sobre a taxa de fertilidade. O experimento foi realizado no município de Elesbão Veloso, localizado na mesorregião centro-norte do Piauí. 17 fêmeas caprinas foram selecionadas para o experimento. Os doadores de sêmen foram três bodes puros (PO) da raça anglo-nubiana. Após a criopreservação, o sêmen foi armazenado em botijão de nitrogênio líquido até o momento da inseminação. Como protocolo de sincronização do estro foram inseridas esponjas intravaginais impregnadas com 60 mg de medroxiprogesterona, por um período de 13 dias. No nono dia do tratamento os animais receberam 300 UI de Gonadotrofina Coriônica Equina e 75µg de Cloprostenol Sódico – PGF2 α , no décimo primeiro dia as esponjas foram retiradas. Aproximadamente 54 horas após a retirada das esponjas as cabras foram submetidas à inseminação artificial em tempo fixo pela via transcervical e laparoscópica. Na inseminação artificial, nove fêmeas foram inseminadas com o sêmen diluído em ACP[®], e oito fêmeas inseminadas sem a diluição. Sete fêmeas foram inseminadas pela técnica de laparoscopia e 10 pela técnica transcervical. Os resultados demonstraram que na técnica de inseminação artificial por laparoscopia, a taxa de prenhes foi de 71,42% (5/7), dessas cinco, três foram inseminadas com a utilização de ACP[®] (60%). Já na técnica transcervical a taxa de prenhes foi de 100% (10/10), onde cinco delas (50%) foram inseminadas utilizando sêmen diluído em ACP[®]. A partir dos resultados obtidos, observa-se que a ACP[®] mostrou bom desempenho, e houve maior taxa de fêmeas prenhes quando inseminadas pelo sêmen congelado/descongelado diluído em ACP[®]. Em relação as técnicas de inseminação artificial não houve diferença significativa pelo teste Qui-quadrado (X²). Quando se compara custo/benefício, em relação a técnica transcervical e laparoscópica, a transcervical apresenta metade dos custos em relação a laparoscópica. O uso da ACP[®] vem demonstrando, por meio de experimentos *in vitro* e *in vivo*, resultados positivos na manutenção da viabilidade e poder fecundante dos espermatozoides, corroborando assim com nossos resultados. Portanto, as biotécnicas de inseminação artificial laparoscópica e transcervical em cabras mostram excelentes resultados e o uso da ACP[®] na diluição do sêmen, pós-descongelamento, contribui para elevar a taxa de fertilidade.

Palavras-chave: água de coco, caprinos, sêmen.

Keywords: coconut water, goat, semen.



Uso de diferentes doses de sêmen congelado/descongelado e fertilidade em cabras leiteiras na contra-estação: Resultados preliminares

Use of different doses of frozen / thawed semen and fertility in dairy goats in non-breeding season: Preliminary results

**Valdecir Marvulle^{1,*}, Vitória de Oliveira Machado², Gisele Caldas Bonato³, Aline Matos Arrais⁴,
Guilherme Pugliesi⁵, Jeferson Ferreira da Fonseca⁶**

¹Professor, Universidade Federal do ABC, Santo André-SP, Brasil; ²Graduanda do 5º ano de Medicina Veterinária, Universidade Presidente Antônio Carlos, Juiz de Fora, MG, Brasil; ³Mestranda em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, Brasil; ⁴Doutoranda, Departamento de Reprodução e Avaliação Animal. Instituto de Zootecnia. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica-RJ, Brasil; ⁵Professor, Departamento de Reprodução, FMVZ-USP; ⁶Pesquisador, Embrapa Caprinos e Ovinos, Coronel Pacheco-MG, Brasil.

*E-mail: valdecirmarvulle@uol.com.br

Para se obter a inseminação intrauterina de maneira rápida em cabras leiteiras, a EMBRAPA desenvolveu uma nova técnica de Inseminação Artificial (IA) (Fonseca et al. 2011, Embrapa Caprinos e Ovinos. Circular técnica, 43). Associada a ela, utiliza-se um novo protocolo de sincronização de cio usando dispositivos vaginais (60 mg MAP; Progespon[®], Zoetis Indústria de Produtos Veterinários Ltda, Campinas, Brasil) por seis dias, além de 37,5 µg d-cloprostenol (Prolise[®]; ARSA S.R.L., Buenos Aires, Argentina) i.m. e 200 UI eCG (Novormon 5000[®]; Zoetis, Campinas, Brasil) i.m. 24 h antes da retirada do dispositivo. Todos os procedimentos são feitos entre 17:00 e 18:00h. Após a retirada do dispositivo o estro é monitorado duas vezes por dia por machos inteiros. Paralelo a isto, estudos relacionados a doses inseminantes de sêmen em associação a estas novas biotécnicas precisam ser realizados. A dose preconizada pelo CBRA é de 100 milhões de espermatozoides viáveis por palheta para congelamento, com índice maior de 40% de espermatozoides com motilidade progressiva na hora da descongelamento. Entretanto, com a nova técnica de IA e novos diluentes (Optixcell[®], IMV), estas quantidades provavelmente poderiam ser reduzidas. O objetivo desse estudo foi testar o efeito de diferentes doses de sêmen congelado/descongelado sobre a taxa de gestação de cabras submetidas à indução de estro sincronizado. Foram utilizadas 96 cabras (48 da raça Toggenburg - TOG e 48 Saanen-SAA), distribuídas equitativamente em função do peso, escore da condição corporal (ECC, variação 1= muito magra e 5=obesa) e ordem de partos entre os quatro grupos recebendo monta natural (MN) ou inseminação artificial (Fonseca e Alvim. 2018, Embrapa Caprinos e Ovinos. Circular técnica, 45) com dose de 100 (T100), 75 (T75) ou 50 (T50) milhões de espermatozoides viáveis pré-congelamento e com no mínimo de 50% de motilidade retilínea progressiva e vigor 2,5 pós-descongelamento. Três cabras SAA não apresentaram cio, uma de cada grupo de IA. Todas as fêmeas foram avaliadas para detecção de gestação por meio de exame ultrassonográfico com aparelho de ultrassom acoplado (KX2000G Vet[®], Kaixin, Xuzhou, China) a um transdutor linear de 7,5 MHz (via transretal) 35 dias após a realização da MN e IA. O escore da condição corporal foi superior para SAA (3,9±0,4) que para TOG (2,8±0,3) (Teste de Mann-Whitney; P<0,001). As taxas de gestação foram comparadas pelo teste Exato de Fisher a 5% de significância. Para TOG as taxas de gestação observadas foram de MN=91,7% (11/12), T100=75,0% (9/12), T75=41,7% (5/12) e T50=8,3% (1/12). Para SAA, as taxas de gestação observadas foram MN=41,7% (5/12), T100=9,1% (1/11), T75=27,3% (3/11), e T50=18,2% (2/11). No total, MN=66,7% (16/24), T100=43,5%^{a,b} (10/23), T75=34,8%^{b,c} (8/23) e T50=13,0% (3/23) (P<0,05). Comparando-se as raças, a taxa geral de gestação foi TOG=54,2% (26/48) e SAA=24,4% (11/45) (P<0,05). Os resultados obtidos preliminares sugerem que a dose mínima de sêmen necessária por palhetas seja a de 100 milhões de espermatozoides. Tanto a raça quanto as condições de manejo podem interferir nos resultados de gestação. Isto ressalta a importância de incluir um grupo com monta natural em estudos dessa natureza. A elevação do número de animais por grupo testado permitirá conclusões mais definitivas sobre a dose inseminante a ser utilizada.

