



**Anais do
XVII Congresso Brasileiro de Reprodução Animal
Curitiba, PR – 31 de maio a 2 de junho de 2007**

ISBN 978-85-85584-04-7

**Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA)
Belo Horizonte, MG, Brasil
2007**



Organização

Coordenação geral

- Rômulo Cerqueira Leite – Presidente do CBRA e do XVII Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, Médico Veterinário, Professor da Escola de Veterinária da UFMG.
- Antônio de Pádua Freire – 1º Vice-Presidente do CBRA, Médico Veterinário.
- Rodrigo Costa Mattos – 2º Vice-Presidente do CBRA, Médico Veterinário
- Nélcio Rickli – 3º Vice-Presidente do CBRA, Médico Veterinário
- Jairo Pereira Neves – 4º Vice-Presidente do CBRA, Médico Veterinário
- Marc Henry – 1º. Secretário do CBRA, Médico Veterinário, Professor da Escola de Veterinária da UFMG.
- Soni Dimas Bicudo – 2º. Secretário do CBRA, Médico Veterinário, Professor da FMVZ/UNESP, Botucatu
- Carlos Augusto Pelegrino - 1º Tesoureiro do CBRA, Médico Veterinário,
- Geraldo César Juliani Santos – 2º Tesoureiro do CBRA, Professor da FEAD, Médico Veterinário

Comitê local

- Maria Isabel Mello Martins – Presidente Local do XVII Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, Médica Veterinária, Professora da Universidade Estadual de Londrina.
- Francisco Cordeiro Júnior – Vice-Presidente local do XVII Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, Médico Veterinário, CENTRAL PAE – PR.
- Inácio Afonso Kroetz – Coordenador local do XVII Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, Médico Veterinário, IAPAR, PR.
- Romildo Romualdo Weiss – Coordenador local do XVII Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, Médico Veterinário, UFPR, Curitiba, PR

Comitê Assessor do Programa

- Anneliese de Souza Traldi - USP, Pirassununga, SP
- Antônio João Scandolera - UFPR, Curitiba, PR
- Aurino Alves Simplício - UFRSA, Mossoró – RN

- Flávio Vieira Meirelles - USP, Pirassununga, SP
- Geraldo Camilo Alberton - UFPR, Curitiba PR
- Hugo Pereira Godinho - PUC, Belo Horizonte, MG
- Ícaro Waldimir Fiecher - SINDIAVIPAR, Curitiba, PR
- Inácio Afonso Kroetz - IAPAR - PR
- José Ricardo Figueiredo - UECE, Fortaleza, CE
- Lúcia Helena Rodriguez - Lagoa da Serra, Sertãozinho, SP
- Maria Isabel Mello Martins - Londrina, PR
- Matheus J. R. Paranhos da Costa - Unesp. Jaboticabal, SP
- Nei Moreira - UFP, Palotina, PR
- Otávio Mitio Ohashi - UFPA, Belém, PA
- Roberto Sartori Filho - Cenargem, Embrapa, Brasília, DF
- Rubens Paes de Arruda - USP, Pirassununga, SP
- Vitor S. Picao Gonçalves - UB, Brasília, DF

Comitê consultor para resumos

- Aurino Alves Simplício (Embrapa Caprinos)
- Berenice Rodrigues (UFRGS)
- Cristiano Barros de Melo (UnB)
- Denise A. Andrade de Oliveira (UFMG)
- Geovanni Dantas Cassali (UFMG)
- João Carlos Deschamps (UFPEl)
- José Carlos Ferrugem de Moraes (Embrapa, CPPSul)
- José Ricardo Figueiredo (UECE)
- Lúcia Machado Daniel da Silva (UECE)
- Marc Henry (UFMG; Coordenador)
- Marcos Chalhoub Coelho Lima (UFBA)
- Maria Madalena Pessoa Guerra (UFRPE)
- Pietro Sampaio Baruselli (USP)
- Roberto Sartori Filho (Embrapa, Cenargem)
- Soni Dimas Bicudo (UNESP)
- Venício José Andrade (UFMG)

Equipe administrativa do CBRA

- Eunice de Faria Lopes
- Marcelo Yukio Kuabara
- Maria Helena Chaves da Silva
- Marta Lúcia de Oliveira Paiva
- Simone Martins Monteiro

Os textos dos resumos foram reproduzidos conforme os originais recebidos, sendo de total responsabilidade dos autores todo e qualquer resultado apresentado.

Colégio Brasileiro de Reprodução Animal

Alameda das Princesas, 1275 - Belo Horizonte, MG - CEP 31275-180, Brasil
Tel:+55(31)3491-7122 - Fax:+55(31)3491-7025 - Site: www.cbra.org.br – E-mail: cbra@cbra.org.br

Congresso Brasileiro de Reprodução Animal (17. : 2007 : Curitiba, PR)
Anais / XVII Congresso Brasileiro de Reprodução Animal. – Belo Horizonte, MG : CBRA : 2007.

ISBN: 978-85-85584-04-7

Disponível em: www.cbra.org.br/publicacoes.do/

1. Reprodução animal – Congresso. I. Colégio Brasileiro de Reprodução Animal.

CDD – 636.089 261



Sumário

Editorial

Programa programático-científico

Palestras

Os textos recebidos estão publicados nos seguintes números da *Revista Brasileira de Reprodução Animal* (www.cbra.org.br/publicacoes/rbra.do):
v.31, n.1, 2007
v.31,n.2, 2007
v.31, n.3, 2007

Resumos científicos e Comunicações técnicas

Fisiologia da fêmea	9
Fisiologia do macho	37
Patologia da reprodução	75
Doenças da reprodução	95
Produção	103
Genética	115
Biotecnologia e Reprodução assistida	117
Metodologias e técnicas aplicadas à reprodução animal	196
Índice de Autoresautores	245
Índice de espécies	252

Lista de participantes	254
--	-----

Editorial

O XVII Congresso Brasileiro de Reprodução Animal marcou uma importante etapa na vida da instituição. Foi eleita a primeira Diretoria Executiva constituída por sócios não residentes em Minas Gerais. O *Colégio Brasileiro de Reprodução Animal- CBRA* alcançou a maturidade e abriu seu espaço para outras classes profissionais que militam na área, abandonando o corporativismo para premiar a competência. Reformamos o Estatuto preparando-o para o moderno e o atual. Reconhecemos publicamente o mérito dos idealizadores da nossa instituição. Pela primeira vez o congresso contou com a efetiva participação de indústrias ligadas ao setor agropéculário e que muito contribuíram para o sucesso do XVII Congresso, realizado em Curitiba. Comemoramos 33 anos de existência com muito trabalho e dedicação aos profissionais da área e atenção ao avanço da ciência em Reprodução Animal.

Agradecemos a participação da comunidade científica na elaboração do programa final. Os temas enfocados contemplaram sugestões recebidas pela Diretoria, particularmente aquelas oriundas do Comitê Organizador local. Os coordenadores das sessões sugeriram os palestrantes para os respectivos temas, procurando, na medida do possível, contemplar as mais diferentes regiões do país, bem como convidados estrangeiros.

As contribuições científicas e técnicas submetidas para publicação e apresentação na Sessão de Posters tiveram um expressivo aumento em relação ao congresso anterior. É oportuno agradecer aos revisores que dedicaram tempo considerável na avaliação dos resumos. Os pareceres emitidos foram enviados ao autor de contato com o intuito de proporcionar ao grupo a oportunidade de reflexão sobre cada ponderação feita. A seleção final dos trabalhos coube a uma Comissão designada pela Coordenação geral do Congresso, que incorporou, na decisão final, o equilíbrio entre o rigor da análise dos revisores e a necessidade de proporcionar a divulgação ampla de pesquisas em andamento ou relatos de experiências de campo.

Por último, o CBRA reconhece a contribuição incalculável recebida do Comitê Organizador Local, Profa. Maria Isabel de Mello Martins, Dr. Inácio Afonso Kroetz, Prof. Romildo Romualdo Weiss e Dr. Francisco Cordeiro Júnior, bem como a calorosa acolhida da cidade de Curitiba.

Diretoria Executiva do CBRA
Belo Horizonte, 19 de julho de 2007



Programa Técnico-científico

31 de maio de 2007, quinta-feira

08:00 às 08:30	Abertura oficial dos trabalhos (sala 1)
----------------	--

Plenária 1 (sala 1) – Análise de risco e biossegurança na importação de sêmen, embriões e animais vivos Coordenador: <i>Vitor Salvador Picão Gonçalves (UNB, Brasília, DF)</i>	
08:30-09:15	Princípios e métodos de análise de risco - Vitor S. Picão Gonçalves (UnB, Brasília, DF)
09:15-10:00	Procedimento para exportação e importação de material genético pelo Brasil - Luiz Felipe Ramos Carvalho (CTQA/DAS/MAPA, Brasília, DF)
10:30-11:15	Risk analysis in animal health decision making - Kenneth W. Forsythe Jr. (Centro de Epidemiologia e Saúde Animal / APHIS / USDA, Colorado)
11:15-12:00	Discussão

12:00-14:00	Assembléia do CBRA
-------------	---------------------------

Simpósio 1 (sala 1) – Comportamento e manejo reprodutivo de bovinos Coordenador: <i>Mateus José R. Paranhos da Costa (UNESP, Jaboticabal, SP)</i>	
14:00-14:20	Aspectos básicos do comportamento social de bovinos - Mateus José R. Paranhos da Costa (UNESP, Jaboticabal, SP)
14:20-15:30	Comportamento e eficiência reprodutiva – Eliane Vianna da Costa e Silva (UFMS, Campo Grande, MS)
15:30-16:15	Comportamento materno-filial e manejo mãe-cria – Mateus José R. Paranhos da Costa (UNESP, Jaboticabal, SP)
16:15-16:30	Discussão

Simpósio 2A (sala 4) - Aves domésticas Coordenador: <i>Ícaro Waldamir Fiechter (SINDIAVIPAR, Curitiba, PR)</i>	
14:00-14:30	Avanços na fisiologia e desempenho reprodutivo de aves domésticas – Fernando Rutz (UFPEL, Pelotas, RS)
14:30-15:00	Atualidades no manejo reprodutivo e sanitário de reprodutoras pesadas: desafios e oportunidades – Anselmo Micheletti (DaGranja Agroindustrial Ltda, Lapa, PR)
15:00-15:30	Manejo reprodutivo de Perus – Irton José Boni (AGROGEN, Montenegro, RS)
15:30-16:00	Manejo sanitário de Perus – Alberto Back (MERCOLAB, Cascavel, PR)
16:00-16:30	Discussão

Simpósio 2B (sala 3) - Animais silvestres Coordenador: <i>Nei Moreira (UFPR, Palotina, PR)</i>	
14:00-14:45	Reprodução e estresse em felídeos silvestres - Nei Moreira (UFPR, Palotina, PR)
14:45-15:30	Reprodução de primatas não humanos – Marcelo Alcindo de Barros Vaz Guimarães (USP, São Paulo, SP)
15:30-16:15	Reprodução e criação de psitacídeos - Mariângela Allgayer (ULBRA)
16:15-16:30	Discussão

Simpósio 3 (sala 5) – Reprodução de suínos Coordenadores: <i>Geraldo C. Alberton (UFPR, Curitiba, PR); Antônio João Scandolera (UFPR, Curitiba, PR)</i>	
14:00-14:45	Saúde uterina e suas inter-relações com a eficiência reprodutiva da matriz suína – Paulo Roberto Souza da Silveira (Embrapa, CNPSA, Concórdia, SC)
14:45-15:30	Avanços tecnológicos e aplicabilidade da técnica de congelamento de sêmen suíno – Robson Antunes (UFU, Uberlândia, MG)
15:30-16:15	Avanços na nutrição de cachaaos e efeitos sobre parâmetros de qualidade do sêmen de suínos – Rômulo M. B. Valença (FEJAL, CESMAC, Maceió, AL)
16:15-16:30	Discussão



Simpósio 4 (sala 2) - Biotecnologias de reprodução de peixes: aplicações e limitações	
Coordenador: <i>Hugo Pereira Godinho (UFMG, Belo Horizonte, MG)</i>	
14:00-14:45	Estratégias e táticas reprodutivas de peixes: bases para o desenvolvimento de tecnologias aplicadas – Hugo Pereira Godinho (UFMG, Belo Horizonte, MG)
14:45-15:30	Tecnologias de produção e armazenamento de sêmen de peixes – Paulo César Falanghe Carneiro (EMBRAPA, Aracaju, SE)
15:30-16:15	Tecnologias de indução da reprodução de peixes migradores – Evoy Zaniboni Filho (UFSC, SC)
16:15-16:30	Discussão

17:00 – 17:45	Sessão de posters 1
---------------	----------------------------

Curso 1 (sala 1) – Bovino (manejo e fisiologia reprodutiva)	
Coordenador: <i>Roberto Sartori Filho (Cenargen/Embrapa, Brasília, DF)</i>	
18:00-18:45	Manejo reprodutivo da fêmea leiteira – Roberto Sartori Filho (Cenargen/Embrapa, Brasília, DF)
18:45-19:30	Manejo reprodutivo da vaca de corte – José C. Ferrugem de Moraes (Embrapa Pecuária Sul, Bagé, RS)
19:30-20:15	Seleção de <i>Bos indicus</i> para precocidade sexual - José Bento Sterman Ferraz (USP, Pirassununga, SP)
20:15-21:00	Discussão

Curso 2 (sala 3) – Atualização em reprodução eqüina	
Coordenador: <i>Rubens Paes de Arruda (USP, Pirassununga, SP)</i>	
18:00-18:45	Procedimentos para a utilização do sêmen eqüino resfriado e criopreservado – Rubens Paes de Arruda (FMVZ, USP, Pirassununga, SP)
18:45-19:30	Transferência de embriões eqüinos: atualização e recentes avanços – Perla Dagher Cassoli Fleury (Central Fleury de Reprodução Eqüina, São José de Rio Pardo, SP)
19:30-20:15	Aspectos relacionados ao transporte espermático e resposta inflamatória uterina em éguas – Rodrigo Costa Mattos (UFRGS, Porto Alegre, RS)
20:15-21:00	Discussão

Curso 3 (sala 4) – Reprodução de Suínos	
Coordenadores: <i>Geraldo C. Alberton (UFPR, Curitiba, PR); Antônio João Scandolera (UFPR, Curitiba, PR)</i>	
18:00-18:45	Fatores que interferem na taxa de parição em rebanhos suínos – Paulo Roberto Souza da Silveira (Embrapa, CNPSA, Concórdia, SC)
18:45-19:30	Programando a reposição de reprodutores (machos e fêmeas) e o impacto sobre a eficiência reprodutiva da granja – Robson Antunes (UFU, Uberlândia, MG)
19:30-20:15	Desmame precoce de leitões: viabilidade para o leitão e implicações sobre a vida reprodutiva da matriz – André Ricardo Ebert (Alltech, Curitiba, PR)
20:15-21:00	Discussão

Curso 4 (sala 2) – Reprodução de cães e gatos	
Coordenadora: <i>Maria Isabel Mello Martins (UEL, Londrina, PR)</i>	
18:00-18:45	Particularidades fisiológicas de la reproducción en felinos [Aspectos fisiológicos da reprodução de felinos] – Maria Alejandra Stornelli (Fac. Ciências Veterinárias, La Plata, Argentina)
18:45-19:30	Particularidades fisiológicas de la reproducción en felinos [Aspectos fisiológicos da reprodução de felinos] – Maria Alejandra Stornelli (Fac. Ciências Veterinárias, La Plata Argentina)
19:30-19:50	Inseminação intrauterine e intravaginal em gatas com sêmen criopreservado – Ana Izabel Villaverde (FMVZ, UNESP, SP)
19:55 – 20:15	Terapias para indução de estro em gatas – Ticiano Franco da Silva (UECE, Fortaleza, CE)
0:15-21:00	Discussão

Curso 5 (sala 5) – Reprodução e Manejo Reprodutivo em Ovinos	
Coordenador: <i>Aurino Alves Simplício (Embrapa Caprinos, UFERSA, Mossoró, RN)</i>	
18:00-18:45	Melhoramento genético em ovinos de corte – Raimundo N. Braga Lôbo (Embrapa Caprinos, CE)
18:45-19:30	Manejo reprodutivo – Aurino Alves Simplício (Embrapa Caprinos, UFERSA, Mossoró, RN)
19:30-20:15	Organização e gestão da unidade produtiva - José C. Ferrugem Moraes (Embrapa Pecuária Sul, RS)
20:15-21:00	Discussão

20:30 às 22:30	Abertura (sala 1)
----------------	--------------------------



1 de junho de 2007, sexta-feira

Plenária 2 (sala 1) – Biotecnologia da Reprodução	
Coordenador: Flávio Vieira Meirelles (USP, São Paulo, SP)	
08:30-09:15	Transferência de núcleo, potenciais aplicações no controle genético nuclear e citoplasmático – Flávio Vieira Meirelles (USP, São Paulo, SP)
09:15-10:00	Alterações genéticas e epigenéticas em embriões produzidos <i>in vitro</i> – Lawrence Charles Smith (Universidade de Montreal, Canadá)
10:30-11:15	Problemas gestacionais decorrentes das manipulações embrionárias <i>in vitro</i> – Marcelo Bertolini (UDESC, Santa Catarina, RS)
11:15 – 12:00	Avanços na utilização de prostaglandinas em reprodução bovina – Carlos Antônio de Carvalho Fernandes (BIOTRAN, Alfenas, MG)
12:00 - 12:15	Discussão

12:00-14:00	Assembléia do CBRA
-------------	---------------------------

Simpósio 5 (sala 3) - Reprodução de eqüinos	
Coordenador: Rubens Paes de Arruda (USP, Pirassununga, SP)	
14:00-14:45	Biotécnicas aplicadas a avaliação do potencial de fertilidade do sêmen eqüino – Rubens Paes de Arruda (USP, Pirassununga, SP)
14:45-15:30	Infertilidade na égua: novos conceitos – Rodrigo Costa Matos (UFRGS, Porto Alegre, RS)
15:30-16:15	Uso da gonadotrofina coriônica humana (hCG) visando melhorar as características reprodutivas e fertilidade de receptoras de embriões eqüinos – Perla Dagher Cassoli Fleury (Central Fleury de Reprodução Eqüina, São José de Rio Pardo, SP)
16:15-16:30	Discussão

Simpósio 6 (sala 1) – Fisiologia reprodutiva da fêmea bovina	
Coordenador: Roberto Sartori Filho (Cenargen/Embrapa, Brasília, DF)	
14:00-14:45	Controle endócrino e local da foliculogênese em bovinos – José Buratini Júnior (UNESP, Botucatu, SP)
14:45-15:30	Influência da ingestão alimentar na fisiologia reprodutiva da fêmea bovina – Roberto Sartori Filho (Embrapa/Cenargen, BSB, DF)
15:30-16:15	Fisiologia reprodutiva de fêmeas taurinas e zebuínas – Pietro S. Baruselli (USP, São Paulo, SP)
16:15-16:30	Discussão

Simpósio 7 (sala 2) - Perspectivas da biotecnologia da reprodução aplicada aos bubalinos	
Coordenador: Otávio Mitio Ohashi (UFPA, Belém, PA)	
14:00-14:45	O estado atual da biotecnologia da reprodução em bubalino: perspectivas de sua aplicação a nível comercial – Pietro Sampaio Baruselli (USP, São Paulo, SP)
14:45-15:30	Bubalinocultura no Brasil: situação e importância econômica – Otávio Bernardes (Associação Brasileira de Criadores de Búfalos, São Paulo, SP)
15:30-16:15	Desenvolvimento reprodutivo do macho bubalino: circunferência escrotal, atividade espermática e endocrinologia – Otávio Mitio Ohashi (UFPA, Belém, PA)
16:15-16:30	Discussão

Simpósio 8 (sala 4)– A ovinocultura como atividade produtiva: presente e futuro	
Coordenador: Aurino Alves Simplício (Embrapa Caprinos, UFERSA, Mossoró, RN)	
14:00-14:45	Organização e gestão de um programa de controle da reprodução ovina com foco no mercado – José Carlos Ferrugem Moraes (Embrapa, Bagé, RS)
14:45-15:30	Biotécnicas da reprodução como técnicas de manejo reprodutivo em ovinos – Aurino Alves Simplício (Embrapa Caprinos, UFERSA, Mossoró, RN)
15:30-16:15	O melhoramento genético como ferramenta para o crescimento e o desenvolvimento da ovinocultura de corte – Raimundo Nonato Braga Lôbo (Embrapa Caprinos, CE)
16:15-16:30	Discussão



Palestra Tecnopec (sala 1)	
16:30-17:30	Novidades Tecnopec 2007 – Lançamento do Primer® e Novo Protocolo IATF® com Folltropin® – Renato Valentim (Tecnopec)
17:00 – 17:45	Sessão de posters 2

Curso 1 (sala 1) – Bovino (manejo e fisiologia reprodutiva)	
Coordenador: <i>Roberto Sartori Filho (Cenargen/Embrapa, Brasília, DF)</i>	
18:00-18:45	Manejo de Bovinos – Roberto Sartori Filho (Cenargen/Embrapa, Brasília, DF)
18:45-19:30	Manejo reprodutivo da vaca de corte – José C. Ferrugem de Moraes (Embrapa, Bagé, RS)
19:30-20:15	Seleção de <i>B. indicus</i> para precocidade sexual - José Bento S. Ferraz (USP, Pirassununga, SP)
20:15 – 21:00	Discussão

Curso 2 (sala 3) – Atualização em reprodução eqüina	
Coordenador: <i>Rubens Paes de Arruda (USP, Pirassununga, SP)</i>	
18:00-18:45	<i>Procedimentos para a utilização do sêmen eqüino resfriado e criopreservado</i> – Rubens Paes de Arruda (FMVZ, USP, Pirassununga, SP)
18:45-19:30	<i>Transferência de embriões eqüinos: atualização e recentes avanços</i> – Perla Dagher Cassoli Fleury (Central Fleury de Reprodução Eqüina, São José de Rio Pardo, SP)
19:30-20:15	<i>Aspectos relacionados ao transporte espermático e resposta inflamatória uterina em éguas</i> – Rodrigo Costa Mattos (UFRGS, Porto Alegre, RS)
20:15-21:00	Discussão

Curso 3 (sala 4) – Reprodução de Suínos	
Coordenadores: <i>Geraldo C. Alberton (UFPR, Curitiba, PR); Antônio João Scandola (UFPR, Curitiba, PR)</i>	
18:00-18:45	Utilização de substâncias antioxidantes na melhoria da viabilidade da célula espermática nos suínos – Rômulo M.B. Valença (FEJAL, CESMAC)
18:45-19:30	Nutrição mineral da matriz e longevidade reprodutiva – André R. Ebert (Alltech, Curitiba, PR)
19:30-20:15	Manejo reprodutivo de fêmeas pós-desmame com foco sobre o intervalo desmame cio – Robson Antunes (UFU, Uberlândia, MG)
20:15 – 21:00	Discussão

Curso 4 (sala 2)– Reprodução de cães e gatos	
Coordenadora: <i>Maria Isabel Mello Martins (UEL, Londrina, PR)</i>	
18:00-18:45	Banco de sêmen canino: aspectos sanitários e éticos. (Canine Semen Bank: Sanitary and ethical aspects) - Xavier Lévy (Paris, França)
18:45-19:30	Perspectivas da aplicação comercial de biotecnologias envolvendo espermatozoides obtidos de epidídimo – Maria Isabel Mello Martins (UEL, Londrina, PR)
19:30-19:50	Proteínas do sêmen do cão são importantes ou não na fertilização – Fabiana Ferreira de Souza (FertCani, Botucatu, SP)
19:55-20:15	Atualidades sobre a criopreservação do sêmen de cães – Alexandre Rodrigues Silva (UFERSA, Mossoró, RN)
20:15-21:00	Discussão

Curso 6 (sala 5) – Reprodução assistida em Caprinos	
Coordenadora: <i>Anneliese de Souza Traldi (USP, Pirassununga, SP)</i>	
18:00-18:45	Métodos de controle da atividade reprodutiva em caprinos - Anneliese de Souza Traldi (USP, Pirassununga, SP)
18:45-19:30	Aspectos práticos na inseminação artificial e transferência de embriões comercial na espécie caprina – Gustavo Ferrer Carneiro (Jaboatão dos Guararapes, PE)
19:30-20:15	Produção de embriões <i>in vitro</i> em detalhes – Hernan Baldassarre (Pharmathene Canada Inc., Montreal, Canadá)
20:15 – 21:00	Discussão