Suporte financeiro: Fapemig (CVZ-PPM 00201-17) e CNPq (314952/2018-7).

Palavras-chave: caprinos leiteiros, inseminação artificial, dose de sêmen, gestação.

Keywords: dairy goat, artificial insemination, semen dose, pregnancy.



Dinâmica ovariana folicular e luteal em cabras leiteiras induzidas e sincronizadas por programa de luz e d-cloprostenol na contra-estação reprodutiva

Follicular and luteal ovarian dynamics in dairy goats induced and synchronized by light program and d-cloprostenol during the non-breeding season

Marina Monteiro Netto^{1,*}, Caroline Gomes do Espírito Santo¹, Isabel Oliveira Cosentino¹, Mario Felipe Alvarez Balaro¹, Felipe Zandonadi Brandão¹, Jeferson Ferreira da Fonseca²

¹Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense- UFF, Niterói, RJ, Brasil; ²Pesquisador, Embrapa Caprinos e Ovinos, Coronel Pacheco, MG, Brasil.

*E-mail: marinanetto.vet@gmail.com

Nas cabras leiteiras estacionais, o estro pode ser induzido de forma sincronizada com coquetel hormonal ou de forma não sincronizada por meio do fotoperíodo artificial (programa de luz) sem uso de hormônios. Neste caso, a associação com análogos sintéticos das prostaglandinas F2 α pode auxiliar na sincronização de estro de animais previamente estimulados pela luz. Assim, o objetivo deste estudo foi acompanhar a dinâmica ovariana folicular e luteal de cabras leiteiras induzidas e sincronizadas a partir do fotoperíodo artificial e prostaglandinas sintéticas, respectivamente. Foram utilizadas 19 cabras da raça Saanen submetidas a um tratamento de fotoperíodo artificial (16 horas de luz e 8 horas de escuro diariamente durante 60 dias). Setenta dias após o término do tratamento de luz, os animais receberam duas doses de 37,5 μ g d-cloprostenol i.m. intervaladas entre 11,5 dias. Os animais foram acasalados (MN) ou inseminados (IA) após a detecção do estro. As avaliações ultrassonográficas (US) dos ovários foram realizadas a cada 15 dias do final do tratamento de luz até o momento da primeira aplicação de d-cloprostenol. A avaliação da dinâmica folicular ocorreu a cada 24 e 12 horas após a aplicação da primeira e segunda dose de d-cloprostenol, respectivamente, para verificação do momento da ovulação. Após este período, foi feita avaliação US modo B e Doppler dos corpos lúteos no 3^o, 5^o, 7^o, 12^o, 17^o, 20^o e 30^o dia do ciclo estral junto do diagnóstico de gestação. O teste de lilliefors (normalidade) e levne (homocedasticidade) foram inicialmente adotados. Na sequência, os dados de frequência e quantitativos não paramétricos foram avaliados pelo Teste Exato de Fisher e teste de Mann-Whitney ($P < 0,05$). Ao final do tratamento com luz até 60 dias após, 89,5% (17/19) e 10,5% (2/19) das cabras apresentavam folículos grandes e médios, respectivamente. Não houve diferença do número de cabras com CL na primeira e segunda dose de d-cloprostenol (42,1%; 8/19 e 52,6%; 10/19). Igualmente, não houve diferença de animais ovulando após a primeira e segunda aplicação de d-cloprostenol (63,2%; 12/19 e 68,4%; 13/19). O tempo de aplicação de d-cloprostenol até a ovulação não diferiu entre a primeira e segunda dose de d-cloprostenol ($97,0 \pm 79,6$ e $71,7 \pm 9,0$ h). Todavia, os dados relativos da primeira aplicação até ovulação foram mais dispersos (heterocedásticos) quando comparado aos dados obtidos após a segunda aplicação. Dos 11 animais que não ficaram gestantes 54,5% (6/11) não apresentaram comportamento de estro. Dos animais que apresentaram comportamento de estro e não ficaram gestantes, 40% (2/5) tiveram regressão prematura do corpo lúteo, 20% (1/5) ovularam com luteólise fisiológica, 20% (1/5) com folículo persistente anovulatório, 20% (1/5) tiveram ciclo estral longo ou perda embrionária precoce. A taxa de gestação da MN foi de 80% (4/5) e 50% (4/8) para IA. Os resultados deste estudo sugerem a possibilidade de associação do programa de luz e d-cloprostenol para a indução e sincronização do estro em cabras leiteiras na contra-estação, reduzindo o uso de progestágenos e gonadotropinas. Todavia, maiores estudos são necessários de modo a melhorar os índices de resposta ovulatória ao protocolo e fertilidade obtidos.