2 de junho de 2007, sábado

Plenária 3 (sala 1) – A inseminação hoje: perspectivas futuras (sêmen sexado)	
Coordenadora: <i>Lúcia Helena Rodriguez (Lagoa da Serra, Sertãozinho, SP)</i>	
08:30 – 09:15	Sêmen sexado: mitos e realidades – Rick Lenz (<i>University of Wisconsin, Navasota, Texas</i>)
09:15 – 10:00	Sêmen sexado: produção e perspectivas futuras – Juan Fernando Moreno (<i>Inguran Lp dba Sexing Technologies, Navasota, Texas, USA</i>)
10:30 – 10:45	Sêmen sexado: inseminação artificial, TE e PIV – Pietro S. Baruselli (<i>USP, São Paulo, SP</i>)
10:45 – 12:00	Mesa redonda

Simpósio 9 (sala 2) - Reprodução de cães e gatos	
Coordenadora <i>Maria Isabel Mello Martins (UEL, Londrina, PR)</i>	
14:00-14:45	Determining the optimal time of mating in bitches: particularities!! [Determinação do período ótimo de coberturas: particularidades!!] - Xavier Lévy (<i>Paris, França</i>)
14:45-15:30	Determining the optimal time of mating in bitches: particularities!! [Determinação do período ótimo de coberturas: particularidades!!] - Xavier Lévy (<i>Paris, França</i>)
15:30-16:15	Evaluación de semen en el gato doméstico: análisis de rutina y metodologías especiales. [Avaliações básicas e avançadas de sêmen de gatos] – Maria Alejandra Stornelli (<i>Facultade de Ciências Veterinárias, La Plata, Argentina</i>)
16:15-16:30	Discussão

Simpósio 10 (sala 1) - Biotecnologia de embriões em ruminantes	
Coordenador: <i>José Ricardo Figueiredo (UECE, Fortaleza, CE)</i>	
14:00-14:45	Produção <i>in vitro</i> de embriões bovinos – Paulo Bayard Dias Gonçalves (<i>UFMS, Santa Maria, RS</i>)
14:45-15:30	Sistemas alternativos de incubação e meios de cultivo para produção <i>in vitro</i> de embrião bovino – Otávio Mitio Ohashi (<i>UFPA, Belém, PA</i>)
15:30-16:15	Importância da biotécnica de MOIFOPA para o estudo da regulação da foliculogênese e produção <i>in vitro</i> de embriões em larga escala - José Ricardo Figueiredo (<i>UECE, Fortaleza, CE</i>)
16:15-16:30	Discussão

Simpósio 11 (sala 4) – Reprodução, sanidade e mercado da carne bovina	
Coordenadores: <i>Inácio Afonso Kroetz (IAPAR, Curitiba, PR); Romildo Romualdo Weiss (UFPR, Curitiba, PR)</i>	
14:00-14:45	<i>Doenças na reprodução e seus impactos na produção e no mercado</i> – Rômulo Cerqueira Leite (<i>EV/UFMG, Belo Horizonte, MG</i>)
14:45-15:30	Formalização da cadeia produtiva: a visão da indústria exportadora e sua necessidade de suprimento de matéria prima – Eduardo Krisztan Pedroso (<i>Independência Alimentos Ltda, Cajamar, SP</i>)
15:30-16:15	Produzindo bovinos visando mercados. Viabilidade da produção com aplicabilidade no mercado – Márcio Saporski Segui (<i>PUC, Curitiba, PR</i>)
16:15-16:30	Discussão

Simpósio 12 (sala 3) - Reprodução assistida em caprinos	
Coordenadora: <i>Anneliese de Souza Traldi (USP, Pirassununga, SP)</i>	
14:00-14:45	Técnicas para otimizar a eficiência reprodutiva de caprinos - Anneliese de Souza Traldi (<i>USP, Pirassununga, SP</i>)
14:45-15:30	Biotecnologia da reprodução na espécie caprina - perspectivas atuais - Gustavo Ferrer Carneiro (<i>Jaboatão dos Guararapes, PE</i>)
15:30-16:15	Reprodução assistida em geral, da Inseminação artificial à clonagem - Hernan Baldassarre (<i>Montreal, Canadá</i>)
16:15-16:30	Discussão
17:00	Encerramento (sala 1)



Resposta ovariana de novilhas mestiças superovuladas com dose única de FSHp injetada por via subcutânea e posterior reforço intramuscular¹

Ovarian response of crossbreed heifers superovulated with FSHp injected by subcutaneous route followed by intramuscular booster

R.H. Alvarez², R.M.L. Pires², A.C. Martinez², G.P. Nogueira³

²Centro de P&D Genética e Reprodução Animal, Instituto de Zootecnia-APTA, Nova Odessa-SP, 13460-000, Brasil

³Laboratório de Fisiologia, Faculdade de Odontologia (Curso de Medicina Veterinária) da Unesp, Araçatuba, SP, Brasil
E-mail: herrera@iz.sp.gov.br

Introdução

A aplicação de FSH em dose única, injetada por via subcutânea (sc), resulta em uma resposta superovulatória menos previsível que a obtida com injeções múltiplas decrescentes por via intramuscular (im). No protocolo im, as concentrações plasmáticas de FSH permanecem relativamente elevadas durante todo o tratamento, enquanto que na injeção única sc as concentrações de FSH retornam aos níveis basais 2 dias após a aplicação. A falta de estímulo hormonal após esse período pode comprometer a continuidade do crescimento de boa parte dos folículos que iniciaram o crescimento. Conseqüentemente, uma injeção adicional de FSH pode evitar a atresia desses folículos, estimulando seu crescimento até atingir o estágio pré-ovulatório. O presente estudo teve como objetivo avaliar a resposta ovariana de novilhas superovuladas com FSH aplicado em dose única por via sc e posterior reforço im após 48 horas.

Material e Métodos

Foram utilizadas 15 novilhas mestiças de aproximadamente 30 meses de idade e condição corporal uniforme. A sincronização do crescimento folicular foi realizada com Progestágeno (CIDR-B, InterAg, New Zealand) e injeção de 2,5 mg Benzoato de estradiol (Estrogin, Farmavet). No dia 4, os animais foram distribuídos em 3 grupos e receberam: 1) injeção sc de 400 UI de FSHp (Pluset, Lab. Calier, Espanha) aplicada atrás da paleta; 2) injeção sc de 320 UI de Pluset aplicada como o anterior, e 3) 400 UI administradas im em doses decrescentes, duas vezes ao dia, durante 4 dias. Na manhã do dia 7 foi aplicada uma injeção im de 150 mcg cloprostenol (Veteglan, Lab. Calier, Espanha) e os animais do Grupo 2 receberam, adicionalmente, uma injeção im de 80 UI de Pluset. O CIDR-B foi retirado na tarde. Os animais foram inseminados sistematicamente 48 e 62 horas após a injeção do Veteglan. A evolução das concentrações de FSHp e o crescimento folicular, no período, foram monitorada por técnicas de radioimunoensaio e ultra-sonografia, respectivamente. Sete dias após a inseminação foi realizada a coleta de embriões (por via cervical) e contado o número de corpos lúteos (observados diretamente nos ovários após abate dos animais). A evolução das concentrações plasmáticas de FSHp foram analisadas utilizando o método de parcelas subdivididas (split-plot) e a resposta ovariana (número de corpos lúteos, número total de embriões e número de embriões viáveis) submetida à análise da variância (Proc GLM do SAS).

Resultados e Discussão

Os Grupos 1 e 2 tiveram aumento significativo dos níveis de FSHp, voltando aos níveis basais 48 horas após a injeção sc de Pluset. A injeção adicional de Pluset no Grupo 2 provocou um aumento transitório nas níveis de FSHp, retornando aos níveis basais após 8 horas. O Grupo 3 manteve elevadas as concentrações de FSHp durante os quatro dias de aplicação. Não houve diferença do padrão de crescimento folicular entre os três Grupos. Não houve diferença no número de CL (8,4±1,7, 10,2±2,8 e 11,0±2,6) e embriões recuperados (5,3±1,8, 6,1±2,1 e 6,3±2,0) para os Grupos 1, 2 e 3, respectivamente ($p>0,05$). Conclui-se que a injeção adicional de FSH não melhora a resposta ovariana de novilhas superovuladas com dose única sc de FSH.

Palavras-chave: Superovulação, bovinos, via de aplicação, FSH.

Keywords: Superovulation, bovine, injection route, FSH.

¹**Apoio financeiro:** Fapesp.



Concentração plasmática de progesterona e cortisol durante o final da gestação e início do pós-parto de vacas e novilhas Nelore

Concentration of plasma progesterone and cortisol during late pregnancy and early post-partum in cow and heifers Nelore

R.L. Ereno¹, C.F. Moya¹, M. Piagentini¹, E. Oba²

¹Doutorando na área de Reprodução Animal da FMVZ/Unesp, Botucatu-SP. erenoronaldo@ig.com.br

²Professora na área de Reprodução Animal da FMVZ/Unesp, Botucatu-SP

Introdução

O objetivo do presente trabalho foi quantificar as concentrações plasmáticas de progesterona (P4) e cortisol de vacas pluríparas e novilhas primíparas Nelore no final da gestação (dez dias antes do parto previsto), dez dias pós-parto e vinte dias pós-parto.

Material e Métodos

Foram utilizados 31 animais, sendo quinze novilhas e dezesseis vacas, com idade média de 30 e 60 meses, respectivamente. Colheram-se amostras de sangue por punção da veia caudal, essas foram centrifugadas e o plasma armazenado em tubo plástico estéril de 1,5ml a -18°C, em 3 momentos: M1 terço final da gestação, M2 e M3, dez e vinte dias após o parto, respectivamente. Para a dosagem de P4 e de cortisol foi empregado kit comercial de RIA (Diagnostic Products Corporation, USA). A análise estatística utilizada para comparação entre momentos dentro do mesmo grupo de animais foi realizada por meio de teste T pareado e entre os grupos no mesmo momento o teste T não pareado, ambos com nível de significância 5%.

Resultados e Discussão

Quanto aos níveis plasmáticos de P4, o grupo das vacas pluríparas no M1 apresentou maior concentração em relação ao M2 e M3 ($p < 0,05$). O mesmo sendo observado para o grupo de novilhas. Quando se realizou a comparação entre grupos, as vacas apresentaram maior concentração de P4 em relação às novilhas no M1 ($p < 0,05$), não havendo diferença estatística nos demais momentos, como observado na tabela 01. Houve uma tendência ($0,05 < p < 0,10$) do grupo de novilhas apresentar uma menor concentração plasmática de cortisol no M1 ($1,00 \pm 0,10 \mu\text{g/mL}$) do que as vacas ($1,23 \pm 0,12 \mu\text{g/mL}$). Dentro do grupo de novilhas houve uma tendência dos valores de cortisol serem menores no M1 e no M3 ($p = 0,051$ e $p = 0,065$, respectivamente) em relação ao M2. As quedas nos níveis plasmáticos de P4 no M2 e M3 já eram esperadas em função da lise do CL e perda das membranas fetais. Contudo, a diferença observada no M1 entre vacas e novilhas, possivelmente possa ser explicada em função do menor tamanho do folículo e, conseqüentemente do CL nessas últimas (Bó et al., 2003). Não houve diferença nos níveis plasmáticos de cortisol nos três momentos, pois segundo Smith et al. (1973), este se eleva no momento do parto, devido a estímulos neurais e estresse associados a este evento. A tendência observada de esta concentração ser maior no M2 nas novilhas pode estar relacionada com a amamentação do bezerro.

Tabela 01: Valores médios e erro padrão da média dos níveis plasmáticos de progesterona (ng/mL) de vacas e novilhas Nelore nos três momentos.

GRUPOS	M1	M2	M3
Vacas (n=16)	$4,15 \pm 0,21^{Aa}$	$0,23 \pm 0,11^{Ab}$	$0,43 \pm 0,02^{Ab}$
Novilhas (n=15)	$2,79 \pm 0,15^{Ba}$	$0,49 \pm 0,05^{Ab}$	$0,33 \pm 0,03^{Ab}$

Letras maiúsculas iguais na mesma coluna e letras minúsculas iguais na mesma linha não diferem entre si ($p < 0,05$).

Referências Bibliográficas

- Bó, G.A., Barusselli, P.S., Martinez, M.F. Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. *Animal Reproduction Science*, v.78, p.307-326, 2003.
- Smith, V.G.; Edgerton, L.A.; Hafs, H.D.; Convey, E.M. Bovine serum estrogens, progestins and glucocorticoids during late pregnancy, parturition and early lactation. *Journal Animal Science*, v.36, n.2, p.391-396, 1973.

Palavras-Chaves: Nelore, primíparas, pluríparas, progesterona, cortisol.

Keywords: Nelore, primiparus, pluriparus, progesterone, cortisol.



Eosinófilos e mastócitos nas tubas uterinas de novilhas mestiças ao longo do ciclo estral natural e superovulado

Oeosinophils and mast cells in cross-breed heifers uterine tubes during natural and superovulated oestrous cycles

G.R. Valle¹, A.C.S. Castro², J.C. Nogueira², M.V. Caliari², E.F. Nascimento³

¹PUC Minas Betim - guilhermerv@pucminas.br

²ICB-UFMG

³EV-UFMG

Introdução

Eosinófilos (EOS) e mastócitos (MAST) são encontrados nas tubas uterinas de vacas ^(1, 2, 3), com função pouco conhecida nas vias genitais femininas. A migração de EOS é determinada por 17β -estradiol (E_2) ⁽¹⁾ e os MAST podem ter participação na capacitação espermática ⁽⁴⁾. Diante da escassez de informações, este estudo teve como propósito quantificar EOS e MAST ao longo do ciclo estral e correlacionar sua presença com os níveis circulantes de E_2 e progesterona (P_4) em novilhas mestiças.

Material e Métodos

Vinte e duas novilhas mestiças foram divididas em 5 grupos de acordo com o momento de sacrifício após detecção de cio: Est - 17 horas após primeiros sinais de estro; Met - 4 dias após; Die - 11 dias após; Estsup - 17 horas após cio superovulado; Metsup - 4 dias após o cio superovulado. Ao sacrifício plasma sanguíneo foi obtido e dosagens de E_2 e P_4 realizadas por RIA. Amostras histológicas de infundíbulo, ampola, transição ampola/istmo e istmo foram obtidas utilizando-se a coloração por Cromotrope 2R para contagem de EOS na mucosa; e a coloração por Azul de Toluidina para contagem de MAST na mucosa, muscular e serosa. O número de células/mm² foi calculado pelo analisador de imagens Kontron Electronic/Carl Zeiss. Testes não-paramétricos foram utilizados para comparações entre grupos e entre regiões das tubas uterinas, bem como o Coeficiente de Correlação e Spearman para verificar correlações com níveis circulantes de E_2 e P_4 . Foi considerado o nível de significância de 5%.

Resultados e Discussão

Não foram detectadas diferenças nas concentrações de células entre diferentes fases do ciclo estral, nem entre animais submetidos ou não a superovulação ($P > 0,05$). Quando separados os animais em duas grandes fases do ciclo estral (estrogênica e progesterônica), a concentração de EOS na transição ampola/istmo e istmo foi maior na fase estrogênica ($P < 0,05$), e a concentração no infundíbulo foi a maior dentro da fase progesterônica ($P < 0,05$). Com relação à concentração de MAST, no infundíbulo e ampola ela foi maior na fase progesterônica ($P < 0,05$), mas a maior concentração, de forma geral, foi no istmo ($P < 0,05$). Verificadas correlações entre os níveis circulantes de E_2 e P_4 com as concentrações teciduais de EOS e MAST, apenas correlações positivas entre a concentração de MAST e P_4 foram verificadas no infundíbulo e ampola. Nenhuma correlação entre as concentrações de EOS com as de MAST foi verificada. Portanto, a distribuição de EOS na mucosa da tuba uterina das novilhas não parece estar relacionada aos níveis circulantes de E_2 e P_4 , mas a maior concentração de MAST na fase progesterônica, pelo menos no infundíbulo e ampola, parece ser em decorrência de níveis elevados de P_4 circulante.

Referências Bibliográficas

1. **Gouon-Evans V, Pollard JW, 2001.** Eotaxin is required for eosinophil homing into stroma of the pubertal and cycling uterus. *Endocrinology*, 142:4515-4521.
2. **Matsuda H, Okuda, K, Imori T, 1983.** Tissue concentrations of eosinophils in the bovine oviduct and uterus at different stages of the oestrous cycle. *Res. Vet. Sci.*, 34:369-370.
3. **DuBois JA, Wordinger RJ, Dickey JF, 1980.** Tissue concentration of mast cells and lymphocytes of the bovine uterine tube (oviduct) during the estrous cycle. *Am. J. Vet. Res.*, 41:806-808.
4. **Parrish JJ Susko-Parrish JL Uguz C et al, 1994.** Differences in the role of cyclic adenosine 3',5'-monophosphate during capacitation of bovine sperm by heparin or oviduct fluid. *Biol. Reprod.*, 51:1099-1108.

Palavras-chave: bovino, tuba uterina, eosinófilos, mastócitos, ciclo estral.

Keywords: bovine, uterine tube, eosinophils, mast cells, oestrous cycle.

Apoio: Fapemig (CAG 492/2001).



Pulsatilidade de LH em novilhas pré-púberes da raça Nelore

LH pulsatile in pre-pubertal Nelore heifers

D.J.C. Oliveira, G.P. Nogueira, F.F. Guerra, N.R. Marangoni

APTA – Pólo Regional do Noroeste Paulista, Votuporanga, SP

E-mail: danieljco@aptaregional.sp.gov.br

Introdução

Durante a fase pré-púber, a pulsatilidade de LH é infreqüente, porém com o aproximar da puberdade e a diminuição de receptores de estradiol no hipotálamo, observa-se um decréscimo da retroalimentação negativa dos esteróides gonadais, sobre a secreção de GnRH, aumentando a pulsatilidade de LH. A hipótese estudada foi a de que há variação na pulsatilidade de LH, em função da idade, em novilhas pré-púberes da raça Nelore, inteiras e ovariectomizadas.

Material e Métodos

Para identificar o número de picos de secreção de LH foram utilizadas dez novilhas divididas em 2 grupos, com 5 animais cada: novilhas inteiras e novilhas ovariectomizadas. Após a administração da salina 0,9% amostras de sangue foram coletadas a cada 15 min por 10 h, aos 8, 10, 12, 14, 16 e 17 meses de idade, nas novilhas inteiras e aos 10, 14, 15, 17 e 19 meses nas novilhas ovariectomizadas. As dosagens hormonais de LH foram quantificadas por radioimunoensaio (sensibilidade de 0,06 ng/ml e CV 17,9%), realizadas no laboratório de Endocrinologia Animal, da Unesp de Araçatuba. A idade da primeira ovulação foi determinada em função da concentração plasmática de progesterona (acima de 1 ng/mL). O ganho de peso foi acompanhado quinzenalmente utilizando-se uma balança da marca Toledo (modelo: MGR-3000). Os picos foram identificados como o aumento maior que 2 vezes o coeficiente de variação intra-ensaio. Os dados foram submetidos à análise de variância, com medidas repetidas. As médias foram comparadas pelo teste de Duncan (5%). Para a descrição dos resultados, foram empregados às médias e seus respectivos erros padrões (média \pm erro padrão da média) dos dados originais.

Resultados e Discussão

Não houve diferença ($P \geq 0,05$) no número de picos de secreção de LH, nas novilhas inteiras, em função da idade (2,75 \pm 0,25; 3,00 \pm 1,00; 3,80 \pm 0,20; 3,00 \pm 0,41; 3,60 \pm 0,24 e 2,8 \pm 0,37, respectivamente aos 8, 10, 12, 14, 16 e 17 meses de idade), embora a freqüência pulsátil de LH, nas novilhas ovariectomizadas, aumentou ($P \leq 0,05$) com o decorrer da idade (2,80 \pm 0,66; 2,20 \pm 0,20; 3,00 \pm 0,32; 4,75 \pm 0,75 e 4,00 \pm 0,58, respectivamente aos 10, 14, 15, 17 e 19 meses de idade), apresentando maior número de picos aos 17 meses ($P \leq 0,05$), quando comparado aos 14 meses de idade. Quando o ganho de peso vivo foi comparado entre as novilhas inteiras e ovariectomizadas não houve diferença ($P \geq 0,05$) ao longo do tempo. Com o decorrer da idade, fica nítido, que as gônadas exercem um efeito inibitório na secreção de LH. Segundo Rodrigues et al. (2002) o efeito inibitório do E₂ é mais evidente na freqüência dos picos de LH. Novilhas ovariectomizadas (*Bos taurus*) apresentaram um aumento significativo, na freqüência de picos de LH, após a ovariectomia, que foi inibido pelo tratamento com E₂, até o início da primeira ovulação (Day et al., 1984). Segundo Rodrigues et al. (2002) o efeito inibitório do E₂ é mais evidente na freqüência dos picos. O aumento na freqüência de picos é a variação que prediz a proximidade da primeira ovulação, entretanto o número de picos não aumentou nas novilhas inteiras, em função da idade. Os dados do presente experimento mostraram que, em novilhas ovariectomizadas da raça Nelore, a ausência de esteróides gonadais exerceu efeito na freqüência dos picos de secreção de LH.

Referências Bibliográficas

- Day, M. L.; Kittock, R. J.; Kinder, J. E.** Endocrine mechanisms of puberty in heifers: oestradiol negative feedback regulation of luteinizing hormone secretion. *Biology of Reproduction*, v. 31, p. 332-341, 1984.
- Rodrigues, H. D.; Kinder, J. E.; Fitzpatrick, L. A.** Estradiol regulation of luteinizing hormone in heifers of two breed types that reach puberty at different ages. *Biology of Reproduction*, v. 66, p. 603-609, 2002.

Palavras-chave: Puberdade, LH, Pulsatilidade, Nelore.

Keywords: Puberty, LH, Pulsatile, Nelore.

Agradecimentos: FAPESP (99/10446-7) e CAPES, pela bolsa de doutorado.



Concentrações séricas de cortisol e progesterona em vacas submetidas a estresse agudo na fase peri-ovulatória

Serum concentrations of cortisol and progesterone in cows submitted to acute stress during the periovulatory phase

R.R.D. Maziero¹, A.C. Martins^{1,2}, M.R. Mollo^{2,3}, M.R. Bastos^{1,2}, J.C.P. Ferreira¹, R. Rumpf², R. Sartori²

¹FMVZ-UNESP, Botucatu-SP; ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília-DF; ³FAV-UnB, Brasília-DF
E-mail: rosiaramaziero@fmvz.unesp.br, sartori@cenargen.embrapa.br

Introdução

Estudos em que ACTH foi administrado em novilhas 30 horas após a luteólise demonstraram atraso no início do estro e no pico pré-ovulatório de LH, além de uma diminuição na duração do estro em relação às fêmeas injetadas com diluente. A liberação de cortisol e progesterona pela adrenal, interfere na liberação de LH e conseqüentemente de estradiol. Aparentemente, nenhum trabalho avaliou o efeito de estresse induzido por manejo de animais sobre esses parâmetros reprodutivos. Dentre os diversos fatores que causam estresse em vacas e em outros ruminantes, o transporte tem se destacado como um dos mais problemáticos. Este trabalho teve como objetivo avaliar as concentrações séricas de cortisol e progesterona em vacas submetidas a estresse agudo através de transporte por 60 minutos, e o comportamento estral e de ovulação destas vacas durante o período peri-ovulatório.

Material e Métodos

Utilizou-se doze vacas mestiças divididas em dois grupos: Controle e Estresse, seguindo o modelo *cross-over*. Estes animais tiveram o estro sincronizado da seguinte forma: D0 aplicação de 50 µg i.m. de GnRH (Gestran Plus, ARSA S.L.R., Argentina) e colocação de um implante intravaginal de progesterona (DIB, Syntex S.A., Argentina) que foi mantido por 7 dias. No D6 e D7 foram administrados 0,50 mg e 0,25 mg i.m. de Cloprostenol (Sincrosin, Vallée S.A., São Paulo, Brasil), respectivamente. Após 30 horas da retirada do DIB, os animais do grupo Estresse foram transportados em caminhão durante 60 minutos e os animais do grupo Controle permaneceram no pasto. Exame ultrassonográfico ovariano foi realizado a cada 12 h do momento da retirada do DIB até a ovulação de cada vaca. A observação de estro foi feita 24 h ao dia iniciando no D8 até a ovulação. As coletas de sangue para dosagens de cortisol e progesterona séricos foram realizadas nos tempos -90, -60, 0, 30, 60 e 180 minutos em relação ao final do estresse. As dosagens de cortisol e progesterona foram realizadas utilizando-se kits comerciais (Coat-a-Count, DPC-Medlab) para se determinar o grau e duração do estresse induzido pelo transporte nos animais. A comparação entre os grupos foi realizada através do teste t pareado ou por análise de variância para medidas repetidas. Os resultados estão apresentados sob a forma de média ± erro padrão.

Resultados e Discussão

Apesar de não ter havido comprometimento na expressão do estro ou no intervalo entre retirada do DIB e ovulação ($P > 0,05$) nos animais transportados em caminhão no período peri-ovulatório, as dosagens séricas de progesterona e cortisol comprovaram a indução de estresse com a utilização deste procedimento. As concentrações séricas de progesterona no grupo Controle permaneceram entre 0,30 e 0,40 ng/mL durante o período em que as amostras sanguíneas foram coletadas, enquanto que as do grupo Estresse elevaram-se de $0,38 \pm 0,09$ para $0,70 \pm 0,13$ ng/mL imediatamente após o transporte ($P < 0,05$). Esses níveis circulantes de progesterona retornaram aos valores similares aos do Controle somente aos 180 minutos após o transporte. Da mesma forma, a dosagem de cortisol apresentou níveis elevados após o transporte ($56,6 \pm 6,6$ ng/mL), retornando aos valores do grupo Controle ($< 20,0$ ng/mL) também com 180 minutos de repouso. Concluiu-se que o transporte dos animais por um período de 60 minutos foi suficiente para induzir estresse, evidenciado pelo aumento na secreção de cortisol e progesterona. Entretanto, este estresse foi incapaz de alterar a expressão ou duração do estro e o tempo entre a luteólise e a ovulação.

Palavras-chave: Estresse, bovino, cortisol, progesterona, ovulação.

Keywords: Stress, bovine, cortisol, progesterone, ovulation.



Estresse por calor e performance reprodutiva de fêmeas Nelore doadoras de embriões

Heat stress and the reproductive efficiency in female Nelore female embryo donor

G.G. Macedo¹, K.A. Katayama², P.M. Rueda¹, C.E.S.N. Zúccari⁴, E.V. Costa e Silva⁵

¹M.Vet, Programa de Mestrado em Ciência Animal / FAMEZ, UFMS, Campo Grande, MS, ²UNIGRAN. ⁴Dep. Zootecnia, FAMEZ, UFMS; ⁵Orientadora, Dep. Medicina Veterinária, FAMEZ, UFMS
E-mail: licsilva@nin.ufms.br; macguga@yahoo.com.br

Introdução

Vacas expostas a estresse térmico por calor têm uma alta incidência de mortalidade embrionária precoce (Putney et al., 1989) e o desenvolvimento embrionário no estágio de clivagem é muito suscetível às elevadas temperaturas, independente da espécie (Krininger et al., 2003). Este trabalho teve por finalidade avaliar o efeito do calor sobre a eficiência reprodutiva de doadoras de embriões Nelore em programa de transferência de embriões (TE).

Material e Métodos

Utilizou-se 32 fêmeas Nelore de uma propriedade rural no município de Terenos / MS. Os animais foram divididos sete lotes (L1, L2, L3...L7) de aplicação do protocolo de superovulação (SOV), Barros et al. (2000), sendo trabalhado um lote de cada vez, em dias diferentes. Foram registrados temperatura e umidade relativa do ar, para o cálculo do índice de temperatura e umidade (ITU). Adotaram-se os parâmetros de conforto térmico definidos para *Bos taurus* por Hahn (1985) citado por Silva (2000): ITU ≤ 70 : **condição normal**, não estressante; ITU 71 - 78: **crítico**; ITU 79 - 83: **perigo**. Seis dias após a segunda IA, os embriões foram colhidos e classificados conforme sugerido pela IETS (1999), estimando-se a taxa de viabilidade - TV (dividindo o total de embriões viáveis (tEV) pelo total de recuperados). Foram consideradas variáveis dependentes: TV e tEV e como variável independente o ITU e Lote (L), na análise de variância e as médias comparadas por teste de Duncan, com nível de significância de 5%.

Resultados e Discussão

A tEV produzido foi de $6,71 \pm 1,00$ e a TV foi de $64,35 \pm 5,21\%$. Foi observado efeito significativo de ITU e Lote. Durante o período experimental, o ITU médio foi $76,12 \pm 0,10$ (71 a 81), índice crítico para o conforto térmico em europeus. O ITU médio variou significativamente em função do período trabalhado para cada lote, tendo sido maior para os L5, 6 e 7 e inferior para o L1. Apesar disto, observou-se que o L5, principalmente, e L2 apresentaram menor TV ($22,00 \pm 22,00\%$ e $54,00 \pm 15,00\%$, respectivamente, $p < 0,05$) e tEV ($0,67 \pm 0,17$ e $3,00 \pm 0,93$, respectivamente, $p < 0,05$). Os animais do L5 foram submetidos a ITU médio alto, durante a SOV, principalmente no D4 ($78,47 \pm 0,48$) - pré-ovulação e primeira IA, D5 ($76,49 \pm 0,19$) - ovulação, muito próximo da zona termal de perigo, continuando elevado até o 3º dia pós-IA (D7). O L2 foi submetido o ITU elevado ($80,1 \pm 0,36$) no terceiro dia pós-IA. O desenvolvimento embrionário nos primeiros dias pós-IA é muito suscetível às elevadas temperaturas (Putney et al., 1989), sendo que até o 2º dia pós-IA, como ainda não ocorreu a expressão gênica embrionária a termotolerância observada na raça não protege o embrião dos efeitos deletérios do calor, independente do patrimônio genético da espécie (Krininger et al., 2003). Estes achados são indicativos que elevação do ITU nos dias seguintes a IA é um fator deletério à viabilidade de embriões Nelore.

Referências Bibliográficas

- Barros, CM, Moreira, MBP, Figueiredo, RA, Teixeira, AB, Trinca, LA.** Synchronization of ovulation in beef cows (*Bos indicus*) using gnrh. PGF2 α and estradiol benzoate. Theriogenology 53, 1121-1134, 2000.
International Embryo Transfer Society - IETS Manual da Sociedade Internacional de Transferência de Embriões, Savoy, Illinois, USA, 180p, 1999.
- Krininger CE, Block J, Al-Katanani YM, Rivera RM, Chase Jr CC, Hansen PJ.** Differences between Brahman and Holstein cows in response to estrus synchronization, superovulation and resistance of embryos to heat shock. Anim Reprod Sci, v.78, p.13-24, 2003.
- Putney DJ, Mullins S, Thatcher WW, Drost M, Gross TS.** Embryonic development in superovulated dairy cattle exposed to elevated ambient temperatures between the onset of estrus and insemination. Anim Reprod Sci, v.19, p.37-51, 1989.
- Silva, R.G.** Introdução à bioclimatologia animal. São Paulo: Nobel, 2000.

Palavras-chave: estresse térmico, índice de temperatura e umidade, reprodução, gado de corte, zebu.

Keywords: heat stress, temperature-humidity index, reproduction, cattle, zebu.

Apoio Financeiro: Fundect/CNPq; ANCP/Sete Estrelas Embriões.



Sincronização de estros e número de montas em vacas zebu

Synchronization and estrous behaviour in Bos indicus cows

B.C. Lopes¹, M.F.A. Pires², J.M. Silva Filho³, J.H.M. Viana³, M.B. Ferreira⁴, A.L. Bizinoto¹

¹Professores da FAZU – Faculdades Associadas de Uberaba - e-mail: beatriz@fazu.br; ²Pesquisadores EMBRAPA;

³Professor da UFMG; ⁴Pesquisador EPAMIG

Introdução

Estudos sobre o comportamento sexual de vacas zebus são de difícil condução, pois requerem observações contínuas dos animais e o registro de informações referente ao proestro, estro e metaestro de um grupo de fêmeas, no entanto são importantes para subsidiar programas de sincronização e detecção de cio quando se utiliza biotecnologias da reprodução.

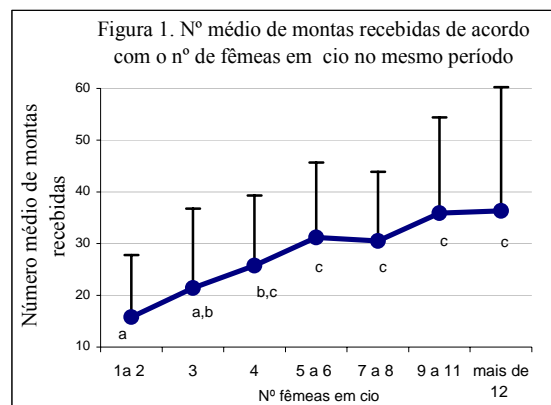
Material e Métodos

Avaliou-se 150 ciclos estrais de vacas Gir e Guzerá sincronizadas pela PgF2 α (68 ciclos) e o ciclo estral subsequente (72 ciclos). Foi realizada a observação contínua do estro das fêmeas registrando-se o número de montas recebidas, sendo o momento da primeira e da última monta, denominados de início e término do estro respectivamente, e a diferença entre os horários determinada como duração do cio. Realizou-se análise de variância e os testes T de Student e o de Tukey, para a comparação de duas ou mais médias.

Tabela 1. Duração média do cio (hs) de vacas *Bos taurus indicus* de acordo com o número de fêmeas em cio no lote

Duração Média do cio (horas)	
7,19 \pm 1,21 ^a	(22)
10,61 \pm 1,15 ^b	(26)
11,89 \pm 1,23 ^{bc}	(18)
12,86 \pm 1,09 ^{bc}	(27)
12,64 \pm 1,15 ^{bc}	(21)
14,99 \pm 1,36 ^c	(16)
13,51 \pm 1,27 ^{bc}	(20)

^{a,b,c}Médias com letras distintas na mesma coluna diferem ($p < 0,05$)



Resultados e Discussão

Quando três fêmeas estiveram em cio simultaneamente, a duração do cio foi maior que para uma ou duas fêmeas em cio (Tab. 1). Quando o grupo foi composto por quatro fêmeas em cio a duração do estro foi semelhante à dos grupos dois, quatro, cinco, seis e sete, com resultados semelhantes aos registrados por Lamothe e Montiel (1995). Quando o grupo foi constituído de quatro ou mais fêmeas em cio, o número de montas recebidas foi maior que quando o lote foi composto por uma ou duas fêmeas (Fig. 1). Não houve incremento ao número de montas recebidas quando o grupo foi constituído por mais de quatro fêmeas em cio. Estes resultados estão de acordo com os citados para *Bos taurus* (Esslemont et al., 1980). Hurnik et al. (1975) registraram 11, 36 e 53 montas para uma, duas e três fêmeas *Bos taurus* em cio respectivamente, valores bem superiores aos deste trabalho. De acordo com os resultados, o grupo sincronizado deve ser composto de no mínimo três fêmeas para a obtenção de estros com durações que favoreçam suas detecções, indicando que para vacas zebus, a sincronização dos cios foi útil para maximizar a expressão do estro.

Referências Bibliográficas

- Esslemont, R.J. et al. A quantitative study of pre ovulatory behaviour in cattle. *Applied Animal Ethology*, v. 6, p. 1-17., 1980.
- Hurnick, J.F., Kingg, J., Robertson, H.A. Oestrus and related behaviours in post partum dairy cows. *Applied Animal Ethology*, v. 2, 55-68., 1975.
- Lamothe, C.; Montiel, F. Reproductive performance of Zebu cattle in Mexico. Influence of season and social interaction on the timing of expressed oestrus. *Tropical Agriculture*, v.72, n.4, p-319-323, 1995.

Palavras-chave: comportamento sexual; *Bos indicus*; duração do estro.

Keywords: zebu; mounting; estrous duration; cattle.



Atividade ovariana pós-parto e ciclo curto em múltiparas *Bos indicus* da raça Gir leiteira *Postpartum ovarian activity and short cycles on multiparous milking Gir cows (Bos indicus)*

M.B. Ferreira¹, B.C. Lopes³, J.C. Souza², N.A. Azevedo¹, L.O. Fernandes¹, S.A. Ribeiro¹, A.A. Rocha²

¹Pesquisador EPAMIG; ²Professor da UFLA; Professor UFD; ³Professor da FAZU.
E-mail: brandao@epamiguberaba.com.br

Introdução

Cerca de 75% da produção leiteira nacional é oriunda de “mestiças” leiteiras, atestando a importância do conhecimento da fisiologia da fêmea Gir leiteira como rebanho núcleo e fornecedor de material genético para os plantéis comerciais. A síndrome do ciclo estral curto pode representar problema no retorno a atividade ovariana, devido ao seu efeito sobre o intervalo pós-parto e não está referenciada para zebuínos leiteiros, sendo objetivo deste trabalho caracterizá-la.

Material e Métodos

Foram avaliadas 16 vacas Gir, com idade média de $67,5 \pm 25,2$ meses e $2,7 \pm 1,6$ crias. O peso médio foi de $467,5 \pm 59,0$ kg no pré-parto. O escore corporal (ECC) médio foi de $5,7 \pm 1,3$ no pré-parto, na escala de 1 a 9. A produção de leite em 120 dias de lactação foi de $1320,0 \pm 376,5$ kg com valor máximo de 2310 kg. A dinâmica ovariana foi realizada por ultra-sonografia diária, do sétimo dia pós-parto até o final do segundo ciclo estral. Foram observados os intervalos de ciclo de curta duração e feita as análises das concentrações de progesterona plasmática. Os resultados foram analisados pelo pacote estatístico SAEG.

Resultados e Discussão

A primeira ovulação pós parto ocorreu aos $63,2 \pm 23,4$ dias, com o mínimo de 26 e máximo de 104 dias, o intervalo parto primeiro cio fisiológico (precedendo ciclo normal de 19 a 22 dias) foi de $71,3 \pm 21,3$ dias, com o mínimo de 34 e máximo de 111 dias. O ciclo curto foi de $8,7 \pm 1,6$ dias, com valores máximo e mínimo de 6 a 12 dias sendo detectado em 86,6 % das vacas. Os níveis de progesterona no ciclo curto foram de $0,96 \pm 0,7$ ng/ml com máximo e mínimo de 2,3 e 0,39 ng/ml, respectivamente. O intervalo parto primeiro cio detectado foi de $80,3 \pm 26,3$ dias. O tamanho do folículo ovulatório do ciclo curto foi de $15,4,1 \pm 2,2$ mm, com o mínimo de 12,5 e máximo de 18,7 mm. O tamanho médio atingido pelo corpo lúteo do ciclo curto foi de $19,41 \pm 2,69$ mm, com o mínimo de 15,9 e máximo de 24,6 mm. Toribio et al. (1995) observaram a ocorrência de ciclos estrais curtos entre o 7º e 34º dia pós-parto, sem as manifestações comportamentais de cio, seguido de um ciclo de duração normal acompanhado dos sinais de cio, indicando que o ciclo curto pode ter um importante papel fisiológico na retomada da atividade ovariana cíclica no pós-parto. A ocorrência de ciclos estrais de curta duração foi verificada no pós-parto de gado de corte, e contribuem para diminuir a taxa de fertilidade no pós parto (Short et al., 1990). Em gado de leite ciclos estrais curtos podem ser verificados em 50% das vacas no início do período pós-parto (Schams et al., 1978) e de acordo com Guilbault et al. (1987), o útero no pós-parto produz maiores quantidades de PGF2 α , e na primeira ovulação, não havendo prévia exposição a progesterona, a maior concentração de PGF2 α lisa o corpo lúteo, resultando numa fase lútea curta (Rivera et al., 1998), o que também parece ocorrer na fisiologia de múltiparas zebuínas leiteiras conforme as observações realizadas neste trabalho.

Referências Bibliográficas

- Toribio, R.E., Molin, J.R., Forsberg, M. Effects of calf removal at parturition on postpartum ovarian activity in zebu cows in the humid tropics. *Acta. Vet. Scand.* V. 36, p. 343-52, 1995.
- Short, R.E., Bellows, R.A., Staigmiller, J.G. et al. Physiological mechanisms controlling anestrus and infertility in postpartum beef cattle. *J. Anim. Sci.* v. 68, p. 799-816, 1990.
- Guilbault, L. A. et al. Influence of a physiological infusion of prostaglandin F2 α into postpartum cows with suppressed endogenous production of prostaglandins. *Theriogenology*, v.27, p.931, 1987.
- Rivera, G.M. et al. Ovarian follicular wave synchronization and induction in postpartum beef cows. *Theriogenology*, v.49, p.1365- 75, 1998.
- Schams, D. E. et al. Profiles of LH, FSH and progesterone in postpartum dairy cows and their relationship to the cyclic functions. *Theriogenology*, v.10, n.6, p.453-68, 1978.

Palavras-chave: zebu, ciclo curto, vacas de leite, folículos ovulatórios, corpo lúteo.

Keywords: zebu, short cycle, dairy cows, ovulatory follicles, corpus luteum.



Concentrações séricas de glicose, colesterol e atividade ovariana em novilhas Girolando submetidas à bioestimulação, monensina e somatotropina recombinante bovina

Blood serum levels of glucose, cholesterol and ovarian activity of Girolando heifers submitted to bioestimulation, monensin and recombinant bovine somatotropin

C.S. Lima, M.L. Gambarini, M.A.O. Viu, B.D. Oliveira Filho, L.N. Borges, R.J.F. Gonçalves, F.C. Santos

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

Introdução

A viabilidade de sistemas de produção leiteiros tecnificados no Brasil depende da eficiência da criação e diminuição dos custos. A utilização de técnicas de manejo e suplementação pode incrementar o desenvolvimento corpóreo dos animais e a precocidade de novilhas, elevando o lucro do produtor. O objetivo deste estudo foi avaliar as concentrações séricas de glicose, colesterol total e idade de início da atividade ovariana em novilhas Girolando tratadas com bioestimulação (BIO), monensina (MON) e somatotropina recombinante bovina (rBST).

Material e Métodos

Quarenta novilhas Girolando com idade inicial de 10 meses e peso de $169,3 \pm 26,4$ kg de um sistema de produção de leite a pasto, em Leopoldo de Bulhões-GO foram mantidas por 180 dias em piquetes de *Bracharia brizantha* cv. Marandú, recebendo 1 kg milho triturado/cabeça/dia, sal mineral *ad libitum* e resíduo de cervejaria uma vez ao dia, sendo este o manejo padrão. Os quatro grupos, aleatoriamente formados (=10) foram: G1, controle, manejo padrão; G2, BIO, presença de um rufião; G3, MON, monensina sódica adicionada à dieta (1 a 1,5 g cabeça/dia, de acordo com o peso); G4, rBST, aplicação subcutânea de 125 a 250 mg de rBST a cada 14 dias, de acordo com a evolução do peso. Foram realizadas colheitas de sangue a cada 7 dias para dosagens de glicose e colesterol total, e entre o 14º e o 16º mês de idade os ovários foram avaliados por ultra-sonografia para avaliação da presença de estruturas.

Resultados e Discussão

As concentrações séricas de glicose e colesterol total variaram com diferenças ($P < 0,05$) em todo o período do experimento. Entretanto, aos 12 meses idade, os animais do G3 se destacaram, principalmente, pelas elevadas concentrações de glicose, provavelmente, pela capacidade glicogênica da monensina (Santos & Sá Filho, 2006). Houve associação positiva entre as concentrações séricas de glicose e colesterol total ($r = 0,40$; $P < 0,01$). Com relação à atividade ovariana, houve diferença ($P < 0,05$), verificando-se maior número de novilhas com atividade ovariana em G2, G3 e G4 em relação ao G1. Assim foi possível concluir que a BIO, MON e rBST são eficientes em induzir precocemente a atividade ovariana em novilhas Girolando criadas a pasto, e que esta ação está relacionada com o aumento das concentrações séricas de glicose (Meinert *et al.*, 1992) e colesterol total.

Referências bibliográficas

- Meinert A, Yang CMJ, Heinrichs AJ, Varga, GA. 1992. Effect of monensin on growth, reproductive performance, and estimated body composition in Holstein heifers. *J Dairy Sci*, 75:257-261.
- Santos, JEP, Sá Filho MFF. 2006. Nutrição e reprodução em bovinos. In *Anais do 2º Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada, 2006, Londrina, Brasil*. Londrina: Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada, 2006, Londrina, Brasil, Londrina: pp.201.

Palavras-chave: bovinos, gado de leite, reprodução.

Keywords: bovine, dairy cattle, reproduction.



Restabelecimento da ciclicidade ovariana e uterina pós-parto em vacas holandesas de alta produção

Resumption of postpartum ovarian-uterine cyclicity in high-producing Holstein cows

R.F. Solano¹, R.MChaves¹, O.G Solano², S.T. Rolim Filho³

¹Laboratório de Biotecnologia Universidade Estadual do Maranhão, ²Aluno de Pós-graduação Ciência Animal-UFPA, ³Universidade Federal Rural do Pará.

E-mail: solanoferro@yahoo.com.br

Introdução

A fertilidade das vacas nos primeiros meses depois do parto depende, entre outros fatores da própria involução uterina, reações individuais que podem estar influenciada pelos fatores nutricionais, hormonais, genéticos e manejo (DE JANERTTE ET al., 2001; MCDOUGALL e SCOTT, 2004). O anestro fisiológico pós-parto é a principal limitação da eficiência reprodutiva em vacas de leite, sua duração pode ser variável sendo que o clima e a alimentação são os principais fatores que impedem o crescimento folicular devido à potencialização do efeito feedback negativo do estradiol no hipotálamo (MACMILLAN, 2002). O estudo objetivou conhecer os fatores que afetam o restabelecimento da ciclicidade ovariana e a fertilidade pós-parto em vacas da raça holandesa.

Material e Métodos

O experimento foi realizado em 123 vacas da raça Holandesa entre uma e cinco lactações mantidas em condições subtropical, manejo e alimentação similar. As fêmeas foram examinadas por via retal e ultra-sonografia com auxílio de um equipamento marca Aloka Modelo SSD 500 e probe de 7 MHZ, com intervalo de cinco a sete dias pós-parto. Os animais foram divididos em dois grupos para cada época do ano, GI=62 (inverno) e GII=61 (verão). Foram mensurados os valores de progesterona plasmáticos em 53 (43 %) das fêmeas. A concentração de p4 foi mensurada pelo teste de radioimunoensaio (RIA). Os resultados da atividade ovariana foram processados mediante o teste de comparação de proporções e os níveis de progesterona entre intervalos e época por análise de variância e nos casos significativos se aplicou o teste de Duncan.

Resultados e Discussão

Baseado na palpação retal e ultra-sonografia os primeiros folículo estão presentes aos $22 \pm 0,84$ e $23,5 \pm 0,77$ dias sem diferença significativa ($P > 0,05$) entre época (inverno e verão), de acordo com o relatado por RAYN et al. (1999). Os valores plasmáticos de progesterona, nos últimos 10 dias da gestação atingiram 3,5 e 4,0 ng/ml e voltaram a seus níveis basais ($0,80 \pm 0,60$ e $0,25 \pm 0,09$ ng/ml) o dia do parto, conforme ao relatado por DE JANERTTE et al. (2001). A involução uterina baseada no exame clínico se completou quando o diâmetro e tônus muscular voltaram a seu estado fisiológico aos $23,1 \pm 0,69$ e $24,8 \pm 0,84$ dias pós-parto. O intervalo entre o parto e o primeiro estro foi $30,3 \pm 0,24$ a $28,2 \pm 1,11$ dias e o primeiro corpo lúteo aos $32,1 \pm 1,03$ e $30,4 \pm 0,19$ dias na época inverno e verão respectivamente. A época do ano teve efeito significativo ($P < 0,05$) sobre a ciclicidade ovariana. As vacas que ovularam (27,4 e 32,7 %) não apresentaram sintomatologia do estro e as que manifestaram estro (11,2 e 13,1%) não ovularam. Resultados similares foram citados por MCDOUGALL e SCOTT (2004). A taxa de fertilidade ao primeiro estro foi superior ($P < 0,06$) na época do inverno (25,0 %) em relação à época verão (16,6%). Conclui-se que a ciclicidade ovariana é afetada durante os primeiros 40 dias pós-parto em vacas da raça holandesas.