Suporte financeiro: Fapemig (CVZ-PPM 00201-17) e CNPq (314952/2018-7).

Palavras-chave: anestro, corpo lúteo, fotoperíodo, regressão prematura de corpos lúteos.

Keywords: *anestrus, corpus luteum, photoperiod, premature regression of corpora lutea.*



Ativação partenogenética de oócitos caprinos maturados em meio convencional

Parthenogenetic activation of mature goat oocytes in conventional medium

Janaína de Fátima Saraiva Cardoso¹, Marlene Sipaúba de Oliveira², Letícia Soares de Araújo Teixeira², Kenney de Paiva Porfírio², Clarissa de Castro e Braga³, Leonardo Lopes Furtado³, Ana Lys Bezerra Barradas Mineiro¹, Geovani Carvalho Nepomuceno⁴, Raul Andrei de Assis Dantas⁴, Matheus Soares Alves⁴, Leonardo Tondello Martins⁴, Ney Rômulo de Oliveira Paula^{1*}

¹Professores do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Piauí; ²Pós-graduando do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, Universidade Federal do Piauí; ³Graduandos de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Piauí; ⁴Universidade de Fortaleza-UNIFOR, Fortaleza, CE, Brasil.

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

A ativação partenogenética (AP) de oócitos de mamíferos fornece recurso de estudo que permite investigar separadamente o papel do genoma paterno e materno no controle do início do desenvolvimento embrionário, contribui para o melhor entendimento do mecanismo de fertilização, e permite compreender os princípios gerais do sistema de sinalização da célula. O objetivo deste trabalho foi avaliar a ativação partenogenética de oócitos caprinos maturados em meio convencional. Foram aspirados 65 complexos *cumulus*-oócitos de ovários de cabras púberes de abatedouros locais de Teresina-PI, após classificação morfológica os oócitos foram submetidos à maturação *in vitro* em meio convencional composto de TCM-199, suplementado com 10% de soro de cabra em estro, sais de Earle, L- glutamina e 25 mM de Hepes. Após o período de maturação (24h) os oócitos foram expostos a uma solução de 2% de hialuronidase a 37 C, com a finalidade de remover as células do *cumulus* que restaram por meio de pipetagens, posteriormente foram feitas as avaliações da maturação nuclear através da identificação da extrusão do primeiro corpúsculo polar. Os oócitos maturados foram ativados após 28h de maturação para iniciar as divisões mitóticas, com solução Hepes e ionomicina (5µM) durante 5 minutos, logo em seguida lavados e colocados em meio G1 (Vitrolife, Vastra Frolunda, Gutenburgo, Suécia) adicionado de 5µg/mL de BSA, 2 µM de 6-Dimethylaminopurina (6-DMAP) e 10µg cicloheximida, incubados 38,5° C, 5% CO₂ por 4h. Passando esse período de incubação, os oócitos foram para meio de cultivo para iniciar o desenvolvimento embrionário. No cultivo *in vitro*, as estruturas resultantes da PA, foram lavadas três vezes e cultivadas em gotas de G1 (meio de cultivo embrionário da Vitrolife, Vastra Frolunda, Gutenburgo, Suécia) adicionado de 5µg/mL de BSA sob 3,5mL de óleo mineral a temperatura de 38,5° C, atmosfera umidificada com 5% de O₂, 5% de CO₂ e 90% de N₂ durante dois dias. A eficiência de desenvolvimento foi avaliada com a porcentagem de clivagem de embriões de dois dias após PA. Dos 45 (69,2%) oócitos maturados que foram ativados, todos apresentaram clivagens de 4-8 blastômeros, obtendo um total aproveitamento da técnica de ativação partenogenética, demonstrando a possibilidade de ativação química de oócitos de cabra maturados *in vitro*, levando à clivagem e o posterior desenvolvimento embrionário. A partenogênese pode ser um procedimento alternativo viável para produzir embriões caprinos e, portanto, aperfeiçoar as etapas cruciais de maturação e cultivo *in vitro*, que ainda é muito desafiador nesta espécie.

Palavras-chave: oócitos, ativação partenogenética, caprinos.

Keywords: oocytes, parthenogenetic activation, goat.

Uso do GnRH na indução do estro sincronizado para a IATF em caprinos leiteiros

Use of GnRH in synchronized estrus induction for FTAI in dairy goats

Isabel Oliveira Cosentino^{1,*}, Mário Felipe Alvarez Balaro¹, Felipe Seabra Cardoso Leal², Ana Luiza Cunha Bade¹, Lucas de Figueiredo Cardoso Barbosa¹, Fernanda Martins Gonçalves¹, Paula Renata Cortat de Souza¹, Paulo Victor dos Santos Pereira¹, Polyanne Martins da Silva³, Felipe Zandonadi Brandão¹

¹Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense (UFF), Niterói, RJ, Brasil; ²Capril Vale das Almathéias, Sapucaia, RJ, Brasil; ³Faculdade de Medicina Veterinária do Centro Universitário Serra dos Órgãos (UNIFESO), Teresópolis, RJ, Brasil.