Referências Bibliográficas

- De Janertte, J.M., Salverson, R.R., Marshall, C. E.** Incidence of premature estrus in lactating dairy cows and conception rates standing estrus or fixed-time insemination after synchronization using GnRH and PGF₂ alfa. *Animal Reproduction Science*, v.67, p.27-35, 2001.
- Macmillan, K. L.** Advances in bovine theriogenology in New Zealand. 1. pregnancy, parturition and the post-partum period. *New Zealand Veterinary Journal*, v.50, Supplement. 67-73, 2002.
- Mcdougall, S. and Scott, H. L.** Resynchronize of postpartum dairy cows previously treated anestrous. *Theriogenology* p. 239-253, 2004.
- Rayn, D, P., Galvan, J.A., O Farrell, K. J.** Comparison of estrous synchronization regimens for lactating dairy cows. *Animal Reproduction Science*, v.56, p.253-258, 1999.

Palavras chaves: Pós-parto. Útero-ovario. Vacas Holandesa.

Key Words: Post-partum. Uterus-ovarian. Holstein cows.



Ciclo celular em células mononucleares e trofoblásticas gigantes da placenta de bovinos clonados e normais

Cell cycle of the mononuclear cells and trophoblastic giant cell from normal and cloned cattle placenta

R.E.G. Rici¹, P.F. Reginato¹, T.C. Santos¹, C.E. Ambrósio¹, D.A. Maria², J.R. Kfoury Jr¹, J.H.F. Pontes³, M.A. Miglino¹

¹FMVZ-USP, ²Instituto Butantã, ³CYAGRA Inc.
E-mail: roseeli@usp.br

Introdução

As células em atividade proliferativa passam por quatro fases denominadas G1, S, G2 e M, nas quais replicam seu DNA e dividem-se (Gray *et al.*, 1990). Em bovinos o trofoblasto esta composto por dois tipos celulares: células trofoblásticas mononucleares e células trofoblásticas gigantes, que podem apresentar dois ou mais núcleos (Klisch *et al.*, 1999). Sendo assim, conhecer o ciclo celular na placenta de termo de bovinos clonados pode contribuir para o entendimento da formação e diferenciação das células trofoblásticas, comparando-as com os dados já descritos em bovinos normais.

Material e Métodos

Amostras de áreas centrais de placentônios e pequenos placentônios (< 1cm) foram obtidas durante cesariana (n=04) em bovinos clonados (CYAGRA Inc, Mogi Mirim, Brasil) e em abatedouro (n=5) para bovinos normais com mais de 250 dias de prenhez. Estas amostras foram processadas para determinação da quantidade de DNA através de citometria de fluxo (Vindelov *et al.*, 1983) e analisadas em FACScalibur, programa CellQuest e processadas no programa ModFillT.

Resultados e Discussão

Os resultados da citometria de fluxo permitiram identificar duas populações celulares distintas em tamanho e granulosidade: diplóides (epitélio uterino, citotrofoblasto, tecido conjuntivo etc) e células tetraplóides (dois ou mais núcleos, células trofoblásticas gigantes) (Tabela 1). Na região do placentônio, as células estão, na maioria dos casos, em alta atividade proliferativa (G2/M), mesmo a termo. Enquanto que nos pequenos placentônios observamos baixa atividade nuclear com equivalência entre as fases G0/G1 e G2/M, indicando apenas atividade de manutenção celular. Os clones apresentaram diferenças em relação às células tetraplóides (59%) em comparação aos bovinos normais (20,7%). Em bovinos descreve-se que as células trofoblásticas gigantes representam entre 15 e 20% ao longo da prenhez (Wooding & Wathes, 1980). Os pequenos placentônios, com tamanho menor que 1 cm, também mostraram altas taxas de células tetraplóides, reforçando a idéia de que estes são funcionais.

Tabela 01 – Percentagem de células analisadas em citometria de fluxo em placentônios de bovinos clonados e normais. São Paulo, 2007.

animal	tipo celular	placentônio	placentônio < 1cm
bovino normal	diplóides	73,3 %	74,3 %
	tetraplóides	20,7 %	24,0 %
bovino clonado	diplóides	38,7 %	57,4 %
	tetraplóides	59,0 %	41,5 %

Referências bibliográficas

- Gray JW, Dolbeare F, Pallavicini MG. Observations cell-cycle analysis. In: Flow cytometry and sorting, p.445-467, 1990.
- Klisch K, Hecht W, Pfarrer C, Schüller G, Hoffmann B, Leiser R. DNA content and ploidy level of bovine placentomal trophoblast giant cell. *Placenta*, v.20, p.451-458, 1999.
- Vindelov LL, Christensen IJ, Nissen JI. A detergent-trypsin method for the preparation of nuclei for flow cytometric DNA analysis. *Cytometry*, v.3, p.323-327, 1983.
- Wooding FB, Wathes DC. Binucleat cell migration in the bovine placentome. *Journal of Reproduction and Fertility*, v.59, p.425-430, 1980.

Palavras-chave: Ciclo celular, placenta, bovinos clonados, célula trofoblástica gigante.

Keywords: Cell cycle, placenta, cloned cattle, giant trophoblastic cell.



Proliferação celular pelo método de AgNORs em placentas de bovinos normais e clonados

Cellular proliferation using AgNORs in normal and cloned cattle placenta

P.F. Reginato¹, R.E.G. Rici¹, C.E. Ambrósio¹, M.R. Queiróz¹, D.A. Maria²,
J.H.F. Pontes³, M.A. Miglino¹, T.C. Santos¹

¹FMVZ, USP; ²Instituto Butantã; ³CYAGRA Inc.
E-mail: roseeli@usp.br

Introdução

A importância da análise da distribuição do DNA para o estudo do ciclo celular reside no fato de que a quantidade de DNA celular é um marcador para a sua maturidade. As NORs são constituídas por cistrons de rDNA e estão localizadas nas constrições secundárias dos cromossomos em metáfase de células eucarióticas. O número de AgNORs está estritamente relacionado com a atividade transcricional do RNAr e com a agilidade e rapidez da proliferação celular no tecido (Derenzini, 2000), portanto pode ser utilizado como método para inferir atividade proliferativa celular. Neste trabalho as AgNORs de placentas de bovinos normais em final de prenhez e de bovinos clonados de termo foram analisadas com o objetivo de evidenciar a atividade proliferativa das células mononucleares e das células trofoblásticas gigantes.

Material e Métodos

Amostras de áreas centrais de placentônios obtidas durante cesariana (n=02) em bovinos clonados (CYAGRA Inc, Mogi Mirim, Brasil) e em abatedouro (n=2) para bovinos normais foram fixadas em formalina 10% e emblocadas em paraplast. Cortes (5µm) foram corados pelo Nitrato de Prata (AgNO₃), segundo Ploton *et al.* (1986), e identificado o número de dots e clusters expressos em cada núcleo, nos diferentes tipos celulares. A fotodocumentação e posterior contagem das AgNORs foram realizadas com microscópio ótico (Leitz Diaplan).

Resultados e Discussão

Foram analisadas o número total de AgNORs (dots e clusters) expressas pelas células trofoblásticas mononucleadas e pelas células trofoblásticas gigantes em placentas de bovinos normais e clonados de termo. Agrupamos as quantidades de AgNORs encontradas por células nos bovinos normais e clonados para caracterização da proliferação celular (Tabela 1). As células mononucleares são claramente menos ativas que as trofoblásticas gigantes por apresentam menor quantidade de AgNORs. A alta atividade secretória das células trofoblásticas gigantes (Klish *et al.*, 2000) pode explicar o padrão encontrado de várias AgNORs por núcleo.

Tabela 1 – Número de AgNORs em diferentes tipos celulares em placentas de bovinos normais e clonados. São Paulo, 2007

tipo celular	bovino	Número de AgNORs por núcleo			
		1 a 5	6 a 10	11 a 20	> 20
mononucleadas	normal	60 %	40 %	-	-
	clonado	31 %	60 %	9 %	-
trofoblásticas gigantes	normal	-	-	41%	59%
	clonado	1 %	23,5 %	75 %	0,5%

Referências bibliográficas

- Derenzini M. The AgNORs. *Micron*, v.31, p.117-120, 2000.
Leek RD, Alison MR, Sarraf CE. Variations in the occurrence of silver-staining nucleolar organizer regions (AgNORs) in non-proliferating and proliferating tissues. *Journal of Pathology*, v.165, p.43-51, 1991.
Ploton D, Menager M, Jeannesson P, Himber G, Pigeon F, Adnet JJ. Improvement in the staining and in the visualization of the argyrophilic proteins of the nucleolar organizer region at the optical level. *Histochem J*, v.18, p.5-14, 1986.
Klish K, Schuller G, Miglino MA, Leiser R. Genome multiplication in trophoblast giant cells of sheep, goat, water buffalo and deer: a image cytophotometric study. *Reproduction of Domestic Animal*, v.35, p.145-148, 2000.

Palavras-chave: Proliferação celular, ciclo celular, placenta, bovinos.

Keywords: Cell proliferation, cell cycle, placenta, bovine.



Metabolismo placentário bovino após a infusão fetal e materna de glicose diferencialmente marcada no terço final da gestação

Bovine placental metabolism after fetal and maternal infusion of differentially-labeled glucose in late pregnancy

^{1,2}R.P.C. Gerger, ¹A.N. Moraes, ¹J.H. Fontequê, ¹A.L. Dallabrida, ¹M.E. Saito, ⁵R.D. Sainz, ⁶C.L. Ferrell, ³F. Forell, ³J.L. Rodrigues, ⁴V.L. Tornisielo, ²C.E. Ambrósio, ²M.A. Miglino, ^{1,2}L.R. Bertolini, ¹A.D. Vieira, ¹A. Mezzalira, ¹M. Bertolini

¹Centro de Ciências Agroveterinárias/UEDESC, Lages, SC

²Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres, Departamento de Cirurgia, FMVZ/USP, São Paulo, SP

³Laboratório de Biotécnicas da Reprodução, FAVET/UFRGS, Porto Alegre, RS

⁴Laboratório de Ecotoxicologia, Centro de Energia Nuclear na Agricultura/USP, Piracicaba, SP

⁵Department of Animal Science, University of California, Davis, CA, EUA

⁶US Meat Animal Research Center, USDA/ARS, Clay Center, NE, EUA

E-mail: renatogerger@yahoo.com.br

Introdução

A produção de embriões por fecundação *in vitro* (FIV) ou transferência nuclear com células somáticas (TNCS) em diversas espécies animais, em especial a bovina, está associada a anormalidades imprevisas no desenvolvimento tanto pré quanto pós-natais. A placenta, por ser responsável pelas trocas entre os sistemas materno e fetal, exerce um papel fundamental na regulação do crescimento fetal. Sendo assim, o objetivo deste trabalho é avaliar a capacidade de transporte, partição, utilização e metabolismo de substratos pela placenta de prenhez de FIV e TNCS, em comparação a controles. Os resultados apresentados neste resumo referem-se aos experimentos de validação das técnicas de canulação, do protocolo de infusão e coleta de amostras.

Material e Métodos

Cinco fêmeas bovinas $\frac{1}{2}$ sangue Red Angus com Nelore, prenhes de embriões da raça Nelore, foram alocadas individualmente em gaiolas metabólicas aos 205 dias de gestação, onde permaneceram por todo o período do experimento (27 dias), com disponibilidade de água, feno de alfafa e sal mineral *ad libitum*. As fêmeas foram submetidas à laparotomia retroumbilical no dia 220 ± 1 de gestação para a canulação da artéria e veia uterina (corno gestante), seguida de uma histerotomia para a canulação da artéria e veia femoral fetal e da veia umbilical. Para a realização do estudo comparativo do metabolismo, no dia 225 ± 1 , uma dose inicial de 2 mL de óxido de deutério (D_2O) foi infundida no catéter da veia femoral ($t = -60$ min), seguida de uma infusão constante (0,2 mL/min) por um período de 7 h. No $t = 0$ h, uma dose-pulso de 20 mL contendo 3 g de $[U-^{13}C]$ glicose em solução salina (0,9% NaCl) foi infundida na veia jugular materna e outra concomitante de 5 mL (105 nCi, 4 mM $[U-^{14}C]$ glicose) no catéter de infusão fetal. Amostras de sangue foram coletadas pelos catéteres maternos (10 mL/amostra) e pelos catéteres fetais (5 mL/amostra) no $t = -60$ e no $t = 0$ h para a confirmação dos níveis estáveis de D_2O nos sistemas materno e fetal, o que servirá para a determinação dos fluxos sanguíneos umbilicais e uterinos e para uso como controle antes da infusão de substratos marcados. Amostras adicionais foram obtidas nos tempos 5, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 180, 240, 300 e 360 min, para a determinação da cinética de metabolização dos substratos marcados. As amostras estão sendo submetidas à análise das concentrações de substratos por cromatografia líquida e espectrometria de massa acelerada.

Resultados e Discussão

No dia 225 de gestação, 60% (3/5) dos animais apresentaram gestações com fetos viáveis. Destas, uma perdeu a funcionalidade de dois dos cinco catéteres (veia umbilical e veia uterina), possibilitando a infusão das substâncias marcadas e coleta das amostras completas em somente duas (40%). Todas as fêmeas abortaram em um período dentro de 30 dias após as cirurgias. Este experimento piloto compreende metodologias de uso de substratos marcados e analíticas inéditas. A realização das cirurgias com um aproveitamento amostral de 40% dos animais, com a utilização da infusão simultânea da glicose marcada diferencialmente em níveis não-radioativos, demonstraram ser metodologias aplicáveis para o estudo do perfil metabólico fetal e placentário em bovinos.

Palavras-chave: Metabolismo; Feto; Placenta; Canulação; Glicose; Isótopos.

Keywords: Metabolism; Fetus; Placenta; Cannulation; Glucose; Isotopes.



Impacto do aumento do intervalo de partos sobre a taxa de vacas em lactação em rebanhos bovinos leiteiros do Vale Paraíba – SP

Impact of calving interval increase in the production of bovine dairy cattle from Paraíba Valley, São Paulo, Brazil

P.A.C. Pereira¹, A.M. Ferreira², L.S.F. Rodrigues³, L.B. Carvalho, R.S. Verneque², R.C. Leite¹

Universidade Federal de Minas Gerais. -Embrapa Gado de Leite²-Centro de Ensino Superior de Juiz de Fora³
E-mail: carvalho_vet@yahoo.com.br

Introdução

A eficiência reprodutiva de um rebanho bovino pode ser medida através da obtenção de diversos índices. O intervalo de partos (IP), constitui-se na medida mais utilizada nos rebanhos leiteiros do Brasil (Ferreira & Teixeira, 2000), embora seja mais preciso quando se avalia individualmente cada animal, apresentando limitações para a avaliação do rebanho, por não poder incluir primíparas e vacas com problemas reprodutivos que apresentam um só parto no período estudado (Stevenson, 1996). Pode-se maximizar a produção de leite e de bezerros com IP em tomo de 12 a 13 meses (Ferreira, 1991; Stevenson, 1996). No Brasil, a produção leiteira poderia ser elevada em até 50% com a redução do IP do rebanho nacional para próximo de 12 meses, o que representaria um acréscimo anual de cerca de 11 bilhões de litros de leite, além de um aumento expressivo do número de bezerros nascidos (Ferreira & Teixeira, 2000).

Material e Métodos

O trabalho foi conduzido na bacia leiteira de Guaratinguetá, região do Vale do Paraíba, estado de São Paulo, Sudeste do Brasil, onde foram estudados 29 rebanhos leiteiros, sendo estes considerados os mais especializados da região. O intervalo de partos médio (IPM) de cada rebanho foi obtido através da análise das fichas de desempenho reprodutivo dos animais.

Resultados e Discussão

O IP dos 29 rebanhos estudados variou de 12,5 à 20 meses, sendo a média do número de vacas nos rebanhos de 113 (23 a 291), com 68,1% (n=77) de vacas em lactação e 31,9% (n=36) de vacas secas, número inferior ao desejado de 80 a 83% de vacas em lactação no rebanho com 12 meses de IP (Ferreira, 1991). Os grupos 4 (IPM=17,1 meses) e 3 (IPM=14,6 meses) apresentaram as menores taxas de vacas em lactação, respectivamente de 58,7% (178/303) e 62,1% (639/1022), possivelmente como consequência do maior IPM desses grupos. Os grupos 1 (IPM=12,7 meses) e 2 (IPM=13,7 meses) apresentaram as maiores taxas de vacas em lactação, respectivamente 68,0% (230/338) e 73,8% (1 190/1613) (Tabela I). Sabe-se que outros fatores além do IP podem afetar a taxa de vacas em lactação, como é o caso de lactações curtas ou de menor duração (Ferreira, 1991), que ocorrem principalmente em vacas mestiças, com maior grau de sangue zebuino, o que provavelmente explica o motivo da menor taxa de vacas em lactação do grupo 1 em relação ao grupo 2.

Tabela 1. Intervalo de Partos e a relação (%) entre vacas em lactação e secas por grupo de intervalo de partos (IP) de 29 rebanhos bovinos leiteiros da região de Guaratinguetá-SP.

Grupo	IP (meses)	Reb	IPM	Vacas				
				Lactação	%	Secas	%	Total
01	≤ 13,0	02	12,7	230	68,0	108	32,0	338
02	13,1 - 14,0	13	13,7	1190	73,8	423	26,2	1613
03	14,1 - 15,0	10	14,6	639	62,1	383	37,1	1022
04	> 15,0	04	17,1	178	58,7	125	41,3	303
	Média	-	14,0	77	68,1	113	31,9	113

Referências bibliográficas

- Ferreira, A. M.; Teixeira, N.M. Estimativas de mudanças na produção de leite com a variação do intervalo de partos em rebanhos bovinos. *Rev. Bras. Reprod. Anim.* v.24, n.4, p.177-181, 2000.
Ferreira, A.M. Manejo Reprodutivo e sua importância na eficiência da atividade leiteira Coronel Pacheco - MG, Embrapa - CNPGL, Documento 46, p.47.1991.
Stevenson, J. Is there an optimal calving interval ? *Hoard's Dairyman*, v.141, n.101, p.408, 1996

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

Keywords: bovine, calving interval, production.



Avaliação por escore APGAR, temperatura e hemogasometria arterial em neonatos da espécie ovina

APGAR score, body temperature and arterial blood gas analysis in lambs at birth

J.A. Rodrigues, G.A.L. Veiga, L.C.G. Silva, C.F. Lúcio, C.I. Vannucchi

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo
E-mail: jar@usp.br

Introdução

As intensas contrações uterinas durante o parto causam compressão das artérias uterinas e do cordão umbilical, acarretando em redução drástica da circulação fetal. Este curto período de asfixia resulta em hipercapnia e acidemia transitórias, compensadas fisiologicamente após o nascimento. Os objetivos deste estudo foram avaliar alguns parâmetros sanguíneos, hemogasométricos e de vitalidade em neonatos ovinos e verificar o período necessário para compensação metabólica após o nascimento.

Material e Métodos

Foram colhidas amostras de sangue arterial (veia umbilical ou artéria femural) de 7 neonatos ao nascimento e após 1 hora, para avaliação dos seguintes parâmetros: pH, pCO₂, pO₂, HCO₃⁻, BEecf, TCO₂, SO₂, Anion Gap, Hematócrito (Ht), Hemoglobina (Hb), Na⁺, K⁺, iCa, Cl⁻, Glicemia e Uréia sanguínea (U). A temperatura retal e o escore APGAR (baseado na frequência cardíaca, esforço respiratório, tônus muscular, irritabilidade reflexa e coloração de mucosas) foram avaliados ao nascimento, aos 5 minutos e após 1 hora do parto. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) com nível de significância de 5% (p<0,05).

Resultados e Discussão

Ao nascimento, os neonatos apresentaram valores de pH (7,24±0,05) inferiores ao normal e significativamente menores à avaliação após 1 hora (7,34±0,04), caracterizando uma acidose transitória devido à hipóxia do parto. A pCO₂ apresentou-se elevada ao nascimento (56,8±12,3mmHg) e os valores de BEecf (-3±3,7mmol/L) inferiores ao normal, demonstrando ser uma acidose de origem mista. Após 1 hora, observou-se adequada recuperação das variáveis hemogasométricas. O nível de HCO₃⁻ permaneceu inalterado, possivelmente utilizado para o equilíbrio ácido-base. Os neonatos apresentaram-se hipoglicêmicos ao nascimento (26,5±4,8mg/dL), em consequência da hipóxia e da depleção do glicogênio hepático. As demais variáveis não diferiram nos períodos avaliados e foi possível estabelecer as referências: Na⁺=146,8(±2,34), K⁺=4,71(±1,28), iCa=1,32(±0,06), Cl⁻=11,6(±3,1), U=15,4(±4,0), Anion Gap=15,7(±2,5), Ht=38,6(±4,6), Hb=13,2(±1,56). As temperaturas corpóreas ao nascimento (39,65±0,5°C), 5 minutos (39,63±0,3°C) e após 1 hora (39,4±0,4°C) indicam boa adaptação do sistema de termorregulação neonatal. O escore APGAR ao nascimento (5,83±1,3) foi estatisticamente menor em relação aos 5 minutos (9±0,9) e após 1 hora (10±0), demonstrando baixa vitalidade inicial, mas adequada recuperação dos parâmetros vitais após 5 minutos. De acordo com as variáveis estudadas, conclui-se que o período de 1 hora após o parto foi adequado para a completa recuperação do desequilíbrio ácido-básico observado ao nascimento.

Referências bibliográficas

- Massip, A.** Relationship between pH, plasma, cortisol and glucose concentrations in the calf at birth. **Br. Vet. Journal**, v.136, n.6, p.597-601, 1980.
- Berger, P.J.** et al. Breathing at birth and the associated blood gas and pH changes in the lamb. **Respir. Physiol.**, n.82, p.251-266, 1990.

Palavras-chave: neonato, APGAR, temperatura corporal, hemogasometria, ovinos.

Keywords: newborn, APGAR, body temperature, blood gas analysis, sheep.



Perfil protéico da secreção uterina pura de éguas no primeiro diestro ou subseqüentes

Uterine protein profile in mares in the first or in subsequent diestrus in the breeding season

E. Malschitzky^{1,2}, S. Fiala³, A. Neves¹, A.M.T. Esmeraldino², M.I.M. Jobim¹, R.M Gregory¹, R.C. Mattos¹

¹Reprolab, UFRGS, ²ULBRA, Canoas, ³UFPEL

E-mail: emalschitzky@ibest.com.br

Introdução

A onda de LH, o hormônio responsável pela maturação final do folículo, a ovulação e a formação e manutenção do corpo lúteo apresenta uma magnitude menor na 1ª ovulação do ano, quando comparada às ovulações subseqüentes (Ginther, 1992). Éguas falhadas demonstraram menor taxa de prenhez e maior taxa de morte embrionária quando cobertas na 1ª ovulação da temporada em relação às éguas cobertas a partir da 2ª ovulação (Malschitzky *et al.* 2003). Esta menor fertilidade foi atribuída a um menor nível de LH, resultando em falha na formação e manutenção do corpo lúteo. O objetivo deste estudo foi: comparar, o perfil protéico da secreção endometrial de éguas em diestro após a 1ª ovulação da temporada reprodutiva, com diestros subseqüentes, a fim de determinar se o micro-ambiente uterino alterado poderia explicar a menor fertilidade das éguas cobertas na 1ª ovulação.

Material e métodos

Foram coletadas amostras de secreção endometrial de 13 éguas (33 géis) de abatedouro em diestro, através da técnica do tampão vaginal (Malschitzky *et al.* 2006). As éguas foram divididas em 2 grupos, de acordo com os achados de ovários e útero: G1 – 1ª ovulação, éguas coletadas entre os meses de agosto e novembro, nas quais se observou a presença de um único corpo lúteo, sem evidência de corpo albicans; G2- ≥2 ovulação, éguas coletadas entre setembro e fevereiro, nas quais se identificou, além do corpo lúteo ou corpo hemorrágico, a presença de pelo menos um corpo albicans. As amostras foram processadas e submetidas à eletroforese bi-dimensional, sendo cada gel considerado como uma unidade experimental. Amostras de endométrio foram avaliadas através de exame imunohistoquímico.

Resultados

Foram identificadas 30 bandas protéicas, com peso molecular variando entre 15 e 105 kDa e ponto isoelétrico entre 4,3 e 10,0. Foram observadas diferenças significativas na expressão de 5 bandas, com uma quantidade relativa de proteína maior nas amostras do G1 (n=14), em comparação às do G2 (n=19). No exame imunohistoquímico, observou-se que a intensidade de coloração dos receptores hormonais para estrógeno e progesterona foi maior no endométrio das éguas do G1, comparado às do G2.