*E-mail: isabelcosentino@id.uff.br

Protocolos de sincronização de estro em caprinos são bastante utilizados, contudo o momento da inseminação artificial ainda é comumente baseado na identificação do comportamento sexual da fêmea, não havendo ainda um protocolo para inseminação artificial em tempo fixo (IATF) para caprinos leiteiros de raças europeias manejados sob condições tropicais. Objetivou-se com este estudo avaliar o momento da aplicação de GnRH para a sincronização da ovulação em cabras da raça Saanen na contra estação. Um total de 57 fêmeas caprinas foram utilizadas, estas foram sincronizadas com um protocolo curto de 6 dias de esponja (Progespon, Schering Plough, SP, Brasil), no dia anterior à retirada foram aplicadas 200 UI de gonadotrofina coriônica equina (eCG, Folligon, MSD, São Paulo, Brasil), e 0,24 mg de cloprostenol sódico (Estron, Agner União, São Paulo, Brasil). Após a retirada da esponja, as fêmeas foram divididas em três grupos (n=19), de acordo com o momento da aplicação de 0,025 mg de acetato de gonadorelina (GnRH – Gestran Plus, Tecnopec, São Paulo, Brasil). O primeiro grupo recebeu 1mL de salina 28 h após a retirada da esponja (G_{con}), o segundo, GnRH 28 h após a retirada da esponja (G_{28h}), e o terceiro, GnRH 36 h após a retirada da esponja (G_{36h}). A apresentação de estro foi acompanhada a cada 12 h do momento da retirada da esponja até 96 h após. Todas as fêmeas foram inseminadas com sêmen congelado comercial às 50, 52 e 55 h após a retirada da esponja para G_{28h}, G_{36h} e G_{con}, respectivamente. Foi acompanhada a dinâmica folicular com avaliações ultrassonográficas a cada 8h a partir da retirada da esponja até o momento da ovulação. As variáveis foram submetidas ao teste de Kruskal-Wallis e comparação de médias pelo teste de Dunn (p<0,05). O teste de Bartlett foi adotado para testar a homogeneidade das variâncias entre os grupos experimentais. Não houve diferença entre os grupos para taxa de animais em estro (G_{28h}: 57,9% - 11/19; G_{34h}: 84,2% - 16/19; G_{con}: 78,9% - 15/19); duração do estro (G_{28h}: 32,5 ± 17,1; G_{34h}: 26,8 ± 12,2; G_{con}: 36,6 ± 19,6); retirada da esponja ao início do estro (G_{28h}: 26,4 ± 9,2; G_{34h}: 29,4 ± 9,6; G_{con}: 28,7 ± 11,3); retirada da esponja até a ovulação (G_{28h}: 52,7 ± 4,2; G_{34h}: 53,8 ± 5,5; G_{con}: 59,6 ± 13,6); início do estro à ovulação (G_{28h}: 24,5 ± 10,4; G_{34h}: 23,6 ± 10,2; G_{con}: 35,3 ± 22,2); intervalo entre ovulação e IATF (G_{28h}: 2,1 ± 4,3; G_{34h}: 1,7 ± 5,4; G_{con}: 4,4 ± 13,4); maior folículo ovulatório (mm - G_{28h}: 7,1 ± 0,9; G_{34h}: 7,9 ± 1,4; G_{con}: 7,9 ± 1,3); número de ovulações (G_{28h}: 2,0 ± 0,4; G_{34h}: 1,8 ± 0,7; G_{con}: 2,3 ± 0,5); taxa de ovulação (G_{28h}: 100% - 12/12; G_{34h}: 91,7% - 11/12; G_{con}: 81,8% - 9/11). Entretanto, para a retirada da esponja à ovulação e o intervalo entre ovulação e IATF, os grupos tratados com GnRH apresentaram maior homocedasticidade quando comparado ao grupo controle, e, portanto, maior capacidade de concentrar as ovulações. Assim, para a realização da IATF em caprinos, recomenda-se o uso de GnRH após 28 ou 34 h da retirada da esponja por sincronizar melhor o momento das ovulações.

Palavras-chave: IATF, caprinos, dinâmica folicular.

Keywords: FTAI, caprine, follicular dynamics .



Effect of superovulation protocol on quality and embryonic stage in Moxotó and Canindé goats

Efeito do protocolo de superovulação sobre a qualidade e estágio de desenvolvimento embrionário em cabras Moxotó e Canindé

Jasmine Bantim de Souza Pinheiro^{1,*}, Ribrio Ivan Tavares Pereira Batista², Gabriel Brun Vergani³, Monalisa Sousa Dias Lima⁴, Dárcio Ítalo Alves Teixeira⁵, Kleibe de Moraes Silva⁶, Alexandre Weick Uchoa Monteiro⁷, Maria Emília Franco Oliveira⁸, Joanna Maria Gonçalves Souza-Fabjan⁹, Jeferson Ferreira da Fonseca¹⁰

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

*E-mail: jasminebantim@id.uff.br

For the success of an embryo transfer program, it is necessary to achieve a great synchronization between the embryo donor and recipients. For this, hormonal protocols are commonly used, aiming at a greater number and quality of the viable products, in a shorter period of time. The aim of this study was to assess the effect of the hormonal protocol of estrus synchronization and superovulation in goats on the quality and stage of embryos obtained. In September of 2018, 15 Canindé (CA) and 15 Moxotó (MO) goats received intravaginal sponges containing 60 mg medroxyprogesterone acetate (Progespon[®], Syntex S.A., Buenos Aires, Argentina) for six days and 37.5 µg d-cloprostenol (Prolise[®], Tecnopec, São Paulo, Brazil) in the first day. Superovulation was initiated 60 h before device removal with six decreasing doses of 133 mg p-FSH (Folltropin V[®], Vetoquinol, Brazil) i.m. every 12 h. Females were monitored and naturally mated with fertile bucks. Goats also received three doses (12/12 h) of 25 µg of flunixin meglumine (Banamine[®], Merck, Summit, USA) 60 h after device removal and 37.5 µg d-cloprostenol (Prolise[®]) 12 h before embryo collection. Embryo collection was performed seven days after the first natural mating by transcervical technique (Fonseca et al. 2013. *Small Rumin Res*, 111:96-99) and embryos were classified according to their morphology in different stages and quality [Grade I (GI), Grade II (GII) and Grade III (GIII)] according to IETS criteria. Ten of the 30 goats did not show estrus and were not collected, so a total of 112 viable structures was collected from 20 goats (8 CA = 34; and 12 MO = 78). For CA goats 53% of compact morulae (29% GI and 24% GII), 9% of GI initial blastocyst, 26% of GI blastocyst and 12% of GI expanded blastocyst were obtained. For MO goats, 6% of GI morulae, 41% of compact morulae (28% GI and 13% GII), 10% of GI initial blastocyst, 37% of blastocyst (32% GI and 5% GII), 3% of GI expanded blastocyst and 3% of eight to sixteen cell embryos were obtained. No hatched blastocyst was recorded in any breed. In conclusion, the hormonal protocol used for superovulation of goats was effective enough to guarantee embryos in adequate stages and quality for fresh embryo transfer and cryopreservation, avoiding both undesired very young and hatched embryos.