Discussão

A secreção de éguas em diestro, após a 1ª ovulação é diferente da de diestros subseqüentes. Por homologia, baseado no peso molecular e ponto isoelétrico, as proteínas identificadas poderiam estar relacionadas a processos inflamatórios. A diferença se deveria, em parte, à alteração da expressão de receptores endometriais para estrógeno e progesterona. A menor fertilidade observada no 1º ciclo da temporada pode ser consequência de um ambiente uterino alterado, como o observado nas éguas em seu primeiro diestro da temporada, em relação ao observado nas éguas a partir da 2ª ovulação.

Referências bibliográficas

- Ginther, O.J. Reproductive Biology of the Mare: Basics and Applied Aspects. Cross Plains, Equiservices, 1992, p. 146-170; 499-558.
- Malschitzky, E., Schilela, A., Mattos, A.L.G., Garbade, P., Gregory, R.M., Mattos, R.C. Pregnancy and Embryo Loss rates in non-lactating mares bred in first or in others estrus cycle during the breeding season. *Pferdeheilkunde*, n.19, p.641-645, 2003.
- Malschitzky, E., Fiala, S., Jobim, M.I.M, Moller, G., Esmeraldino, A.M.T, Keller, A., Neves, A.P., Gregory, R.M., Mattos, R.C. Two-dimentional polyacrylamide gel electrophoresis of endometrial secretions of estrous mares in relation to inflammation and fibrosis. *Animal Rep. Sci*, v.94, p.261-264, 2006

Palavras-Chave: éguas, diestro, perfil protéico.

Key-words: mares, diestrus, protein profile.



Número de espermatozóides no oviduto de éguas em diferentes momentos após a IA

Sperm number in the mare's oviduct in different times after AI

S.M. Fiala¹, R.M. Gregory², R.C. Mattos²

¹Departamento Morfologia – Instituto de Biologia-UFPEL, Pelotas-RS

²REPROLAB – Departamento de Medicina Animal, Faculdade de Veterinária UFRGS, Porto Alegre - RS

E-mail: sandrafiala@yahoo.com.br

Introdução

Até hoje não existem em éguas dados que indiquem quando os primeiros espermatozóides chegam aos ovidutos. Sabe-se que estes estão presentes no oviduto duas horas após a inseminação, aumentando nas quatro horas e diminuindo após seis horas (Bader, 1980; Bader e Krause, 1982). Fiala et al. (2007) não observaram diferença no número de espermatozóides nos ovidutos em éguas abatidas, 2, 4 ou 24 horas após a inseminação. Os objetivos deste estudo foram verificar o tempo necessário após a IA para que se observem espermatozóides nos ovidutos e sua relação com o ovário que apresenta o folículo dominante.

Material e Métodos

Foram utilizadas 27 éguas com idade inferior a 12 anos, selecionadas de uma população enviada para abate em frigorífico localizado em Pelotas, RS. As éguas foram submetidas a um exame ginecológico e aquelas que apresentavam útero e cervix de estro, folículo ovariano ≥ 35 mm e clinicamente sadias foram inseminadas com sêmen resfriado (500×10^6 espermatozóides). As éguas foram divididas em 4 grupos e abatidas 0,5 (n = 3), 1 (n = 10), 1.5 (n = 4), 2 (n = 10) horas após a IA. O trato genital destas éguas foi removido e os ovidutos dissecados. Os ovidutos foram lavados com 1 mL de PBS e uma amostra foi levada a câmara de Neubauer para contagem de espermatozóides. Para normalização dos dados de número de espermatozóides presentes nos ovidutos estes foram transformados em $\log_{10}(y + 10)$ e analisados por análise de variância. Os dados relativos a número de éguas nos diferentes tratamentos foram avaliados pelo Qui-quadrado.

Resultados e Discussão

Foi observada a presença de espermatozóides nos ovidutos a partir de 30 minutos após a IA. Não houve diferença no número de espermatozóides ($P = 0,27$) ou de éguas com espermatozóides na tuba ($P = 0,26$) em relação ao tempo decorrido após a IA. Espermatozóides foram observados nos ovidutos de 66,7% das éguas independentemente do tempo decorrido da inseminação. Observou-se diferença significativa ($P < 0,01$) no número de éguas com presença de espermatozóides na tuba ipsilateral ao folículo dominante quando comparada com o número de células observadas na tuba contralateral. Entretanto, não se observou diferença ($P = 0,27$) no número de espermatozóides que atingiram o oviduto ipsilateral quando comparado ao número contado no contralateral. Conclui-se que os espermatozóides atingem o oviduto 0,5 horas após a inseminação com preferência pelo ipsilateral ao folículo dominante.

Referências Bibliográficas

- Bader H.** An investigation of sperm migration into the oviducts of the mare. *J. Reprod. Fertil.*, v.32, p.59-64, 1982.
- Bader H, Krause A.** Investigations about the transport, distribution and the fate of the spermatozoa in the genital tract of the mare. In: *International Congress in Animal Reproduction and Artificial Insemination*, 9, 1980, Madrid. Proceedings.... Madrid: ICAR 1980. p.197-205.
- Fiala MS, Pimentel CA, Mattos ALG, Gregory RM, Mattos RM.** Effect of sperm numbers and concentration on sperm transport and uterine inflammatory response in the mare. *Theriogenology*, v.67, p.556–562, 2007.

Palavras-chave: inseminação artificial, égua, transporte espermático.

Keywords: artificial insemination, mare, sperm transport.



Inter-relação entre níveis séricos de tiroxina (T4 total) em éguas PSI gestantes e seus produtos (*Relationship between thyroxin levels (total T4) of PSI pregnant mares and their foals*)

R.B.N. Fuverki, R.R. Weiss, P.R. Muradás, L.E. Kozicki, M.A.P. Finger

Setor de Ciências Agrárias, UFPR
E-mail: muradaspritty@hotmail.com

Introdução

As patologias da tireóide têm um papel importante na reprodução e no estabelecimento de problemas musculoesqueléticos neonatais em eqüinos.

Este trabalho tem como objetivo comparar os níveis hormonais de tiroxina em éguas gestantes e em seus respectivos produtos, após o nascimento; estabelecer uma correlação entre tais níveis; avaliar a relação do horário da coleta de sangue e suas possíveis variáveis nos níveis de tiroxina; observar a existência de relação entre peso/altura dos potros recém-nascidos e níveis de tiroxina total circulante.

Materiais e Métodos

Foram utilizadas 20 (vinte) éguas da raça Puro Sangue Inglês (PSI) e seus respectivos produtos, alocados no Haras Santa Rita da Serra e Haras Tijucas do Sul, em Tijucas do Sul – PR.

Foram colhidos 5 ml de sangue da veia jugular duas vezes ao dia. E em conjunto com as coletas foram aferidos as alturas e o peso dos respectivos potros. O teste utilizado foi o IMMULITE CANINE TOTAL T4 que é um imunoenensaio enzimático de quemiluminescência, com o uso de Analyser Automated, para quantificação da tiroxina circulante. A análise estatística foi de comparação de médias e o teste “T” foi utilizado para avaliar a diferença de médias dos níveis séricos de T4 total no período da manhã e tarde.

Resultados e Discussão

As médias dos valores de T4 total aumentaram com a proximidade do parto. Apesar da variância entre os valores de T4 encontrados, os níveis são significativamente maiores no dia do nascimento dos potros do que os valores encontrados durante seu desenvolvimento o que corrobora com IRVINE, (1984) o qual observou que o potro tem concentrações plasmáticas de T4 cerca de 10 a 20 vezes maiores que o adulto e também superiores às descritas para outras espécies.

Não houve correlação entre os níveis de T4 das éguas e de seus respectivos produtos, devido a grande variância existente entre os níveis séricos referidos, o que impossibilitou a aplicação do teste estatístico de equivalência, entretanto no trabalho de BERGAMASCHI *et al* (2003), houve correlação positiva entre o nível de T4 nas fêmeas bovinas e o tamanho de seus respectivos fetos.

Há um decréscimo da média dos valores de T4 nos potros, o que indica uma estabilização da atividade da tireóide que pode ser explicada devido à diminuição do estresse pós-parto no que se refere à influência desta glândula sobre as funções do SNC.

Referências Bibliográficas

Bergamaschi, M.A.C.M., Vicente, W.R.R., Barbosa, R.T., Marques, J.A., Freitas, A.R., Freitas, A.R. Maternal plasma concentration of triiodothyronine and thyroxine of Nellore females and bovine fetures growth. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, n. 25: 1, pág. 35-39, 2003.

Irvine, C.H.G. Hypothyroidism in the foal. *Equine Vet. J. Missouri, Columbia*, v.16, p.302-306, 1984.

Palavras chave: tiroxina, T4, éguas, neonatos.

Key words: thyroxin, T4, mare, neonates.



Distribuição de espermatozóides e mucinas no sistema genital de cadelas no estro

Distribution of spermatozoa and mucins in genital tract of estrous bitches

L.W. Myrrha, M.C.R. Horta, L.C. Silva, R.T. Peixoto, F.G. Vieira, G.R. Valle*

Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais

E-mail: *guilhermerv@pucminas.br

Introdução

O reservatório espermático tem a importante função de evitar a polispermia, manter a integridade dos espermatozóides e regular o processo de capacitação espermática nas diversas espécies^(1, 2), parecendo ocorrer nas criptas uterinas e nas junções útero-tubáricas na cadela⁽³⁾. Em diversas espécies as mucinas são identificadas como importantes para o processo de fertilização, principalmente no reservatório espermático, atuando no processo de capacitação espermática e contato entre os gametas⁽²⁾. Portanto, o estudo das mucinas na mucosa genital da cadela pode ajudar na identificação do reservatório espermático.

Material e Métodos

Foram artificialmente inseminadas cinco cadelas no estro pós-ovulatório, identificado por citologia vaginal e presença de corpos lúteos nos ovários, com doses inseminantes (400 +/- 170 milhões de spz móveis em 5,0mL) de um cão normospermico, as quais foram depositadas no fundo da vagina das cadelas que, em seguida, eram mantidas com os posteriores elevados por 10 min. Oito horas após as fêmeas foram submetidas a ovariosalpingohisterectomia, obtendo-se 11 fragmentos do trato reprodutivo: cérvix; corpo uterino; terços proximal, medial e distal dos cornos uterinos; junções útero-tubáricas e tubas uterinas. Os espécimens do lado esquerdo tiveram sua luz lavada com solução de formol-salina tamponada a fim de se colher espermatozóides para avaliação morfológica. Todos os fragmentos foram avaliados histologicamente pelas colorações de HE, e amilase-PAS. Foram atribuídos escores de zero a três para a quantidade de espermatozóides presentes e mucinas intra-citoplasmáticas epiteliais e na luz da mucosa genital. Os segmentos anatômicos foram comparados entre si pelo teste de Mann-Whitney e consideradas diferenças significativas ao nível de 5%.

Resultados e Discussão

Observou-se ausência generalizada de espermatozóides nos cortes histológicos, à exceção do útero, onde foram verificados em pequena quantidade no interior das glândulas endometriais, de forma semelhante a estudo anterior⁽⁴⁾. No entanto, a ausência deles na junção útero-tubária contradiz os achados do mesmo artigo⁽⁴⁾. Houve maior quantidade de mucinas intra-celulares e na luz do útero em comparação com os demais órgãos ($P < 0,05$), mas de forma semelhante nas suas diferentes regiões ($P > 0,05$). Não foram visualizados espermatozóides na solução recuperada após lavagem dos cornos uterinos e tubas uterinas, confirmando a pequena quantidade destes na luz genital neste momento. Assim, observou-se que na fase pós-ovulatória do estro os espermatozóides se concentraram na mesma região em que havia maior quantidade de mucinas (Tabela 1), apesar da pequena quantidade de espermatozóides encontrada.

Tabela 1: Escores* médios da presença de espermatozóides e mucinas no sistema genital de cadelas no estro pós-ovulatório.

	cérvix	útero	junção útero-tubárica	tuba uterina
presença de espermatozóides	0,0	0,8	0,0	0,0
quantidade de mucinas intra-celulares	3,0 ^A	2,2 ^A	1,3 ^B	1,0 ^B
quantidade de mucinas na luz	1,0 ^B	1,8 ^A	1,0 ^B	1,0 ^B

Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas ($P < 0,05$);

* 0 = ausência; 1 = pequena quantidade; 2 = média quantidade; 3 = intensa quantidade

Referências Bibliográficas

- 1) Hunter, R.H.F. *Reprod. Dom. Anim.*, v.34, p.227-235, 1999.
- 2) Valle, G.R., Nascimento, E.F. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, v.28, p.119-131, 2004.
- 3) Rijsselaire et al. *Reproduction*, v.128, p.801-811, 2004.
- 4) England, G.C.W. et al. *Theriogenology*, v.66, p.1410-1418, 2006.

Palavras-chave: cão, sistema genital feminino, mucinas, espermatozóides, estro.

Keywords: dog, female genital system, mucins, spermatozoa, estrus.

Financiamento: PROBIC/PUC Minas.

Valores de fibrinogênio em cadelas gestantes

Fibrinogen values in pregnant bitches

C. D. D. Nardo^{1*}, G.M.T. Soto¹, F.F. de Souza², A.L.S. de Moraes¹, C.M. Ruiz¹, D.B. Sousa¹, H. Atique Netto¹

¹Hospital Veterinário “Dr. Halim Atique”, UNIRP, Centro Universitário de Rio Preto, São José do Rio Preto, SP

²UNIFRAN, Universidade de Franca, SP. *E-mail: carladanvt@yahoo.com.br

Introdução

As concentrações de fibrinogênio, uma proteína de fase aguda, aumentam durante a gestação da cadela, com um pico ocorrendo em 5 semanas antes do parto (30 a 35 dias) e um segundo menor pico durante o parto. Nenhuma dessas elevações ocorre durante o mesmo período (diestro) na cadela não-gestante. O objetivo do presente estudo foi avaliar as concentrações de fibrinogênio no sangue de cadelas gestantes, na tentativa de substituir o exame ultra-sonográfico, quando necessário.

Materiais e Métodos

Foram utilizadas 20 cadelas gestantes atendidas na rotina do Hospital Veterinário “Dr. Halim Atique”, UNIRP, Centro Universitário de Rio Preto, sendo 13 gestantes, e 7 em diestro não-gestacional (controle). As cadelas foram divididas em 4 períodos durante o diestro (1. Antes dos 15 dias; 2. Entre 15 e 30 dias; 3. Entre 30 e 50 dias; e 4. Acima de 50 dias de gestação). As cadelas foram avaliadas pela anamnese, exame clínico geral e reprodutivo. Nas gestantes, o exame ultra-sonográfico do útero confirmou a gestação e viabilidade fetal (Fig.1). Nas cadelas do grupo controle, o diestro foi confirmado pela citologia vaginal. O sangue foi colhido por venopunção, com seringa contendo EDTA, e o fibrinogênio foi mensurado pelo método de desnaturação pelo calor.

Resultados e Discussão

Um primeiro pico de fibrinogênio no sangue das cadelas gestantes foi verificado entre 15 a 30 dias de gestação (Fig.2), com um segundo pico próximo ao parto (a partir de 55 a 56 dias de gestação). Estes resultados já têm sido descritos por outros autores nas cadelas, sendo o primeiro pico durante o período de implantação e pico de progesterona. A idade gestacional descrita no histórico foi próxima daquela determinada pelo exame ultra-sonográfico. Contudo, as concentrações de fibrinogênio das cadelas gestantes não diferiram significativamente das amostras controle. Conclui-se que o fibrinogênio não é um exame confiável para diagnosticar a gestação, nas condições e metodologias utilizadas no presente estudo.



Figura 1: Exame ultra-sonográfico de uma cadela com 44 dias de gestação. Imagem longitudinal do feto, com mensuração da largura torácica.

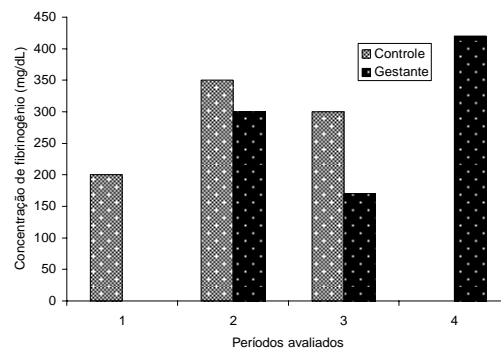


Figura 2: Concentrações de fibrinogênio do grupo controle e das cadelas gestantes em 4 períodos avaliados.

Referências Bibliográficas

- Bunck, C.F.; Mischke, R.; Günzel-Apel, A-R. Investigation of the fibrinolytic system during nonpregnant and pregnant oestrus cycles of bitches. *J. Reprod. Fert. Suppl.*, v.57, p.207-214, 2001.
- Gentry, P.A.; Liptrap, R.M. Influence of progesterone and pregnancy on canine fibrinogen values. *J. Small Anim. Pract.*, v.22, p.185-194, 1981.
- Millar, H.R; Simpson, J.G, Stalker, A.I. An evaluation of heat precipitation method for plasma fibrinogen estimation. *Journal of Clinical Pathology*; v. 24, p. 827-830, 1971.

Palavras chaves: gestação, fibrinogênio, proteína de fase aguda, cadela.

Keywords: gestation, fibrinogen, acute-phase protein, bitch.



Escore Apgar e temperatura corpórea como padrão de vitalidade em neonatos caninos nascidos de eutocia ou cesariana eletiva

Apgar values and body temperature of canine neonates born by eutocia or cesarian section

L.C.G. Silva, C.F. Lúcio, G.A.L. Veiga, J.A. Rodrigues, C.I. Vannucchi

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo
E-mail: liegegarcia@usp.br

Introdução

As falhas de assistência ao parto e aos neonatos são responsáveis por 30% da mortalidade na primeira semana de vida. Os cuidados aos recém-nascidos debilitados são atualmente empíricos e passíveis de causar traumas e contusões. Em Medicina Humana, a avaliação da vitalidade neonatal é realizada por meio do escore Apgar. Este avalia as principais funções vitais durante os primeiros minutos de vida e permite a adequada correção de distúrbios diagnosticados. Foram objetivos deste trabalho avaliar a adaptação da termorregulação e padronizar o escore Apgar no período pós-parto imediato, para neonatos da espécie canina nascidos de eutocia ou cesariana eletiva.

Material e Métodos

Foram utilizados 15 neonatos de raças distintas, sendo 9 nascidos de parto eutócico e 6 por cesariana eletiva. Ao nascimento e após 5 minutos foram aferidos a temperatura corpórea, frequências cardíaca e respiratória, coloração de mucosas, tônus muscular e irritabilidade reflexa. As 5 últimas medidas foram atribuídas notas (0-2), conferindo aos neonatos o escore Apgar de 0 a 10. Os dados foram submetidos a análise de variância para medidas repetidas (ANOVA) com nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

Resultados e Discussão

Os neonatos nascidos de eutocia apresentaram médias \pm DP de temperatura corpórea de 36,04 ($\pm 0,66$) $^{\circ}$ C e 33,5 ($\pm 1,64$) $^{\circ}$ C, ao nascimento e após 5 minutos. Para os nascidos de cesariana, os valores foram 35,16 ($\pm 1,13$) $^{\circ}$ C e 32,6 ($\pm 0,54$) $^{\circ}$ C. Não houve diferença estatística entre os grupos e entre os diferentes tempos, porém as temperaturas após 5 minutos do nascimento foram inferiores àquelas citadas em literatura (34,4 a 36 $^{\circ}$ C). Em neonatos, a termorregulação não é totalmente desenvolvida, pois possuem escassa reserva de tecido adiposo subcutâneo, grande superfície corpórea e baixa capacidade de produzir tremores. O escore Apgar para os nascidos de eutocia foi 6,11 ($\pm 2,14$) ao nascimento e 9,4 ($\pm 0,72$) após 5 minutos e para os nascidos por cesariana, foi de 4,16 ($\pm 0,75$) imediatamente após parto e 8,16 ($\pm 1,3$) aos 5 minutos. Foram encontradas diferenças significativas quando comparado escore Apgar entre os grupos e entre os tempos de avaliação. Assim, neonatos nascidos de parto eutócico apresentaram escore Apgar maior em comparação aos nascidos por cesariana, tanto ao nascimento como após 5 minutos. Justifica-se tal observação pelas depressões cardiorrespiratória e nervosa materna e fetal pelos agentes anestésicos utilizados. Entretanto, observa-se satisfatória recuperação já aos 5 minutos, momento em que o escore Apgar está acima de 7. Conclui-se que neonatos caninos apresentam hipotermia aos 5 minutos após o nascimento, neonatos nascidos de cesariana apresentam menor vitalidade que os nascidos por eutocia e neonatos hígidos evoluem para escore Apgar satisfatório (>7) já aos 5 minutos de vida, independente do tipo de parto.

Referências Bibliográficas

- Freshman JL.** Save those puppies. Neonatal critical care for breeder and technician. Can. Reprod. Symposium., 50-52, 1998
- Moon PF, ERB HN, Ludders JW, Gleed RD, Pascoe PJ.** Perioperative risk factors for puppies delivered by cesarean section in the United States and Canada. J. Am. Anim Hosp Assoc., v. 36, n. 4, p. 259-368, 2000.

Palavras-chave: Apgar, temperatura corporal, cesariana, neonato, cão.

Keywords: Apgar, body temperature, cesarian section, neonate, dog.



Teores séricos do cortisol em cadelas submetidas à cesariana

Seric levels of the cortisol in bitches submit to caesarian section

V. Rodrigues, G.H. Toniollo, P.R. Lopes, J.A. Oliveira, C.A. Oliveira, M.L. Pinto

FCAV/UNESP - Câmpus de Jaboticabal

E-mail: filovet99@yahoo.com.br

Introdução

O teor sérico de cortisol aumenta em resposta a estímulos estressantes, como o parto. Tanto o cortisol da mãe quanto dos fetos está aumentado nessa situação, sendo descritos como um dos fatores desencadeantes do parto (CONCANNON et al., 1989; FELDMAN & NELSON, 1996; TONIOLLO & VICENTE, 1993). Considerando-se a distocia como situação estressante, provável aumento nas concentrações de cortisol sérico pode ocorrer, diferindo da situação encontrada no parto fisiológico. Tendo em vista tais alterações que ocorrerem em animais que necessitam ser submetidos a cesariana, o objetivo deste estudo foi analisar a cinética do cortisol em cadelas.

Material e Métodos

Foi colhido sangue de 15 cadelas atendidas no Setor de Obstetrícia Veterinária do Hospital Veterinário Governador Laudo Natel da FCAV/UNESP, e Clínica Veterinária Bichos e Caprichos Ltda., em Jaboticabal/SP, apresentando distocia, no dia do ato cirúrgico (minutos antes), 24, 48 horas e 10 dias após. Além disso, o sangue de quatro cadelas que apresentaram parto natural foi colhido como controle, sendo a primeira colheita minutos após o nascimento do último filhote, 24, 48 horas e 10 dias depois. Para dosagem de cortisol sérico utilizou-se o método de Radioimunoensaio (RIA) realizado no Laboratório de dosagens Hormonais do Departamento de Reprodução Animal da FMVZ/USP. As médias foram analisadas estatisticamente pelos testes t e Tukey.

Resultados e Discussão

Os valores médios de cortisol sérico obtidos foram 68,28, 18,21, 13,87 e 14,49 ng/mL, no dia da cirurgia, 24, 48 horas e 10 dias após, respectivamente. O coeficiente de variação inter-ensaio foi 10% e intra-ensaio 5,08%. O grupo controle apresentou valores médios de 34,3, 20,1, 23,3, 17,2 ng/mL, após o parto, 24, 48 horas e 10 dias após, respectivamente. A análise estatística revelou diferença significativa entre as médias de cortisol no dia do ato cirúrgico comparadas aos dias subsequentes e ao grupo controle ($p < 0,05$). Porém, não diferiu entre os outros períodos e entre os grupos de animais submetidos à cesariana ou com parto eutócico. Sabendo-se que em uma situação normal as concentrações do cortisol materno, na última semana de gestação, é 40-80 ng/mL, reduzindo para 10-25 ng/mL durante o parto (CONCANNON, 1989) e os valores encontrados revelaram uma concentração mais elevada no dia da cesariana, pode-se concluir que o estresse devido a distocia elevou a liberação desse hormônio, voltando a normalidade nos dias subsequentes. Também concluímos que o estresse cirúrgico não promoveu aumento na liberação de cortisol em cadelas submetidas à cesariana e os animais do grupo controle apresentaram teores séricos de cortisol, nos devidos períodos, compatíveis com os citados pela literatura.