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

Keywords: goat superovulation, *in vivo* embryo production, embryonic development stage.

Palavras-chave: superovulação, produção *in vivo* de embriões, estágios de desenvolvimento embrionário, caprinos.

Cenário histórico da transferência de embriões de caprinos no Brasil: relatos técnicos científicos

Historical scenario of the goat embryo transfer in Brazil: scientific technical reports

**Brenda Barbosa Martins^{1,*}, Joanna Maria Gonçalves Souza-Fabjan², Yara Pereira Diógenes³,
Thais de Almeida Oliveira⁴, João Henrique Moreira Viana⁵, Jeferson Ferreira da Fonseca⁶**

¹Graduanda de Medicina Veterinária, Universidade Presidente Antônio Carlos, Juiz de Fora, MG, Brasil;

²Professora adjunta, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ, Brasil; ³Médica Veterinária, Universidade Estadual do Ceará; ⁴Médica Veterinária, Universidade Presidente Antônio Carlos, Juiz de Fora, MG, Brasil; ⁵Pesquisador da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia; ⁶Pesquisador, Embrapa Caprinos e ovinos, Coronel Pacheco, MG, Brasil.

*E-mail: brendabio.martins@gmail.com

A caprinocultura é uma atividade relevante na pecuária brasileira, de grande importância em todo mundo e o uso de biotecnologias da reprodução pode contribuir para aumentar a eficiência produtiva e reprodutiva dos rebanhos. As técnicas de superovulação (SOV) e transferência de embriões (TE) são utilizadas na multiplicação de material genético superior nessa espécie, porém, a carência de informações estatísticas limita a estimativa do impacto potencial das mesmas. Diante disso, o objetivo do presente estudo foi realizar um levantamento de trabalhos científicos relacionados à produção de embriões de caprinos produzidos no Brasil entre os anos de 1985 e 2018 e identificar tendências no desenvolvimento dessa biotecnologia no país. Foram realizadas pesquisas bibliográficas em registros históricos de produções científicas, artigos completos, anais de congresso e resumos, onde o experimento tenha sido realizado dentro do território nacional. Foi quantificado o número de animais experimentais envolvidos, os tratamentos utilizados, a técnica de recuperação embrionária adotada, o número de estruturas coletadas, e de embriões viáveis e transferidos. Os dados são apresentados de forma descritiva. No total foram encontradas 39 publicações referentes a estudos realizados nas regiões Nordeste (19), Sudeste (19), Sul (1), Centro-Oeste e Norte (não especificadas). Destas, 29 foram utilizadas para obtenção de indicadores técnicos, sendo 19 relacionadas à superovulação, 10 à transferência de embriões. No período analisado, registrou-se a produção total de 3.787 estruturas, 2.870 embriões viáveis e 759 embriões transferidos para fins de pesquisa, ou seja, 26,54% em relação ao número de embriões viáveis. As médias de estruturas totais e viáveis recuperadas por doadora coletada foram, respectivamente, $7,5 \pm 6,6$ (1 a 34) e $5,8 \pm 5,9$ (1 a 24). Quanto às técnicas de coleta de embriões, notaram-se laparotomia (n=6), semi-laparoscopia (n=1), laparoscopia (n=4), semi-transcervical (n=1) e transcervical não cirúrgica (n=16). O ano com o maior registro de produção de embriões para fins de pesquisa foi 2002 com 608 estruturas coletadas. (Gusmão et al. 2003. *Rev Bras Reprod Anim*, 27:115-120). De acordo com os dados obtidos, 717 transferências foram realizadas pelo método cirúrgico e 42 pelo método transcervical não-cirúrgico. As raças com que tiveram maior número de embriões transferidos foram: Boer (232), Anglo-Nubiana (136), Branca Alemã (6), mestiças (43), Moxotó (59), Saanen (114), Sem raça definida - SRD (90) e Toggenburg (101). Nas publicações com registro de taxas de gestação total, observou-se uma variação de 37 a 55 % após transferência de embriões cirúrgica e de 39% a 50% após a transferência de embriões não-cirúrgica. Observa-se que, no período avaliado, havia grupos de pesquisa trabalhando ativamente no desenvolvimento da produção e transferência de embriões em caprinos no Brasil preferencialmente com raças leiteiras e com coletas de embriões pela via transcervical. Espera-se com este tipo de levantamento contribuir com o diagnóstico da atividade Brasil.

Apoio financeiro: FAPEMIG (CVZ-PPM 00201-17) e EMBRAPA (01.13.06.001.02.00).

Palavras-chave: embrião, cabras, MOET, superovulação.

Keywords: *embryo, goats, MOET, superovulation.*



Effect of thyroxine hormone on survival, activation and growth during the in vitro culture of caprine preantral follicles for seven days

Efeito do hormônio tiroxina na sobrevivência, ativação e crescimento de folículos pré-antrais caprinos cultivados in vitro por sete dias

Emílio César Martins Pereira^{1*}, Sanelly Lourenço da Costa², Juliana Jales de Hollanda Celestino³, Isabel Bezerra Lima-Verde⁴, Eduardo Paulino da Costa⁵, José Ricardo de Figueiredo⁶

¹Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Mato Grosso (UFMT), Cuiabá, MT, Brasil; ²Curso de Biotecnologia, Universidade Federal da Integração Latino Americana (UNILA), Foz do Iguaçu, PR, Brasil;

³Instituto de Ciências da Saúde, Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, Redenção, CE, Brasil; ⁴Swedish University of Agricultural Sciences (SLU), Uppsala, Suécia; ⁵Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa, MG, Brasil; ⁶Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, CE, Brasil.