Referências Bibliográficas

- Concannon, P. D., McCann, J. P.** Temple, M. Biology and endocrinology of ovulation, pregnancy and parturition in the dog. *Journal of Reproduction Fertility*, Cambridge, v.39, Suppl., p.3-25, 1989.
- Feldman, E. D., Nelson, R. W.** Canine and Feline Endocrinology and Reproduction, 2 ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1996. 778p.
- Toniollo, G. H.; Vicente, W. R. R.** Manual de Obstetrícia Veterinária. São Paulo: Varela. 1993. 126p.

Palavras chaves: cortisol, cadelas, cesariana.

Key words: cortisol, bitches, caesarian section.



Equilíbrio ácido-base venoso e bioquímica sanguínea em neonatos da espécie canina – dados preliminares

Venous acid-base balance and biochemical analysis of canine neonates – preliminary data

C.F. Lúcio, L.C.G. Silva, J.A. Rodrigues, G.A.L. Veiga, C.I. Vannucchi

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo
E-mail: cristinalucio@usp.br

Introdução

Estudos sobre o equilíbrio ácido-base e bioquímica sanguínea em neonatos são escassos. A disponibilidade destas referências permitirá diferenciar valores fisiológicos de alterados e indicará a necessidade de intervenção. Desta forma, são objetivos deste estudo: padronizar os valores hemogasométricos e bioquímicos de neonatos hígdidos e realizar uma análise temporal destas variáveis ao nascimento e após 1 hora de vida.

Material e Métodos

Foram colhidas amostras de sangue da veia jugular de 7 neonatos, ao nascimento e após 1 hora, e imediatamente destinadas ao aparelho de hemgasometria i-STAT (Abbott®) para avaliação de: pH, PO₂ (mmHg), PCO₂ (mmHg), HCO₃ (mmol/L), BE (base excess-mmol/L), SO₂ (%), Hb (hemoglobina-g/L), Ht (hematócrito-%), glicemia (mg/dl), Na⁺ (mmol/l), K⁺ (mmol/l), iCa (mmol/l), Cl⁻ (mmol/l) e uréia (g/dl). Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) com nível de significância de 5% (p<0,05).

Resultados e Discussão

Tabela 1– Médias e desvio padrão das variáveis hemogasométricas de neonatos ao nascimento e após 1 hora.

	PH	PCO ₂	HCO ₃	BE	PO ₂	SO ₂	Hb	Ht	glicemia
Ao nascimento	7,14 * (±0,08)	50,54* (±6,92)	17,54* (±3,86)	-1,57* (±5,03)	21,57 (±6,95)	25 (±12,27)	16,3 (±1,67)	48 (±4,89)	75 (±46,28)
Após 1 hora	7,33* (±0,02)	39,76* (±5,12)	21,54* (±2,76)	-5* (±3,21)	16,83 (±5,12)	29,33 (±14,49)	16,7 (±1,89)	49 (±5,52)	98 (±68,79)

* p < 0,05

Ao nascimento, os neonatos encontravam-se em acidose metabólica, caracterizada pelo baixo pH, HCO₃ e BE; mas não do tipo respiratória, pois a PCO₂ era normal. Após 1 hora, verificou-se recuperação destes valores metabólicos. A acidose deve-se às contrações uterinas no parto, pois reduzem a circulação fetal, levam à hipóxia e formação de ácido láctico por anaerobiose. Os neonatos apresentam taquipnéia para compensação da acidose, como forma de eliminação de CO₂ e tamponamento do H⁺ livre pelo bicarbonato. Portanto, mesmo com a PO₂ e SO₂ baixas, há compensação. A hipóxia fetal acarreta em policitemia secundária e aumento da hemoglobina circulante para tamponamento. Foi possível estabelecer as referências: Na⁺=138,57(±11,39), K⁺=4,03(±0,45), Cl⁻=111,29(±1,7), iCa=1,57(±0,04), U=7,0(±1,0). Conclui-se que a acidose metabólica ao nascimento parece ser fisiológica em neonatos caninos e a recuperação inicia-se em até 1 hora. As avaliações bioquímicas demonstram adequada transição neonatal para o meio extra-uterino.

Referências Bibliográficas

- Bailey, J.E., Pablo, L.S. Practical approach to acid-base disorders. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v.28, n. 3, p. 645-662, 1998.
Day, T.K Blood gas analysis. **Veterinary Clinics of Small Animal**, v. 32, p. 1031-1048, 2002.
ROBERTSON, S.A. Simple acid-base disorders **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 19, n. 2, p.289-306, 1989.

Palavras-chave: neonato, hemogasometria, bioquímica sanguínea, acidose metabólica, cão.

Keyword: neonate, hemogasometry, biochemical analysis, metabolic acidosis, canine.



Avaliação ultra-sonográfica da placenta de cadelas

Ultrasound evaluation of canine placenta

L.D.M. Silva

Laboratório de Reprodução de Carnívoros - UECE

E-mail: lucia.daniel.machado@hotmail.com

Introdução

A placenta, embora seja um órgão temporário, ela é essencial para a sobrevivência do embrião e feto no curso de seu desenvolvimento intra-uterino. Apesar de a placenta ser um órgão único, ela caracteriza-se por apresentar múltiplas funções essenciais para a sobrevivência do ser. Nesse sentido, estudos referentes à placenta ganham importância no entendimento do desenvolvimento fisiológico ou patológico de uma gestação. Com o advento da ultra-sonografia, esse recurso passou a ser largamente utilizado como instrumento para o acompanhamento gestacional nas diferentes espécies de mamíferos domésticos. No entanto, a avaliação específica da placenta por meio da ultra-sonografia em cadelas tem sido pouco explorada. Portanto, o objetivo do presente trabalho foi apresentar um estudo preliminar das características macroscópicas (ecogenicidade e espessura) de placentas de cadelas avaliadas por meio da ultra-sonografia trans-abdominal.

Material e Métodos

Foram realizadas 31 avaliações de placentas por meio da ultra-sonografia trans-abdominal, em 27 cadelas de diferentes raças e sem raça definida com idade gestacional variando de 30 a 65 dias pós-cobertura. Para tanto, foi utilizado um aparelho de ultra-sonografia da marca SHIMADZU, modelo SDL-32 e uma sonda linear de 5,0 MHz. A ecogenicidade foi expressa sob a forma descritiva e os dados referentes à espessura da placenta foram apresentados sob a forma de média e desvio padrão, utilizando-se o Statview 5.0.

Resultados e Discussão

A placenta foi identificada de forma evidente a partir do 34º dia de gestação, tendo sido avaliada até o 65º dia. No entanto, vale à pena ressaltar que em quatro cadelas examinadas nos dias 58, 59, 64 e 65 da gestação, não foi possível a identificação da placenta. Isso se deveu, provavelmente, devido ao aumento do tamanho do feto, ocupando toda a largura central da ampola gestacional com conseqüente deslocamento dos líquidos fetais para as extremidades da ampola, provocando um efeito de compressão da placenta, dificultando a sua visualização por meio da ultra-sonografia. A ecogenicidade placentária em todas as avaliações apresentou-se hipoeecóica, independentemente do período gestacional e sua espessura média foi de $6,22 \pm 1,65$ mm. Segundo Yeager et al. (1992), a placenta zonária distinta pode ser identificada à ultra-sonografia a partir do dia 27 a 30 da gestação como um espessamento focal e cilíndrico, tornando-se evidente a partir do dia 36. Em um estudo efetuado em gatas, assim como no presente trabalho, foi observada a não variação da ecogenicidade placentária ao longo da gestação (Zambelli et al., 2002). Conclui-se que em gestações normais em cadelas, a ecogenicidade placentária não varia e que a espessura placentária varia pouco, independentemente do período gestacional e da raça.

Referências Bibliográficas

Yeager AE, Mohammed HO, Meyers-Wallen V et al. Ultrasonographic appearance of the uterus, placenta, fetus and fetal membranes throughout accurately timed pregnancy in Beagles. *American Journal of Veterinary Research* 53, 342-351, 1992.

Zambelli D, Caneppele B, Bassi S, Paladini C. Ultrasound aspects of fetal and extrafetal structures in pregnant cats *Journal of Feline Medicine and Surgery* 4, 95-106, 2002.

Palavras-chave: placenta, ultra-sonografia, cadela, gestação.

Keywords: placenta, ultra-sonography, bitch, pregnancy.

Quantificação do conteúdo protéico do fluido tubárico obtidos em diferentes fases do ciclo estral da cadela

Quantification of the protein content in oviduct secretion obtained in different phases of estral cycle of bitch

A.A.P. Derussi¹, F.F de Souza^{2,3}, V.H. Chirinea^{1,2}, M.D. Lopes¹

¹Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária – FMVZ, UNESP, Botucatu, SP. ²FertCani – Serviço Veterinário Especializado em Reprodução de Cães e Gatos. ³UNIFRAN – Universidade de Franca, Franca, SP
e-mail: ana_pagnano@yahoo.com.br ou denise@fmvz.br

Introdução

A composição da secreção tubárica é associada às necessidades dos gametas e embriões, pois, tanto ovócitos quanto espermatozoides chegam ao oviduto e sofrem influência do meio (Aguillar & Reyley, 2005). Numerosos compostos isolados do fluido do oviduto são muitas vezes adicionados no meio de maturação e fertilização in vitro, tendo como objetivo mimetizar a composição bioquímica desse microambiente (Killian, 2004).

Material e Métodos

Foram realizados lavados da tuba uterina (flushing tubárico) colhidos de 39 cadelas, após a ovariectomia eletiva, em diferentes fases do ciclo estral, utilizando solução fisiológica 0,09%. As amostras obtidas foram armazenadas a temperatura inferior a -18°C . Após descongelação, as amostras foram centrifugadas (20.000xg, 10 min/4°C) e foi preparado um pool das soluções correspondentes à cada fase do ciclo estral. As fases estudadas foram pré-pubere (PP), folicular (FOL), diestro (DIE), diestro gestacional (DIG) e anestro (ANE). As concentrações de proteínas totais foram determinadas, em duplicata (método do ácido bicinonínico) (Fig 1). O SDS PAGE foi realizado em gel de separação a 12% (Fig 2). Os géis foram corados com prata e analisados quanto ao peso molecular num programa computadorizado.

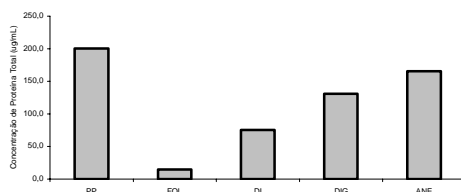


Figura 1: Valores referentes à concentração de proteína total das amostras analisadas



Figura 2: SDS – PAGE a 12% de poliacrilamida

1= MARCADOR 2= DIE 3= DIG 4= PP 5= FOL 6= ANE 7= MARCADOR

Foram encontradas 30 bandas com peso molecular variando de 170,8 kDa a 8,9 kDa. Foi observada uma concentração de proteína total de 14,7 µg/ml na fase folicular, 200,7 µg/ml nas cadelas pré-púberes, 75,7 µg/ml na fase do diestro, 130,7 µg/ml na gestação e 165,7 µg/ml no anestro. A fase folicular do ciclo foi a que apresentou menor concentração de proteínas, 13,65 vezes menor do que as cadelas pré-púberes; 5,14 vezes menor que no diestro, 8,9 vezes menor que as fêmeas gestantes e 11,27 vezes menor que do anestro. A menor concentração de proteínas nos lavados das tubas uterinas de cadelas na fase folicular abre expectativas de pesquisas nessa área, e esses resultados talvez tenham relação com os níveis elevados de estrógeno, presente nesta fase. Análise detalhada será realizada em estudos posteriores.

Referências Bibliográficas

- Killian, G.J.** Evidence for the role of oviduct secretion in sperm function, fertilization and embryo development. *Animal Reproduction Science*. v. 82-82, p. 141-153, 2004
- Aguillar, J; Reyley, M.** The uterine tubal fluid: secretion, composition and biological effects. *Animal Reproduction*. v.2, n.2, p. 91-105, 2005.

Palavras-chave: fluido, oviduto, eletroforese, cadelas.

Keywords: secretion, oviduct, eletroforese, bitch.



Sexual development of the eyespot skate *Atlantoraja castelnaui* (Ribeiro, 1907)

*Desenvolvimento sexual da raia-chita *Atlantoraja castelnaui* (Ribeiro, 1907)*

M.C. Oddone¹, G. Velasco², A.F. Amorim³

^{1,2}Universidade Estadual Paulista, Inst. de Biociências, Dept. de Ecologia, ³Instituto de Pesca de Santos
E-mail: cristina_oddone@yahoo.com

Introduction

Atlantoraja castelnaui, ranges from Rio de Janeiro in Brazil to northern Argentina being especially common in the southernmost area of its occurrence range, belonging to the South Brazilian and Bonaerensean districts where it is the largest and one of the most common rajids (Menni, 1973, 1981; Figueiredo, 1977).

Material and Methods

Specimens of *A. castelnaui* were monthly collected in commercial fisheries landings at Guarujá, São Paulo State, Brazil, from March of 2005 to April of 2006. Maturity of the males was assessed analysing the relationship between clasper length (CL) and total length (TL) and by manually registering the calcification degree of the claspers. For the females the variables considered were the presence of egg capsules in uteri (egg-bearing females) or cloaca, and vitellogenic follicles in the ovaries.

Results and Discussion

Males ranged from 17.9 to 111.0 cm (mean=65.3, SD=23.6, n=53) and females from 17.4 to 116 cm (mean=68.0, SD=24.8, n=55) TL. According to the relation between CL and TL, males attained maturity at ~95 cm TL. The range 80-100 cm of TL corresponds with the adolescent phase, being from 100 cm TL onward all mature. For the females, vitellogenesis was observed from 96 cm TL onward. Egg bearing females were observed from 109 cm TL onward, resulting the size at maturity in ~110 cm TL. Oddone *et al.* 2005 observed that off Uruguay, this species mature at 93 and 112 cm TL, males and females respectively. Specimens of *A. castelnaui* are commonly landed and commercialised in Santos and Guarujá and because of the intensive fisheries, *A. castelnaui* became an endangered species (Hozbor, 2004). Because of this, reproductive assessment is crucial for the conservation of this species and requires a quantitative approach to the study of reproductive biology being the size-at-maturity a key parameter to be estimated (Walker, 2005).

Referências Bibliográficas

- Figueiredo LL.** 1977. Manual de Peixes Marinhos do Sudeste do Brasil. Introdução, cações, raias e quimeras. Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo. 104 pp.
- Hozbor N, Massa A, Vooren, CM.** 2004. *Atlantoraja castelnaui*. In: IUCN 2006. 2006 IUCN Red List of Threatened Species. www.iucnredlist.org. Accessed in Feb 12th 2007.
- Oddone MC.** Paesch L, Norbis, W. 2005. Length at first sexual maturity of two species of rajoid skates, genera *Atlantoraja* and *Dipturus* (Pisces, Elasmobranchii, Rajidae), from the Southwestern Atlantic Ocean. *J Applied Ich*, 21(1): 70-72.
- Menni RC.** 1973. Rajidae del litoral bonaerense. I. Espécies de los géneros *Raja*, *Bathyraja* y *Sympterygia* (Chondrichthyes). *Physis A*, 32 (85): 413-439.
- Menni RC, López HL, García, L.** 1981. Lista comentada de las especies de peces colectadas durante la campaña V del B/I "Shinkai Maru" en el Mar Argentino. *Contribuciones del Instituto Nacional de Investigaciones Pesqueras N° 383*: 267-280.
- Walker TI.** 2005. Reproduction in fishery science. Pp 81-127. In: Hamlet, W. C. (Ed). *Reproductive biology and phylogeny of chondrichthyans, sharks, batoids and chimaeras*. Science Publishers, Inc. Enfield, 562 p.

Keywords: skates, clasper, size-at-maturity, reproduction.

Palavras-chave: raias, clasper, tamanho de maturidade, reprodução.



Taxa de fertilidade do pacu em diferentes períodos reprodutivos

Fertility rate of pacu in different reproductive periods

J.M.A. Silva, L.D.S. Murgas, M. Guidotti, V.O. Felizardo, G.J.M. Pereira, M.M. Drumond

Departamento de Medicina Veterinária-Universidade Federal de Lavras

E-mail: juliana_milan@yahoo.com.br

Introdução

O pacu (*Piaractus mesopotamicus*) pertence ao grupo das primeiras espécies produzidas em cativeiro (Crescêncio, 2005). Esta é uma das espécies preferidas por pescadores. Sua criação em cativeiro pode ser destinada aos repovoamentos de reservatórios, visando à redução de impactos gerados pelo represamento dos rios ou para comercialização. É uma boa opção para o processamento de pescados, tendo grande aceitação pelo mercado consumidor (Szenttamásy et al., 1993). Objetivo deste estudo foi avaliar a taxa de fertilidade do pacu em diferentes períodos (novembro, dezembro, janeiro), de dois anos reprodutivos.

Material e Métodos

O estudo foi conduzido no Laboratório de Reprodução da Estação Ambiental de Itutinga da Companhia Energética de Minas Gerais (EAI-CEMIG), durante a época reprodutiva nos meses de novembro, dezembro e janeiro em dois anos reprodutivos (ano I: 2004/2005; ano II: 2005/2006). Foram utilizados dez reprodutores de pacu. A partir de novembro de cada ano reprodutivo, semanalmente foram selecionados reprodutores que possuíam a cavidade celomática abaulada e papila urogenital hiperêmica. Estes foram transferidos para aquários de alvenaria de 2.000L e foram submetidos ao tratamento hormonal com extrato bruto de hipófise de carpa em duas aplicações de 0,5 e 5,0 mg de EBHC kg⁻¹ de peso corporal, para a liberação dos gametas.

Foi realizada a fertilização a seco, em seguida os ovos foram armazenados em incubadora (tipo cônica). Após oito horas, foi avaliada a taxa de fertilidade através de duas amostragens de ovos retirados da incubadora. Contou-se cerca de 100 ovos, considerado como taxa de fertilização a média das amostragens, segundo a fórmula: Taxa de fertilização = $[E / (E + i)] \times 100$; E = número de embriões viáveis; i = número de ovos inviáveis. Utilizou-se um delineamento inteiramente casualizado, com 5 repetições. Os dados foram interpretados estatisticamente por meio de Teste de Kruskal-Wallis, com o nível de significância de 5%. Sendo que as médias foram avaliadas pelo teste não paramétrico de Comparações Múltiplas ao nível de 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão

Somente no ano II foi possível detectar diferença nas taxas de fertilidade, para os três períodos reprodutivos. A taxa de fertilidade em dezembro, 94,9%, foi significativamente diferente ($P < 0,05$) de novembro, 48,4%. E a taxa de fertilidade em janeiro foi de 91,2 %. Os valores mais baixos, tanto da temperatura quanto da precipitação, registrados no período de novembro podem ter sido negativos para a qualidade dos gametas resultando na baixa taxa de fertilidade neste mês no ano II, enquanto que o ano I apresentou valores climatológicos semelhantes e taxas de fertilidade iguais ($P > 0,05$), nos meses avaliados. A taxa de fertilidade é um parâmetro reprodutivo influenciado por fatores alheios (genética, alimentação, clima, etc.), combinados ou não, à qualidade dos gametas. Portanto, sua análise é dependente da homogeneidade das condições no momento da fertilização.

Referências Bibliográficas

- Crescêncio, R. Ictiofauna brasileira e seu potencial para criação. In: BALDISSEROTO, B.; GOMES, L. de C. (Org.). Espécies nativas para a piscicultura no Brasil. Santa Maria: editoraufsm, 2005.
- Szenttamásy, E. R., Barbosa, S. M. V. B., Oetterer, M., Moreno, I. A. M. Tecnologia do pescado de água doce: Aproveitamento do pacu (*Piaractus mesopotamicus*). Scientia Agricola, Piracicaba, SP, v. 50, n. 2, p. 303-310, jun./set. 1993.

Palavras-chave: *Piaractus mesopotamicus*, reprodução, aspecto reprodutivo.

Keywords: *Piaractus mesopotamicus*, reproduction, reproductive aspect.



Atividade estrogênica e anti-estrogênica do extrato hidro-alcoólico da vagens do Tamboril (*Enterolobium contortisiliquum*) em ratas

*Estrogenic and anti-estrogenic activity of Tamboril (*Enterolobium contortisiliquum*) string bean hidro-alcoholic extract in female rats*

R.M.Amaral, A.P.R. Costa, S.R.G. Silva, F.S. Cardoso, S.R.S. Lira, M.C.S. Muratori

Depto. de Morfofisiologia Veterinária-CCA/UFPI
e-mail: amilfox@uol.com.br

Introdução

A existência de atividade estrogênica e anti-estrogênica em plantas de uso na alimentação animal pode representar, além de possíveis indicações terapêuticas, efeitos colaterais indesejáveis sobre a reprodução. A vagem de tamboril é amplamente consumida pelos ruminantes no Nordeste brasileiro e possui atividade pró-inflamatória (FARIA NETO et al, 1991), contém enterolosaponinas (MIMAKI et al, 2003) e houve casos de abortamento devido a sua ingestão (TOKARNIA et al, 1999). Sabendo-se que os estrógenos são potencialmente abortivos, o objetivo deste trabalho foi investigar uma possível atividade estrogênica ou anti-estrogênica nas vagens Tamboril sobre o sistema reprodutivo de fêmeas.

Material e Métodos

As vagens foram trituradas e submetidas a três extrações sucessivas em etanol a 70% e em seguida o extrato foi concentrado em evaporador rotatório a 50° C. No experimento, foram utilizadas ratas Wistar adultas castradas pesando entre 220 – 300g, criadas e mantidas no Biotério do CCA/UFPI, em regime de 12 horas de luz e 12 horas de escuridão, em sala com ar condicionado e livre acesso a água e ração (FRI-LAB Ratos – Fri-Ribe). As ratas foram ovariectomizadas sob anestesia com halotano e após de 30 dias de pós-operatório, foram divididas ao acaso, em 4 grupos experimentais e submetidas aos respectivos tratamentos: G1 (salina + óleo de milho); G2 (salina + estradiol); G3 (extrato hidro-alcoólico de vagens de Tamboril-EHAT+óleo de milho) e G4 (EHAT + estradiol). O tratamento teve duração de 4 dias e no 5º dia, as ratas de todos os grupos foram sacrificadas (com halotano) e os úteros removidos e pesados. Os resultados foram submetidos a análise de variância e teste de Student Newman-Keuls.

Resultados e Discussão

Os resultados de peso uterino, em g/100g de peso corporal (expressos em média ± desvio padrão), foram: G1= 73,3±24,2; G2= 146,7±21,6; G3= 48,6±10,7 e G4= 125,7±19,0. Na análise estatística, não foi observado diferença significativa entre os grupos G2 e G4, porém a média do G3 foi significativamente inferior ao G1, o que sugere uma possível atividade anti-estrogênica do extrato, antagonizando o efeito do estrógeno residual, de fontes não ovarianas.

Referências Bibliográficas

- Tokarnia C.H., Döbereiner J., Dutra I S., Brito I.S., Chagas B.R., França T.N., Brust L.A.G.** Experimentos em bovinos com favas de *Enterolobium contortisiliquum* e *E. timbora* para verificar propriedades fotossensibilizantes e/ou abortivas. *Pesquisas Veterinária Brasileira*, v 19 n.1 p.20-25, 1999.
- Faria Neto H.C.C., Martins M.A, Bozza P.T., Perez S. A, Silva A.C.C., Lima M.C., Cruz H.N., Cordeiro R.S., Sousa M.V., Morhy L.** Proinflammatory activity of enterolobin: a haemolytic protein purified from seeds of the Brazilian tree *Enterolobium contortisiliquum*. *Toxicon: official journal of the International Society on Toxinology*, v. 29, n. 9, p.1143-1150, 1991.
- Mimaki Y., Harada H., Sakuma C., Haraguchi M., Yui S., Kudo T., Yamazaki M, Sashida Y.** Enterolasaponins A and B, novel triterpene bisdesmosides from *Enterolobium contortisiliquum*, and evaluation for their macrophage-oriented cytotoxic activity. *Bioorg Med Chem Lett*, v. 13, n.4, p.623-627, 2003.