*E-mail:emilioufmt@gmail.com

The aim of this study was to investigate the effects of thyroxine (T₄) on survival, activation and growth of preantral follicles of goats, after the in vitro culture. Fragments of the ovarian cortex were cultured in α -MEM+ (cultured control) and α -MEM+ supplemented with 10, 20 or 50 ng/mL of T₄ for one or seven days. Small fragments of non-cultured or cultured ovarian tissue were processed for classic histology and transmission electron microscopy. The results showed that after one day of culture, only the medium containing 10 ng/mL of T₄ maintained the follicular survival rate. However, with seven days of culture all the media tested were similar to the non-cultured control. The percentage of the developing follicles was greater in the α -MEM⁺ media and in the medium containing 20 ng/mL of T₄ after seven days of culture. Additionally, the culture for one and seven days in a medium containing 20 ng/mL of thyroxine did not change the follicular diameter (P > 0.05). The ultrastructural analysis confirmed the integrity of follicles cultured for seven days in a medium with 20 ng/mL of T₄ based on nuclear configuration, cytoplasmic distribution of mitochondria and organization of granulosa cells. It can be concluded that the addition of 20 ng/mL of T₄ in the culture medium is effective in maintaining the survival, activation and growth of preantral follicles, during seven days of culture.

Keywords: Preantral follicle, culture media, thyroxine, ultrastructure.

Palavras-chave: Folículo pré-antral, meio de cultivo, tiroxina, ultraestrutura.

Acompanhamento de parâmetros clínicos durante a gestação de cabras

Monitoring of clinical parameters during goat pregnancy

Paula Iañez de Lima Rocha^{1,*}, Priscila Del Aguila da Silva², Fabiana Cirino de Santos³, Yasmin Ribeiro Koba¹, Manoela Garcia Borgi Lino de Sousa¹, Ricardo Andres Ramirez Usategui⁴, Wilter Ricardo Russiano Vicente²

¹Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, SP, Brasil; ²Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, SP, Brasil; ³Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”; ⁴Universidade Federal dos Vales de Jequitinhonha e Mucuri – UFVJM, Unai, MG, Brasil.

*E-mail: ianezpaula@gmail.com

A gestação pode ser definida como o intervalo de tempo existente entre a fecundação e o parto, sendo que, em cabras, esse período é de 144 a 156 dias. Esta espécie apresenta crescente destaque no Brasil, logo, a melhoria na sua eficiência reprodutiva, com a finalidade de obter incremento na produtividade se faz necessária. O monitoramento de parâmetros fisiológicos durante o período gestacional fornece importantes informações para acompanhamento do correto desenvolvimento da gestação. Objetivou-se com esse trabalho padronizar os parâmetros clínicos de cabras durante a gestação e, assim, permitir uma interpretação sobre as modificações corporais maternas a fim de que se possa conhecer o fisiológico e reconhecer alterações, que ajudem a implementar planos de cuidados para reduzir a morbimortalidade durante a gestação e fase neonatal. Foram utilizadas 20 cabras multíparas da raça Saanen, do setor de caprinocultura da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, localizada no município de Jaboticabal, SP – Brasil. As fêmeas foram submetidas a um protocolo curto de sincronização de estro e o diagnóstico gestacional realizado aos 21 dias após a monta natural. Os animais foram avaliados quinzenalmente após o diagnóstico de prenhez em horários padronizados: 6 a.m. e 6 p.m. Os parâmetros avaliados foram frequência cardíaca, frequência respiratória, movimentos ruminais, escore corporal, coloração de mucosa ocular e temperatura retal. A análise estatística foi realizada com o software R®, utilizando-se comprovação matemática de distribuição (teste de Shapiro), homocedasticidade das variâncias (teste de Barlett) e teste de Spearman ou Pearson, sendo 5% o nível de significância definido para todos os testes realizados. Dos parâmetros avaliados, os que se correlacionaram com a idade gestacional foram frequência cardíaca ($p=0,0001$; $R^2=0,74$), movimentos ruminais ($p=0,0034$; $R^2=0,25$) e escore de condição corporal ($p=0,001$; $R^2=0,49$) com $p<0,05$. A frequência cardíaca apresentou um aumento gradativo, o que é esperado pelo aumento do débito cardíaco, a fim de ejetar sangue suficiente para levar oxigênio e nutrientes para a placenta e, conseqüentemente, para o concepto. Os movimentos ruminais diminuíram gradativamente, uma vez que o trato gastrointestinal sofre alterações devido à expansão do útero durante a gestação e ao efeito inibitório da progesterona no músculo liso. O escore de condição corporal aumentou gradualmente, condizendo com a formação de um depósito de gordura, com a finalidade de estocar energia para o parto e lactação.

Palavras-chave: cabra, parâmetros fisiológicos, gestação.

Keywords: goat, physiological parameters, gestation.

Maturação *in vitro* de oócitos caprinos submetidos a criopreservação lenta

In vitro maturation of goat oocytes submitted to slow cryopreservation

**Ana Lys Bezerra Barradas Mineiro¹, Marlene Sipaúba de Oliveira²,
Leticia Soares de Araújo Teixeira², Kenney de Paiva Porfírio², Clarissa de Castro e Braga⁴,
Leonardo Lopes Furtado⁴, Francisco Felipe Ferreira Soares³, Misael das Virgens Santana³,
Pedro Henrique Fonseca da Silva², Cristiane Clemente de Mello Salgueiro⁵,
Janaína de Fátima Saraiva Cardoso¹, Ney Rômulo de Oliveira Paula^{1,*}**

¹Professores do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Piauí; ²Pós-graduandos do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, Universidade Federal do Piauí; ³Residentes do Programa de Residência Multiprofissional na Área de Reprodução Animal, Universidade Federal do Piauí; ⁴Graduandos de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Piauí; ⁵Professora do Mestrado Profissional em Biotecnologia em Saúde Humana e Animal da Universidade Estadual do Ceará.

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

O Brasil aparece com o 22º rebanho mundial de caprinos com cerca de 8.851.879 animais, onde na região Nordeste concentra cerca de 91,7% deste total. O baixo desempenho produtivo da maior parte dos caprinos criados na região, bem como a exigência do mercado consumidor em obter animais mais precoces vem ao longo dos anos impulsionando a importação de animais. Assim, apesar dos constantes estudos na produção *in vitro* de embriões (PIV), poucos são voltados a criopreservação lenta de oócitos. Dessa forma, objetivou-se de avaliar a taxa de maturação *in vitro* de oócitos caprinos submetidos ao processo de criopreservação lenta. Foram utilizados 90 ovários de 45 cabras púberes oriundas de abatedouros. Após o abate, os ovários foram transportados ao laboratório em garrafa térmica contendo solução salina fisiológica a 35°C. Em seguida os oócitos foram aspirados utilizando bomba a vácuo acoplada a agulha 21g a uma pressão de 50 mmHg. A diante foi realizada a recuperação, avaliação e classificação utilizando estereomicroscópio. Logo em seguida os oócitos foram envasados em grupos de 5 em palhetas de 0,25mL, com solução crioprotetora contendo 10% de glicerol nas três colunas. Posteriormente as palhetas foram submetidas ao processo de criopreservação lenta em máquina programável (TK 3000®; curva de congelamento: -0,5°C por minuto até atingir a temperatura de -35°C, em seguida após cinco minutos de estabilização as palhetas foram colocadas diretamente em nitrogênio líquido), posteriormente, as palhetas foram armazenadas em botijão criogênico. Após sete dias de criopreservados os oócitos foram descongelados e avaliadas. Logo após o total de oócitos selecionados foram imersos em meio de maturação *in vitro* convencional composto de TCM-199, suplementado com 10% de soro de cabra em estro, tratados pelo calor, sais de Earle, L- glutamina e 25mM de HEPES. Os oócitos foram dispostos em placa de poliestireno em gotas de 100µL e cobertas por óleo mineral e incubados em uma atmosfera umidificada com 38, 5°C, 5% CO₂ por 24h. Ao final do processo, os oócitos foram classificados como maturados quando presente o 1º corpúsculo polar (CP). Obteve-se como resultados, uma taxa de recuperação de 5 *complexos cumulus oophorus* (CCO's) por par de ovários, bem como, uma taxa de degeneração oocitária de 37% (83 oócitos), ao passo que das 142 (100%) células submetidas a MIV, 17,6% (25 oócitos) apresentaram maturação *in vitro*, enquanto 82,4% (117oócitos) não alcançaram a maturação com inúmeras lesões em suas membranas celulares. Todavia, notoriamente existiram crioinjúrias oocitárias causadas pelo método de criopreservação estudado, interferindo na competência dos mesmos. Portanto, após a MIV dos oócitos caprinos submetidos a criopreservação lenta houve uma baixa eficácia celular, sendo necessário maiores estudos correlacionados ao tema proposto, tendo em vista o potencial tecnológico da técnica de criopreservação ainda é pouco explorada.

Palavras-chave: criotecnologia, cabras, oócito.

Keywords: cryotechnology, goats, oocyte.

Dinamização da ovinocaprinocultura através de programa de inseminação artificial em matrizes de ovinos e caprinos

Boost of sheep and goat farming through of artificial insemination program on matrices of sheeps and goats

**Wayllba Assunção Barcelos^{1,*}, Ricardo de Macêdo Chaves², Diego Santos Almeida³,
Luciana Cordeiro Rosa³**

¹Graduanda de Medicina Veterinária, Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, MA, Brasil; ²Professor do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, MA, Brasil; ³Departamento do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, MA, Brasil.

*E-mail: wayllba95@gmail.com

No Brasil, do rebanho caprino, mais de 90% é encontrado no Nordeste. A inseminação artificial é uma poderosa ferramenta populacional, responsável pela elevação da produtividade, através da seleção de reprodutores geneticamente superiores, que usados como doadores de sêmen aceleram o ganho genético na população caprina e ovina. Para tanto, os produtores locados no município de Bequimão, inicialmente responderam um questionário avaliativo primário antes da apresentação da palestra e realização do curso afim de avaliar os conhecimentos deles a cerca da inseminação artificial na produção de caprinos e ovinos, assim como seu nível de aceitabilidade do projeto. Em seguida, foram realizadas palestras dando enfoque na definição da inseminação artificial, utilização dos medicamentos para protocolos de sincronização de estro, valor por animal e fatores que possam interferir na taxa de parição após a inseminação, aliadas diretamente com as atividades desenvolvidas pelos produtores rurais. Para a realização do curso foi estimulado trabalho com grupo por afinidade e parentesco, de acordo com a realidade das comunidades, considerando a “cultura” local e o uso das Metodologias participativas muito bem vistas no que se refere a socialização do conhecimento. Após a realização do curso, foram distribuídos novos questionários com o intuito de avaliar a assimilação dos conhecimentos compartilhados com os criadores. Para o questionário avaliativo primário, na pergunta de como eles vêem o uso da inseminação artificial nos dias de hoje, 100% responderam que acham muito interessante. Quando perguntado se na realidade deles o uso desta técnica se tornaria viável economicamente? 78% (7/9) respondeu sim, 0% (0/9) responderam que não e 22% (2/9) disseram que não sabem. Quando perguntado se na propriedade eles fazem manejo sanitário adequado no animais, 78% (7/9) responderam positivamente, e 22% (2/9) afirmaram que não. Sobre os critérios que eles mesmos estabeleceram para a aquisição de novos animais na produção, puderam afirmar com unanimidade o critérios dos índices zootécnicos e genética. As fêmeas que entraram no protocolo de sincronização do estro, foram identificadas e avaliadas quanto ao escore corporal, e somaram 14 animais. Ambas, passaram por um protocolo curto desenvolvivo pela Tecnopec®. No dia da inseminação, foi analisado o sêmen do macho. Os criadores tiveram a oportunidade de observar através do microscópio um semên de boa qualidade para que esteja apto a ser usado na inseminação. Para a avaliação final, quando perguntado se foi possível diante do proposto manter informações dessa técnica, 100% (9/9) responderam sim. Ao ser perguntado se eles se sentiam seguros em implantar essa técnica após fazer o curso 56% (5/9) disseram que sim, e 44% (4/9) disseram que não. Ao se buscar saber sobre se o conhecimento transmitido, pode agregar no plantel, 100% (9/9) responderam positivamente. Concluímos que a iniciatidade de promover a inseminação artificial na cadeia produtiva da ovinocaprinocultura e transpassar esses conhecimentos ao público proposto foi de grande valia. Além disso, foi possível dar ênfase na implantação do manejo reprodutivo correto nos animais intependendo do sistema de criação, e nas outras área como sanidade, nutrição e bem-estar, pois, de qualquer forma fazem-se ligados, e que quando bem padronizados, ajudam a alcançar significativos resultados, neste caso, em taxa de parição.