Palavras-chave: fitoestrógeno, flavanóide, estrógeno.

Keywords: fitoestrogen, flavanoid, estrogen.



Avaliação andrológica de bovinos leiteiros na Região Sul do Estado do RJ

Andrological evaluation in dairy bulls in the State of RJ's Southern Region

J. Almeida¹, A.M.A. Gabriel¹, V.L.T. Jesus², J.E. Trés², F.R.C. Nogueira¹, O.A. Resende¹

¹Curso Medicina Veterinária do UBM, Barra Mansa RJ, ²UFRRJ, Seropédica, RJ.

E-mail: jacialmeida01@yahoo.com.br

Introdução

Na exploração da pecuária, o retorno econômico está diretamente relacionado com a reprodução. Por isso, o uso de touros subfêrteis e infêrteis é extremamente prejudicial para a exploração leiteira. Há casos em que touros com aparência saudável podem ter problemas de fertilidade e não ser identificado até o final do período reprodutivo, quando um número alto de vacas vazias é identificado (Amann et al., 2000). Avaliação andrológica dos touros na exploração pecuária do Sul do Estado do Rio de Janeiro esta sendo realizada, usando o programa de Classificação Andrológica por Pontos - CAP (Melo, 1999).

Material e Métodos

No período 2002/04 foram avaliados andrologicamente touros em propriedades leiteiras em regime extensivo de monta natural contínua. Os exames andrológicos completos foram realizados seguindo as normas do CBRA (1998) e do CAP (Melo, 1999). Na colheita do ejaculado usou-se a eletro-ejaculação e/ou massagem das ampolas dos ductos deferentes. Os ejaculados foram avaliados imediatamente nas propriedades, sendo a concentração e a morfologia espermática no laboratório.

Resultados e Discussão

Em 22 propriedades na região Sul do Estado do Rio de Janeiro foram avaliados andrologicamente 35 touros leiteiros de várias raças, conforme os dados médios apresentados na Tab.1, sendo observados touros com reações positivas para brucelose (1) e campilobacteriose (5). A eficiência reprodutiva na maioria dos rebanhos trabalhados foi baixa, sendo os manejos inadequados (escassez de pastagem, touros de diferentes raças no mesmo lote, baixa relação touro: vaca e touros com idade acima de 5 anos); touros acasalando com filhas; circunferência escrotal (CE) abaixo da média para as raças; raças apresentaram baixas taxas de aptidão reprodutiva; nem todos os touros classificados como satisfatórios estavam aptos e vice-versa, ressaltando a relevância do exame andrológico completo, uma vez que a avaliação da CE não foi suficiente para determinar a aptidão reprodutiva de todos touros examinados; bem como a necessidade da implantação de uma rotina de exames andrológicos nas propriedades leiteiras, considerando a pouca disponibilidade de dados nacionais na literatura.

Tab. 1 – Valores ($\bar{M} \pm$ sd.) para avaliação andrológica de touros leiteiros na região Sul Fluminense – RJ.

Raça	N	Idade (m)	CE (cm)	Mot (%)	Vigor(e)	CAP	Satisf. (%)	Aptos(%)
Gir	14	97,6 \pm 33,6	38,1 \pm 3,6	64,2 \pm 15,2	2,9 \pm 1,2	74,0 \pm 11,4	85,7	21,4
Guzerá	4	30,2 \pm 8,3	35,1 \pm 4,8	72,5 \pm 17,0	3,7 \pm 1,8	89,2 \pm 15,5	100,0	100,0
Holandês	7	64,1 \pm 27,9	40,0 \pm 4,3	60,0 \pm 28,2	3,7 \pm 1,2	73,2 \pm 15,1	85,7	57,1
Jersey	4	38,7 \pm 23,5	38,1 \pm 4,2	77,5 \pm 12,5	4,7 \pm 0,5	87,2 \pm 10,5	100,0	75,0
Outros	6	34,8 \pm 18,9	33,9 \pm 6,8	75,0 \pm 10,0	3,5 \pm 0,5	65,4 \pm 29,5	50,0	33,3
TOTAL	35	66,0 \pm 38,4	37,4 \pm 4,8	67,3 \pm 18,4	3,5 \pm 1,2	75,7 \pm 18,1	82,9	48,6

Outros = Mestiços (2); Girolando (2) e Pardo Suíço (2); \bar{M} = média; sd = Desvio padrão; (e) escore 1-5.

Referências bibliográficas

- Amann, R. P. *et al.* Fertilizing potential in vitro of semen from young beef bulls containing a high or low percentage of sperm with a proximal droplet. *Theriogenology*, v. 54, p. 1499 – 1515, 2000.
CBRA. Manual para Exame Andrológico e Avaliação de Sêmen Animal. 2 ed, n. 21, p. 1-49, BH, 1998.
Melo, M.I.V. CAP - *Classificação Andrológica Pontos* - SOFTWARE CAP-V 1.0., BH, MG, 1999.

Palavras-chave: Touros leiteiros. Exame andrológico. Potencial reprodutivo.

Keywords: Dairy bulls. Andrological exam. Reproductive potential.



Aspectos seminais e anatômicos do aparelho reprodutor da raça Canchim aos 14 e aos 48 meses de idade

Seminal and anatomical aspects of the reproductive system of Canchim breed with ages of 14 and 48 months

M.G.M. Chacur, M.C. Araújo, S.N. Kronka

Depto. Reprodução Animal, FCA-UNOESTE, CEP: 19067-175, Pres. Prudente-SP, Brasil
E-mail: chacur@unoeste.br

Introdução

A seleção de reprodutores precoces assume a cada dia maior importância dentro dos rebanhos rentáveis economicamente. Mensurações dos parâmetros perímetro escrotal e do índice de massa corpórea, revelam ser aliados importantes na seleção de touros. O objetivo desse estudo foi investigar as características dos ejaculados e as mensurações anatômicas do trato reprodutivo da raça Canchim aos 14 e 48 meses de idade.

Material e Métodos

Foram utilizados 20 touros da raça Canchim, criados extensivamente na região de Presidente Prudente-SP, mantidos em pastagem de *Brachiaria decumbens*, com sal mineral e água *ad libitum*. O experimento foi realizado em dezembro, os touros foram divididos em grupo 1 (G1=10 animais com 14 meses) e grupo 2 (G2=10 animais com 48 meses). Obteve-se: peso médio, perímetro escrotal, distância do óstio prepucial em relação ao solo, altura da cernelha e índice de massa corpórea calculado pela expressão: $IMC = \text{peso (kg)} / \text{altura da cernelha (m)}^2$; e características seminais. As amostras de sêmen foram colhidas pelo método da eletroejaculação.

Resultados e Discussão

Houve diferença significativa ($P < 0,05$) entre os grupos para PE, IMC, peso, DPRC e AC (Tabela 1). Não houve diferença significativa ($P > 0,05$) para os parâmetros seminais entre os grupos G1 e G2, com as respectivas médias: volume 4,38mL e 5,06mL; motilidade 36,2% e 41,7%; vigor 1,54 e 1,63; defeitos menores 3,02% e 2,10%; defeitos maiores 2,81% e 2,65%; e defeitos totais 4,15% e 3,28%. No presente trabalho a motilidade e o vigor foram inferiores aos descritos na raça Limousin, criada na mesma região (1).

Tabela 1 – Médias do perímetro escrotal (PE), índice de massa corpórea (IMC - kg/m^2), peso, comprimento do óstio até a base do prepúcio (CP), distância do óstio prepucial em relação ao solo (DPRS) e altura da cernelha (AC), em touros Canchim dos grupos G1 (14 meses) e G2 (48 meses)

Grupos	PE (cm)	IMC	Peso (Kg)	CP (cm)	DPRS (cm)	AC (m)
G1 (n=10)	31,80 b	270,33 b	445,5 b	11,1 a	50,4 a	1,28 b
G2 (n=10)	36,25 a	346,73 a	706,2 a	11,8 a	49,6 a	1,43 a
Teste F	10,72**	34,71**	136,41**	0,46 ^{ns}	0,29 ^{ns}	50,70**
C.V. (%)	8,93	9,40	8,67	20,22	6,65	3,37

a,b – mesma letra na coluna, não diferem - Tukey (5%); ns- não significativo a 5%, ** - significativo a 1%.

Supostamente a inatividade sexual e o período de verão onde foi realizado o experimento possam ter influenciado nas características qualitativas e quantitativas do sêmen. Conclui-se que garrotes Canchim de 14 meses de idade são púberes, porém, com desenvolvimento anatômico do aparelho reprodutor ainda incompleto.

Referências bibliográficas

(1) Chacur, M.G.M., Rabesquine, M.M., Parra, J.A. & Machado Neto, N.B. (2003) Brazilian Journal of Animal Reproduction. 27: 185-186

Palavras-chave: touros, sêmen, aspectos anatômicos, desenvolvimento reprodutivo.

Keywords: bulls, semen, anatomical aspects, reproductive development.



Interferência dos sistemas de manejo alimentar para produção de touros Nelore em condições tropicais

Interference of management feeding system for Nelore Bull production in tropical conditions

M. Piagentini¹, S.S. Assaf¹, R.L. Ereno¹, J.T. Vasconcelos², R.A.M.S. Silva¹, E. Oba¹

¹Departamento de Radiologia Veterinária e Reprodução Animal da FMVZ/UNESP – Botucatu, SP. euniceoba@fmvz.com.br

²Department of Animal and Food Sciences Texas Tech University - Texas, EUA. Judson.vasconcelos@ttu.edu

Introdução

Dentre os sistemas de criação mais executados para obtenção de touros precoces estão o semiconfinamento e o confinamento ou “bunk management” (Vasconcelos, 2006), apesar disso, em condições tropicais ainda predomina o sistema de criação extensiva em pastagens naturais. Por essas razões, uma questão ainda é polêmica para médios e grandes produtores: Estabelecer um método econômico e eficaz para se produzir touros Nelore, em conformidade com as condições tropicais verificadas no Brasil. No sistema de manejo a campo, ainda existe uma série de fatores envolvidos tais como: manejo adequado do pasto, idades, raças, sexo, variação no aproveitamento dos nutrientes pelo animal durante o ano, variação na qualidade da pastagem, além da escassez de pastagens nativas apropriadas (Fuerst-Waltl et al., 2006). Objetivou-se avaliar a influência do sistema de manejo alimentar na produção de touros Nelore em condições tropicais através das concentrações de cortisol e os níveis de colesterol, proteínas totais e triglicérides, nos sistemas de manejo a campo, semiconfinamento e confinamento.

Materiais e Métodos

Um grupo de 41 touros Nelore (*Bos indicus*), com idade entre 18 e 24 meses de idade, foram criados sob três sistemas de manejo alimentar com dietas energéticas diferentes: T1 – 14 animais do sistema de manejo a campo permaneceram em pastagens de *Brachiaria brizantha* desde o nascimento e receberam suplementação com sal proteinado no período de seca; T2 – 11 animais do sistema de manejo semiconfinamento ficaram em pastagem de *Brachiaria brizantha* e receberam silagem de cana-de-açúcar triturada e 2 Kg de ração ao dia, 90 dias antes da fase de terminação e T3 – 16 animais do sistema de manejo confinamento receberam ração balanceada e silagem de milho como complemento. As amostras de soro para determinação da proteína total, triglicérides e colesterol foram analisadas através de teste calorimétrico de diagnóstico seguindo metodologia descrita nos kits comerciais da Bioclin[®]. As amostras de sangue com heparina foram quantificadas em suas concentrações plasmáticas de cortisol, através de procedimento de radioimunoensaio (RIA) utilizando kits comerciais para cortisol, fase sólida (Coat-A-Count[®] Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, EUA). Para comparar as concentrações de cortisol, e os níveis médios de colesterol, proteínas totais e triglicérides entre os tratamentos, o teste utilizado foi Análise de Variância (ANOVA procedure). Foi também aplicado o teste Duncan para comparação múltipla dos valores médios obtidos para cada variável analisada. Para executar as análises, utilizou-se o Proc Mixed do SAS System for Windows versão 8.02.

Resultados e Discussão

Para os animais submetidos ao sistema de manejo a campo, as concentrações de cortisol e os níveis de colesterol, proteínas totais e triglicérides foram, respectivamente, 1,105µg/dl; 199,79mg/dl; 12,050g/dl e 11,60mg/dl. No sistema de manejo do semiconfinamento, a concentração de cortisol obtida foi 1,171µg/dl seguida dos níveis médios de colesterol 213,93mg/dl, proteínas 11,38g/dl e triglicérides 12,20mg/dl. Os resultados das concentrações de cortisol para o sistema de confinamento foi de 1,167µg/dl, seguidas dos níveis médios de colesterol 223,60mg/dl, proteínas 11,93g/dl e triglicérides 6,90mg/dl. Os níveis médios de proteína total diferem significativamente (p<0,05) entre os sistemas de manejo. De acordo com os resultados apresentados para os três sistemas de manejo alimentar deste experimento é possível afirmar que, em condições tropicais, não se justifica produzir touros Nelore em sistema de confinamento ou semiconfinamento. Isso reforça o fato de que é possível aproveitar os recursos naturais disponíveis nas regiões tropicais, através do sistema de manejo a campo, predominante no Brasil.

Referências Bibliográficas

Birgit Fuerst-Waltl, B; Schwarzenbacher, H; Perner, C; Sölkner, J. Effects of age and environmental factors on semen production and semen quality of Austrian Simmental bulls. *Animal Reproduction Science*, v. 95, p. 27–37, 2006.

Vasconcelos, J.T. Manejo de cocho é verdadeira “arte”. *Revista DBO Rural*, p.66 – 67, 2006.

Palavras-chave: cortisol, colesterol, proteínas totais, sistemas de manejo, touros.

Key words: cortisol, cholesterol, averall protein, management system , bulls.



Strategies to study the proteome of cauda epididymal fluid of bulls: two-dimensional gel electrophoresis, albumin depletion and mass spectrometry

Estratégias para o estudo da proteômica do fluido da cauda do epidídimo de touros: eletroforese bidimensional, depleção de albumina e espectrometria de massa

A.A. Moura¹, C.E. Souza¹, A.A. Araújo¹, G.J. Killian²

Departamento de Zootecnia¹, Universidade Federal do Ceará, Brasil; Department of Dairy and Animal Science², Pennsylvania State University, USA. E-mail: arlindo.moura@gmail.com

Introduction

Maturation enables sperm to acquire motility and completion of epididymal transit leads to storage of sperm in the cauda region (Gatti et al., 2004). Proteins of the cauda epididymal fluid (CEF) likely interact with the sperm and, at ejaculation, also with those secreted by the accessory sex glands. In this regard, it is our understanding that identification of components of the CEF is essential to unfold mechanisms of those interactions and how sperm function is modulated while stored in the cauda epididymis. Thus, the current study was conducted to identify the proteome of the bovine cauda epididymal fluid.

Materials and Methods

We obtained samples of cauda epididymal fluid from 11 Holstein bulls that had been cannulated in the vasa deferentia (Henault et al., 1995). After collection, fluid was separated from sperm by centrifugation, subjected to 2-D SDS-PAGE and gels stained with Coomassie blue. Protein maps were generated by PDQuest software (Bio Rad, Rockville Centre, NY, USA) and spots identified by mass spectrometry - CapLC-MS/MS and Maldi-Tof-Tof (Moura et al., 2006). Because albumin comprised 21.1 % of all spots detected by PDQuest in the CEF map, we subjected all samples to albumin depletion using micro spin columns containing Affi-Gel® Blue and Affi-Gel protein A (Aurum serum protein kit, Bio Rad, Rockville Centre, NY, USA). Albumin-depleted CEF samples were evaluated again by gel electrophoresis and spots not identified by the first 2-D system were analyzed by mass spectrometry.

Results and Discussion

We detected 114 ± 3 spots in the CEF maps before albumin depletion. Based on the integrated optical densities of spots, the most abundant components of CEF were albumin (21.1 %), cholesterol-binding protein (10.5 %), prostaglandin D-synthase (7.6 %) and gelsolin (6 %). After albumin depletion, the average intensity of the albumin spot was reduced to 10 % of the value detected in the original gels. The number of spots also increased to 137 ± 4 and 48 spots in the albumin-depleted gels had their intensity augmented by at least 3-fold in comparison with the original 2-D maps. Many proteins appeared in CEF as groups of isoforms, such as clusterin, transferrin, N-acetyl- β -glucosaminidase, carboxylesterase-like urinary excretory protein, prostaglandin D-synthase, cholesterol-binding protein and serine-proteinase inhibitor. Other proteins of CEF included acidic seminal fluid protein, aldehyde reductase, α -L-fucosidase, α -1- β -glycoprotein, apolipoprotein A-I, calmodulin, cathepsin D, cystatin, disulfide-isomerase precursor, enolase, galectin 3, glutaminyl-peptide cyclotransferase, leucine aminopeptidase and nucleobindin. In conclusion, depletion of albumin allowed the detection of low abundance proteins in the CEF. Components of the cauda epididymal fluid may affect sperm function acting as iron and calcium-binding proteins, carriers of hydrophobic molecules, proteases and protease inhibitors, modulators of sugar moieties, inhibitors of sperm motility, protectors against oxidative reactions and immune responses.

References

- Gatti J-L, Castella F, Dacheux F, Ecroyd H, Métayer S, Thimon V, Dacheux J-L. 2004. Post-testicular sperm environment and fertility. *Anim Reprod Sci*, 82-83:321-339.
- Henault MA, Killian GJ, Kavanaugh JF, Griel Jr LC. 1995. Effect of accessory sex gland fluid from bulls of differing fertilities on the ability of cauda epididymal sperm to penetrate zona-free bovine oocytes. *Biol Reprod*, 52 390-397.
- Moura AA, Koc H, Chapman DA, Killian GJ. 2006. Identification of proteins in the accessory sex gland fluid associated with fertility indexes of dairy bulls: a proteomic approach. *J Androl*, 27: 201 - 211.

Palavras-chave: albumina, eletroforese, epidídimo, espectrometria de massa, touros, espermatozóides.

Keywords: albumin, bulls, electrophoresis, epididymis, mass spectrometry, sperm.



Caracterização andrológica e zootécnica de touros nelore (*Bos taurus indicus*) à puberdade

Andrologic and zootechnical characterization of Nelore bulls at puberty

F.P.C. Lima¹, A.P. Marques Jr¹, J.A.G. Bergmann¹

¹Escola de Veterinária da UFMG – Belo Horizonte, MG, Brasil
e-mail: fabrizialima@terra.com.br

Introdução

A puberdade é o marco inicial da fase reprodutiva e produtiva e deve ser bem conhecida, tendo-se em vista as características inerentes à raça com seu potencial genético e o ambiente, onde esse potencial irá ser desenvolvido ou se expressar. A aplicação desses conhecimentos possibilita a seleção de reprodutores precoces e o descarte de animais tardios, que imprimiriam essa característica negativa a sua descendência. A puberdade é a idade em que o animal apresenta no mínimo 50×10^6 espermatozoides no ejaculado, com uma motilidade progressiva retilínea de 10% (Wolf et al, 1965). Associações entre características ponderais, medidas testiculares e características seminais para touros de raças zebuínas no Brasil são escassas. Esse estudo tem como objetivo obter parâmetros andrológicos e zootécnicos em animais púberes para que possam ser utilizados como critérios de seleção.

Material e Métodos

Um total de 24 tourinhos Nelore (*Bos taurus indicus*) aos 12 meses de idade foram divididos, de acordo com a circunferência escrotal (CE), em 3 grupos de 8 animais cada, sendo: Grupo 1 (CE > 22,8cm); Grupo 2 (CE entre 21,6 e 22,6cm) e Grupo 3 (CE entre 20,1 e 21,2cm). Parâmetros zootécnicos e andrológicos foram avaliados e calculados no momento em que os animais alcançaram a puberdade, segundo definição de (Wolf et al.,1965). Foi feita análise de variância (ANOVA) e a diferença entre médias foi comparada pelo teste SNK ao nível de 5% (Sampaio, 2002).

Resultados e Discussão

Como mostra a Tabela 1, houve diferença significativa do G1 em relação ao G2 e G3 para a idade e peso à puberdade. O G1 aos 12 meses apresentou maior CE e menor peso à desmama em relação aos outros grupos. Em *Bos taurus taurus* a puberdade foi atingida com uma CE média de 27,8cm (Lunstra et al., 1978) e valores semelhantes foram descritos na raça Nelore (Vale Filho et al., 2001) e assemelham-se aos encontrados neste trabalho. A idade à puberdade em animais Nelore tem diminuído ao longo dos anos, em razão do intenso melhoramento genético e seleção de animais precoces. Parâmetros como a CE e o peso à desmama são importantes marcadores na seleção genética para precocidade sexual.

Tabela 1 – Médias do peso à desmama (PDESM), idade real aos 12 meses (IR12), idade à puberdade (IDPUB), Peso à puberdade (PPUB) e circunferência escrotal à puberdade (CEPUB) de touros Nelore

Grupo	PDESM	IR12	IDPUB	PPUB	CEPUB
1 (CE > 22,8cm)	244,86 ± 14,91	13,46 ± 0,62	13,71 ^B ± 0,68	339,98 ^B ± 34,99	27,06 ± 1,35
2 (CE entre 21,6 e 22,6cm)	259,15 ± 20,19	13,28 ± 1,07	15,89 ^A ± 1,53	339,70 ^A ± 56,60	25,80 ± 3,17
3 (CE entre 20,1 e 21,2cm)	249,06 ± 10,69	13,67 ± 0,70	16,52 ^A ± 0,67	434,37 ^A ± 23,10	26,37 ± 2,32

Critério de puberdade: 10% de motilidade com 50×10^6 / ml

Valores seguidos por letras maiúsculas na mesma coluna diferem entre si (P<0,05)

Referências Bibliográficas

- Lunstra, D.D. et al. Puberty in beef bulls hormone concentrations, growth, testicular development, sperm production and sexual aggressiveness in bulls of different breeds. *J. Anim. Sci.*, V.46(4), p.1054-1062, 1978.
- Sampaio, I.B.M. Estatística aplicada à experimentação animal. Belo Horizonte: FEPMVZ, 2002.265p.
- Vale Filho V.R., et al. Perfil andrológico de touros da raça Tabapuã (*Bos taurus indicus*) de um a dois anos de idade, criados extensivamente nos estados de Minas Gerais, Bahia e Espírito Santo, Brasil. In: CBRA, 14, 2001. Belo Horizonte. Anais. Belo Horizonte: CBRA, 2001.
- Wolf, F.R., Almquist, J.O., Hale, E.B. Prepuberal behavior and puberal characteristics of beef bulls on high nutrient allowance. *Journal Animal Science*, V.24, n.2, p.761-765, 1965.

Palavras-chave: Touros, Nelore, puberdade.

Keywords: Bulls, Nelore, puberty.



Maturidade sexual precoce em tourinhos Gir Leiteiro sob manejo alimentar estratégico

Precocious sexual maturity in Dairy Gir bulls (Bos taurus indicus) under strategic feed management

P.E.M. Gonçalves¹, A.S. Felipe-Silva¹, V.R. Vale-Filho¹, V.J. Andrade¹, M.B.D. Ferreira², L.O. Fernandes², N.A. Azevedo², L.L. Emerick¹, C.A. Marques Jr², M.M. Veras³, F.C. Mendes², D.R. Oliveira²

¹Escola de Veterinária da UFMG, ²EPAMIG, Uberaba, ³Profissional liberal

E-mail: paulo@bhsol.com.br

Introdução

A raça Gir Leiteiro (Gir-L) vem sendo selecionada para alta produção leiteira em alguns plantéis no Brasil há mais de 30 anos, porém somente a cerca de cinco anos vem sofrendo uma pressão de seleção para eficiência reprodutiva, baseada na condição de normalidade dos órgãos genitais, do sêmen (CBRA, 1998) e da Classificação Andrológica por Pontos (CAP) (Vale Filho, 1989). O objetivo desse trabalho foi identificar animais adolescentes normais, com expressão de maturidade sexual precoce, mesmo tendo sido criados somente a pasto até 21 meses de idade e, portanto, a baixo custo.