Palavras-chave: cadeia produtiva, caprino, ovino, Inseminação artificial.

Keywords: *production chain, sheep, goat, artificial insemination.*

B-mode ultrasonography evaluation of superovulatory response in Brazilian native goats
Avaliação ultrassonográfica modo-B da resposta superovulatória em cabras nativas brasileiras

**Gabriel Brun Vergani^{*1}, Monalisa Sousa Dias Lima², Dárcio Ítalo Alves Teixeira³,
Kleibe de Moraes Silva⁴, Alexandre Weick Uchoa Monteiro⁵, Alexandre Floriani Ramos⁶,
Ribrio Ivan Tavares Pereira Batista⁷, Jeferson Ferreira da Fonseca⁴,
Maria Emilia Franco Oliveira⁸**

¹Mestrando em Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal-SP, Brasil; ²Mestranda em Medicina Veterinária, Universidade do Estado do Ceará, Fortaleza-CE, Brasil; ³Professor, Universidade do Estado do Ceará, Fortaleza-CE, Brasil; ⁴Pesquisador, Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral-CE, Brasil; ⁵Analista, Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral-CE, Brasil; ⁶Pesquisador, Embrapa Recursos Genéticos e Bioecnologia, Brasília-DF, Brasil; ⁷Professor, Universidade Federal do Vale do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina-MG, Brasil; ⁸Professora, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal-SP, Brasil.

*E-mail: gbrunvergani@gmail.com

The use of B-mode and color Doppler ultrasonography may replace the use of surgical methods (laparoscopy or laparotomy) in the evaluation of the superovulatory response in sheep, with an accuracy around 74% and 82%, respectively (Oliveira et al. 2018. *Reprod Dom Anim*, 53:742–750). The ultrasound determination of ovarian response in embryo donor goats still needs to be proven, especially because the non-invasive technique is mandatory when the embryo collection is done by transcervical route. The aim of this study was to correlate the quantification of corpora lutea (CLs) determined by B-mode ultrasound evaluation with the number of recovered structures obtained by transcervical embryo collection of superovulated goats. Canindé (n=15) and Moxotó (n=15) goats received an intravaginal acetate medroxyprogesterone sponge (60 mg of MAP, Progespon®, Syntex, Buenos Aires, Argentina), which was maintained for 6 days. At the time of MAP sponge insert was administrated i.m. d-cloprostenol (37.5 µg, Prolise®, Agener Union, Brazil). The superovulatory treatment started 60 hours before the MAP sponge removal, with six decreasing doses (25, 25, 15, 15, 10 and 10%) of p-FSH (133mg, Folltropin V®, Vetoquinol, Brazil) injected i.m. every 12 hours. Females in estrus were mated by fertile male goats. One day before the transcervical collection was performed the B-mode transrectal ultrasound exam using an equipment (Z5®, Mindray, China) with a stiffened multifrequency linear probe. The uterine flushing was performed by transcervical technique eight days after the MAP sponge removal. The number of corpora lutea and the number of recovered structures were determined and them correlated by Pearson correlation test (P<0.05). Only ten Canindé goats were submitted to transcervical embryo collection, of which four did not manifested estrous and in another one, the uterine flushing was not possible due to vaginal stenosis. Only two Moxotó goats did not manifested estrous after the protocol. It were observed by B-mode ultrasound 104 and 167 CLs and in average 10.4 (range: 1 to 16) and 13.9 (range 7 to 27) CLs per each female, for Canindé and Moxotó goats, respectively. The recovery rates (i.e. CLs count by the number of structures recovered) were 35.5% (37/104) and 53% (88/167), respectively. Only in one goat the number of recovered structures was higher than the number of CLs count, resulting in a recovery rate of 108%, 13/12). As the superovulatory response is highly variable (Oliveira et al., 2018), the recovery rate can vary from 35 to 91% (Fonseca et al. 2016. *Therio*, 86: 144-151). Despite this, there was a significant positive correlation (r=0.57, r²=0.33, P < 0.01) between the number of recovered structures and the number of CLs. In view of the above, it is possible to indicate that the B-mode ultrasound evaluation of superovulatory response of goats is feasible and indispensable when the embryos collection is made by non-surgical technique.

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

Keywords: goats, superovulation, transcervical embryo collection, image diagnostic.

Palavras-chave: caprinos, superovulação, colheita de embriões transcervical, diagnóstico por imagem.