Material e Métodos

De um total de 90 tourinhos da Fazenda Experimental Getúlio Vargas (EPAMIG) nascidos em 2004, foram selecionados 22 animais andrológica e clinicamente normais e com CAP > 60, para a verificação da precocidade sexual. Um controle andrológico contínuo foi conduzido nos animais dos 18 aos 26 meses de idade sob mesmas condições de alimentação e manejo. Os animais foram criados em pastagem de *B. brizantha* desde o desmame até os 21 meses, tendo sido submetidos posteriormente a um sistema de confinamento total com silagem de milho e concentrado (24,7 % de PB / 0,9 % do PV) até o final do experimento. O sêmen foi coletado e analisado segundo as normas do CBRA, 1998. Peso e perímetro escrotal foram avaliados pelo teste de Fisher e as demais características pelo teste de Mann-Whiney.

Resultados e Discussão

Os resultados apresentados na tabela 1 mostram que em ambas as faixas etárias analisadas, as variáveis defeitos maiores e defeitos totais apresentaram diferença estatística ($p < 0,05$), demonstrando a importância da avaliação andrológica em animais jovens na identificação daqueles mais precoces sexualmente, bem como nos animais adultos, selecionando os potencialmente superiores. Gir-L no presente rebanho estudado, ainda está em um processo de seleção e observa-se a grande variabilidade entre os animais, apontando quatro com maturidade sexual muito precoce, mesmo somente a pasto, e animais que ao final do experimento, mesmo após receberem um aporte nutricional de alta qualidade, ainda não haviam completado a maturidade sexual.

Tabela 1. Peso, perímetro escrotal e características seminais de tourinhos sexualmente maduros e imaturos, da raça Gir-L

FE (meses)	Categ e n ⁰	PE (cm)	Peso (kg)	Vig (0-5)	Mot (%)	Turb (0-5)	DM (%)	Dm (%)	DT (%)
18 - 22	Maturo(4)	30,0 ± 1,0	287,2 ± 27,2	5,0 ± 0,0	51,6 ± 7,6	2,0 ± 1,0	13,6 ± 1,1 ^a	8,0 + 5,0	21,6 ± 6,0 ^a
	Imaturo(18)	28,1 ± 2,1	278,6 ± 30,5	4,0 ± 1,1	35,5 ± 18,9	0,8 ± 1,0	56,6 ± 34,2 ^b	10,7 + 8,0	67,3 ± 32,5 ^b
22 - 26	Maturo(15)	30,7 ± 2,3	369,1 ± 36,7	4,6 ± 0,9	52,8 ± 12,6	2,5 ± 1,5	12,0 ± 3,2 ^a	9,5 + 6,2	21,6 ± 6,9 ^a
	Imaturo(7)	30,9 ± 2,6	366,5 ± 27,1	4,5 ± 1,1	50,0 ± 20,0	1,8 ± 1,3	40,2 ± 28,7 ^b	15,1 + 10,0	55,4 ± 26,6 ^b

Letras diferentes na mesma coluna, em cada faixa etária, diferem estatisticamente pelo teste de Fisher (Peso e PE) e de Mann-Whitney ($p < 0,05$).

FE = faixa etária, Categ e n⁰ = categoria e n⁰ de animais, PE = perímetro escrotal, Vig = vigor espermático, Mot = Motilidade espermática, DM = defeitos maiores,

Dm = defeitos menores e DT = defeitos totais. Maduros sexualmente: DM < 15% e DT < 30% (Vale Filho et al., 1998).

Concluiu-se que a avaliação andrológica precoce pode ser um importante meio de avaliar a função sexual de tourinhos Gir-L, o que permite uma melhor utilização desses animais como reprodutores.

Referências Bibliográficas

CBRA 1998. *Procedimentos para exame andrológico e avaliação de sêmen animal*, 2ed.. Belo Horizonte: CBRA, 1998. 49f.:il

Vale Filho, V. R. Padrões de sêmen bovino, para o Brasil. In: CBRA, 8, 1989, BH. *Anais...*: CBRA, 1989. p.94-118.

Palavras-chave: Touros, Gir-Leiteiro, *Bos taurus indicus*, CAP, Congelabilidade seminal.

Keywords: Bulls, Dairy-Gir, *Bos taurus indicus*, BSE-Z, Seminal freezability.



Proteínas do plasma seminal e sua relação com as características espermáticas em touros da raça Nelore

Proteins from seminal plasma and its relationship with spermatic characteristics in Nelore breed bulls

**B.M. Welter¹, J.O. Jacomini², F. Oliveira², M.E. Beletti², M.M. Guardieiro³,
E.C. Guimarães², E.G. Diniz²**

¹Médico Veterinário, ²Universidade Federal de Uberlândia/UFU, ³Mestranda na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia/FMVZ, UNESP, Botucatu-SP
E-mail: jojacomini@ufu.br

Introdução

Para Wolfe et al. (1993) o conteúdo do plasma seminal influi na fertilidade masculina, geralmente baseando-se na composição do plasma de animais férteis e inférteis. Constataram diferenças entre os polipeptídios no plasma seminal e espermatozoides de animais sadios e com degeneração testicular induzida pelo calor. O objetivo do trabalho foi traçar o perfil eletroforético das proteínas do plasma seminal e verificar a sua relação com a morfologia espermática e características físicas do sêmen em touros da raça Nelore.

Material e Métodos

Utilizou-se 55 touros com idade de 24 a 28 meses, criados sob manejo extensivo em uma propriedade no município de Uberlândia-MG, em janeiro de 2006. Realizou-se a coleta do sêmen com o uso de eletroejaculador. Uma alíquota de sêmen em formol salino foi guardada para análise da morfologia espermática utilizando microscopia de contraste de fase, de acordo com CBRA (1998). O ejaculado foi imediatamente centrifugado a 700g por 10 minutos e o plasma seminal armazenado a -20°C. Posteriormente, as amostras foram descongeladas e centrifugadas (12000g/30min) e realizou-se a quantificação das proteínas. As eletroforeses unidimensionais para a estimativa dos pesos moleculares foram realizadas conforme Laemmli (1970), utilizando-se géis de poliacrilamida a 14% (SDS-PAGE). Esses foram corados com 0,2% de *Coomassie brilliant blue R – 250*. Após, as imagens dos géis foram digitalizadas com auxílio do Software KODAC 1D, obtendo o peso molecular aparente e a densitometria relativa das bandas correspondente a cada trilha. Utilizou-se a correlação de Pearson ($p < 0,05$), para averiguar a relação das proteínas do plasma seminal com as características espermáticas, utilizando o software S-PLUS 2000.

Resultados e Discussão

A concentração de proteínas totais no plasma seminal apresentou média de 21,36mg/mL. Os géis revelaram a presença de 26 polipeptídeos, com variação de 14 a 21 bandas individualmente. O PMA apresentou um intervalo de 11,2 a 124,1 kDa. As bandas com PMA de 124,1kDa, 105,8kDa, 61,3kDa e 32,8kDa demonstraram correlações positivas ($p < 0,05$) com defeitos maiores e defeitos totais, sendo que a 96,6kDa apresentou uma correlação negativa com defeitos totais.

Referências Bibliográficas

- Colégio Brasileiro De Reprodução Animal.** Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen, 2ed. Belo Horizonte: CBRA, 1998, 49p.
- Laemmli, U.K.** Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage t4. *Nature*. v. 227, p. 680, 1970.
- Wolfe, D. F; Bradley, J. T; Riddell, M. G.** Characterization of seminal plasma and sperm proteins in ejaculates from normospermic bulls and bulls with thermally-induced testicular degeneration. *Theriogenology*, v. 40, p. 1083-91, 1993.

Palavras-chave: plasma seminal, proteínas, sêmen, morfologia.

Keywords: seminal plasma, proteins, semen, morphology.



Correlação da testosterona com alterações da morfometria de espermatozoides de touros da raça Nelore

Correlation of the testosterone with morphometric alterations of spermatozoa in Nelore breed bulls

**J.O. Jacomini¹, B.M. Welter², M.E. Beletti¹, M.M. Guardieiro³, C. Meira³,
E.C. Guimarães¹, E.G. Diniz¹**

¹Universidade Federal de Uberlândia/UFU, ²Médico Veterinário,
³Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia/FMVZ, UNESP, Botucatu-SP
E-mail: jojacomini@ufu.br

Introdução

A cromatina espermática é uma estrutura altamente organizada e compactada, constituída de DNA e nucleoproteínas heterogêneas. Mudanças nessa organização podem diminuir o potencial fertilizante dos espermatozoides. Objetivou-se com este trabalho correlacionar o nível sérico de testosterona com alterações da condensação da cromatina de touros da raça Nelore.

Material e Métodos

Uma amostra de sangue foi coletada por punção da veia caudal em cada um dos 55 touros da raça Nelore, das 8 h e 20 min às 10 h e 20 min. A análise da testosterona sérica foi feita no Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária, UNESP, Botucatu-SP, pelo método de radioimunoensaio em fase sólida. Foram confeccionados 2 esfregaços de sêmen por ejaculado, fixados em solução de etanol e ácido acético (3:1), seguido de um banho de etanol (70%). Os esfregaços foram hidrolisados em ácido clorídrico 4N, lavados com água destilada e secos à temperatura ambiente. Em seguida, uma gota de azul de toluidina a 0,025% em tampão McIlvaine foi colocada sobre o esfregaço, cobrindo-o com lamínula (BELETTI; MELLO, 1997). Foi realizada a segmentação interativa de 100 cabeças de espermatozoides de cada animal. Após, as imagens foram processadas por uma rotina computacional desenvolvida em ambiente SCILAB, no qual se mensurou as características morfométricas: área (A), perímetro (P), comprimento (C), largura (L). Também foram obtidas algumas variáveis derivadas dessas medidas básicas, como a razão da largura:comprimento (L/C), elipsidade (E), fator de forma (FF) (BELETTI; COSTA, 2003). A simetria lateral (SL) foi medida para identificação de assimetria ao longo do eixo principal do espermatozoide, que pode implicar em alterações nas propriedades hidrodinâmicas da célula. A mensuração da simetria antero-posterior (SAP) foi considerada para identificação de assimetrias ao longo do segundo eixo espermático. Utilizou-se a correlação de Pearson ($p < 0,05$), para averiguar a correlação dos níveis séricos de testosterona com alterações de cromatina.

Resultados e Discussão

A média da concentração sérica de testosterona foi de $5,084 \pm 3,893$ ng/mL, com amplitude de variação de 0,241 a 15,70ng/mL. As médias e desvio padrão das medidas das cabeças, respectivamente, em relação: A (pixel), P (pixel), L (pixel), C (pixel), razão L/C, E, FF, SL e SAP, foram de $3557,13 \pm 202,86$, $267,84 \pm 8,22$, $48,72 \pm 8,22$, $89,62 \pm 3,51$, $0,54 \pm 0,02$, $0,30 \pm 0,02$, $1,14 \pm 0,02$, $0,97 \pm 0,00$ e $0,93 \pm 0,01$. O nível sérico de testosterona apresentou uma correlação positiva com comprimento e elipsidade, ou seja, espermatozoides mais elípticos e menos esféricos, mas negativa com o fator de forma e razão largura:comprimento.

Referências Bibliográficas

- Beletti ME, Costa LF.** 2003. A systematic approach to multi-species sperm morphometrical characterization. *Analytical and Quantitative Cytology and Histology*, 25:97-107.
- Beletti M E, Mello MLS.** 1996. Methodological variants contributing to detection of abnormal DNA-protein complexes in bull spermatozoa. *Brazilian Journal of Genetics*. 19:97-103.

Palavras-chave: sêmen, testosterona, cromatina, morfologia.

Keywords: semen, testosterone, chromatin, morphology.



Desempenho de touros da raça Nelore classificados pelo CAP e Libido, desafiados com fêmeas de diferentes categorias reprodutivas

Performance of the Nelore bulls classified by CAP and Libido, about differentiated classes of female

J.A.T. Souza¹, N.A. Macedo¹, M.B. Salviano², P.A.C. Santos³, F.M.M. Costa³

¹Profs. Adjunto/UFPI, ²Acadêmico de Veterinária/UFPI, ³Méd.Veterinário autônomo
E-mail: adalmir@ufpi.br

Introdução

O uso de touros subfêrteis ou infêrteis em um programa de produção de bovinos de corte interferem diretamente na eficiência reprodutiva, produtiva e econômica do rebanho. A seleção de reprodutores é ponto chave nesse processo, pela necessidade de se estabelecer uma adequada relação touro/vaca antes de iniciada uma estação reprodutiva. Trabalhos a campo com touros Nelore, selecionados pelo andrológico e teste de libido, questionam a eficácia dessa metodologia na definição da relação touro/vaca, enquanto outros (Fonseca et al, 2000) definem bem esse processo e sugerem que touros adultos, com CAP e libido elevados, poderão ser utilizados com uma relação superior à comumente utilizada na maioria dos rebanhos, sem comprometimento da taxa de gestação ao final da estação de monta. Face às poucas pesquisas realizadas na região Meio-Norte do Brasil, este estudo objetivou avaliar o desempenho de touros da raça Nelore, selecionados pelo CAP e teste de Libido, desafiados a campo com fêmeas de diferentes categorias reprodutivas.

Material e Métodos

Foram examinados 81 touros, tendo como base normas do CBRA (1998). Os dados obtidos ao exame foram processados pelo CAP (classificação andrológica por pontos) onde os touros com CAP > 60 pontos foram considerados aptos para a reprodução (Fonseca et al., 1989). Independentemente da pontuação obtida, os touros foram submetidos ao teste de libido (Chenoweth et al. 1984) e, com base na pontuação desses testes formaram-se dois grupos de touros: A1 (n=45), considerados de capacidade reprodutiva superior e A2 (n=36), de capacidade inferior. O desafio a campo, obedeceu ao esquema: G1 - uso em "repasso" (IA=40dias), relação de 1/50 fêmeas, durante 110 dias, e G2 - uso direto a campo, na proporção de 1/25 fêmeas, durante 150 dias. Foram utilizadas 2.549 fêmeas, distribuídas nas seguintes categorias: novilhas (332), primíparas (244), paridas de macho ou fêmea (734), paridas de macho (756) e paridas de fêmea (483). Os índices gestacionais, obtidos por palpação retal, aos 60 dias, foram avaliados pelo teste de "Qui-Quadrado" (p<0,05).

Resultados e Discussão

O índice geral de gestação foi 91,45±2,25% e por categorias: paridas de macho ou fêmea, 94,03±3,25%; paridas de fêmea, 92,91±4,58%; paridas de macho, 74±5,2%; primíparas, 90,29±5,35% e novilhas, 88,27±4,96%. Em relação aos grupos de touros, não houve diferença entre os índices de A1 (91,21±4,83%) e A2 (92,33±4,22%), já em relação aos grupos de fêmeas, o índice de G1 (92,75±4,64%) foi maior que de G2 (90,65±4,30%). Dentro do G1, touros A1 e A2 não diferiram entre si (92,57±4,82 x 92,93±5,19%), o mesmo se verificando em relação ao G2 (90,13±5,08 x 91,53±3,37%). Quanto às categorias de fêmeas, não houve influência dos grupos de touros nas novilhas (85,47±4,96 x 89,68±6,12%) e paridas de macho ou fêmeas (93,01±4,59 x 95,06±2,55%), porém, na categoria paridas de macho, touros A2 foram mais eficientes (88,88±6,84 x 94,59±1,29%) enquanto na categoria paridas de fêmeas, touros A1 foram melhores (95,55±0,64 x 87,65±0,64%). Diante dos índices gestacionais obtidos, conclui-se que não houve diferença (p>0,05) entre os grupos de touros estudados, exceto quando desafiados com categorias de fêmeas paridas de machos e paridas de fêmeas.

Referências bibliográficas

- Chenoweth P.J., Farin P.W., Mateus E.R. et al.** Breeding soundness and sex drive by breed and age in beef bulls used for natural mating. *Theriogenology*, v.22, n.4, p. 341-349, 1984.
- CBRA.** Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal. 2. ed. Belo Horizonte, 1998, 49p
- Fonseca V.O., Crudeli G.A, Silva E.VC. et al.** Classificação andrológica de touros da raça Nelore (*Bos taurus indicus*) com base na biometria testicular e características morfológicas do sêmen. Uma nova proposição. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, v.8, (Supl. 1), p.187, 1989.
- Fonseca VO, Franco CS, Bergmann JAG.** Potencial reprodutivo e econômico de touros Nelore acasalados coletivamente na proporção de um touro para 80 vacas. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* v.52, n.1, p.77-82, 2000.

Palavras-chave: capacidade reprodutiva, touro Nelore, fertilidade, libido.

Keywords: reproductive capacity, Nelore bull, fertility, libido.



Resposta de touros em Centro de Coleta e Processamento de Sêmen (CPPS) à tratamento homeopático: descrição de casos clínicos de touros

Homeopathy in semen technology: description of clinics cases in bulls

M.F.A Souza¹, B.D. Soares², C.E.S.N. Zúccari³, E.V. Costa-e-Silva³

¹Médica Veterinária, Sigo Homeopatia, monicavet2003@yahoo.com.br ²Médico Veterinário autônomo, ³Dep. Zootecnia, FAMEZ, UFMS ⁴Dep. Medicina Veterinária, FAMEZ/UFMS. Campo Grande – MS. licsilva@nin.ufms.br GERA-MS/CNPq Apoio: Central Bela Vista e Sigo Hmeopatia

Introdução

A Homeopatia é uma ciência da saúde que propõe abordagem clínica e terapêutica para o tratamento do indivíduo doente, desenvolvida por Christian Friedrich Samuel Hahnemann no final do século XVIII, que foi também quem primeiro a empregou em animais (Kent, 1993). Pode ser empregada na terapêutica, assim como na prevenção de diversas afecções. A homeopatia se aplica tanto a animais de companhia, como de produção, e vem sendo adotada com mais frequência em sistemas de manejo orgânico ou biodinâmico. A utilização de tratamentos alternativos em animais dos quais se processa material biológico como sêmen, pode ser extremamente interessante principalmente no sentido de contornar os efeitos negativos que o manejo intenso de um Centro de Coleta e Processamento de Sêmen (CCPS) pode acarretar no perfil seminal ou para melhorar a congelabilidade, característica esta não necessariamente vinculada à capacidade reprodutiva inerente ao indivíduo. Este trabalho descreve a resposta de Touros em regime coleta num CCPS com alterações clínicas tratados com princípios homeopáticos.

Materiais e métodos

Quatro touros Nelores adultos que não apresentavam produção de doses satisfatórias devido a qualidade seminal pré ou pós-descongelamento foram avaliados clinicamente e tratados por meio de princípios homeopáticos adicionados a ração diariamente. A escolha dos medicamentos baseou-se no princípio hipocrático que determina o diagnóstico do enfermo através da sua totalidade de sintomas: comportamentais, gerais e locais (físicos), obtendo-se desta forma um medicamento para cada touro, como princípio da terapêutica homeopática unicista (Eizayaga, 1992). Os touros foram submetidos à rotina de coleta em uma CCPS, sendo coletados por vagina artificial. O sucesso na coleta (COL), Início do processo de congelamento (CONG), sucesso efetivo na produção de doses (DOSE) foram registrados de forma binomial e comparados por testes de Qui-quadrado antes e depois do tratamento. Registrou-se a quantidade de doses obtidas por coleta efetivada (TDOS) pré (PRE) e pós-tratamento (POS), as médias foram comparadas por teste t de *student*.

Resultados e Discussão

Foram realizadas ao todo 233, 98, 180 e 44 tentativas de coleta nos touros A, B, C e D, respectivamente; sendo 35, 35, 30 e 13 PRE e 198, 63, 150 e 31 POS. O sucesso na COL foi de 97,14%, 100,00%, 96,67% e 30,77% na fase PRE e 95,45, 100,00, 94,67 e 96,77% na fase POS observando-se diferença significativa ($P < 0,05$) apenas para o touro D. Dos ejaculados obtidos do touro A, 26% apresentou qualidade mínima necessária para ser submetido à congelamento, os outros Touros na fase PRE sequer eram submetidos ao processo. Na fase POS, 44,95; 42,86, 35,33 e 61,29% dos ejaculados obtidos foram submetidos à congelamento ($P < 0,05$). A média de produção de doses por coleta realizada PRE e POS foi de $102,67 \pm 74,41$ vs $300,08 \pm 180,58$; $0,00 \pm 0,00$ vs $234,78 \pm 96,12$; $0,00 \pm 0,00$ vs $105,12 \pm 54,98$; $0,00 \pm 0,00$ vs $107,37 \pm 52,12$ para os touros A, B, C e D respectivamente, tendo sido observado sucesso no tratamento com alterações significativas na produção média de doses por ejaculado em todos os animais. O uso de tratamento homeopático melhorou a produção de doses viáveis de touros mantidos em CPPS que apresentavam alterações de qualidade seminal ou baixa congelabilidade do sêmen. Em homens sub-férteis devido a baixa qualidade seminal, a homeopatia tem sido utilizada como tratamento alternativo obtendo resultados de melhoria do quadro seminal de humanos, similar aos tratamentos alopáticos (Gerhard e Wallis, 2002). Em animais, Lobreiro (2007) descreveu um caso similar em um touro Nelore, com alta patologia.

Referências Bibliográficas

- Eizayaga, F.X. Tratado de Medicina Homeopática, 3ª ed., Buenos Aires: Ediciones Marecel, 1992. 399 p.
Kent, J.T. Filosofia Homeopática, Curitiba: Editorial Nova Época, 1993, 248 p.
Lobreiro, J. Homeopathic treatment for infertility in a prize Nelore bull. *Homeopathy*, v. 96, p.49-51, 2007.
Gerhard, I, Wallis, E. Individualized homeopathic therapy for male infertility. *Homeopathy*, v. 91, p.133-144, 2002.

Palavras-chave: criopreservação, homeopatia, sêmen congelado, bovinos.

Keywords: cryopreservation, homeopathy, freezing semen, bovine.



Expressão do comportamento sexual a pasto de touros da raça Nelore (*Bos taurus indicus*) nos períodos peri aceitação da monta e perante fêmeas fora do cio

Expression of sexual behavior by Nelore bulls (Bos taurus indicus) close to mount acceptance and after estrus cessation and towards cows not showing estrus

L.F. Mendonça¹, A.S. Carmo¹, N.R. Santos¹, M. Henry¹

¹Laboratório de Reprodução Animal, Escola de Veterinária - Universidade Federal de Minas Gerais.
E-mail: henrym@ufmg.br

Introdução

A fertilidade do touro a campo pode ser determinada pela produção de espermatozoides vivos, normais e em concentração adequada, além de sua capacidade de copular a fêmea no cio. A maioria dos estudos encontrados na literatura enfocam o comportamento sexual do touro em sistemas de classificação, sendo poucos os trabalhos que descrevem o comportamento sexual em condições de campo (Piccinali et al., 1992). O presente estudo foi conduzido objetivando a caracterização do comportamento sexual de touros Nelore a campo, nos períodos pré, durante e pós-cio, fornecendo subsídios para melhor adaptação dos testes existentes para essa subespécie.

Material e Métodos

O comportamento de 11 touros Nelore foi observado individualmente com 12 vacas em piquete de braquiária de 3 hectares durante 57 horas, em média. As fêmeas, todas com corpo lúteo, tiveram o cio induzido utilizando injeções de PGF2 α . O acompanhamento durante o dia foi feito com o observador a pé, utilizando um binóculo, a uma distância que não interferiu no comportamento dos animais. Já no período noturno, o mesmo ficava a cavalo, utilizando um monóculo infravermelho. As fêmeas foram consideradas em cio quando ficavam passivas e paradas em estação ao serem montadas pelo touro.

Resultados e Discussão

Tab 1. Frequência dos eventos de comportamento sexual ocorridos 6 horas antes e depois do estro.

	-6	-5	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4	5	6
F	211	197	326	498	823	2221	5380	272	127	110	4	125	58
%	2,04	1,90	3,15	4,81	7,95	21,45	51,97	2,63	1,23	1,06	0,04	1,21	0,56

F = frequência de eventos; -6 a -1 = n° de horas antes do estro; 0 = estro; 1 a 6 = n° de horas após o cio.

Ocorreu aumento gradativo da frequência de todos os eventos a partir das 6 horas que antecederam o estro. Os comportamentos que mais se destacaram neste período foram, reflexo de monta (2616/3869; 67.61%), cheirar e lamber vulva (380/3869; 9.82%) e exposição de pênis (203/3869; 5.24%). Durante o estro, os eventos que se destacaram foram o reflexo de monta (2522/5380; 56.99%), cheirar e lamber vulva (477/5380; 10.77%), e a tentativa de monta (262/5380; 5.92%). Mais de cinquenta por cento de todas as interações sexuais entre 6 horas antes do início e 6 horas pós término do estro se concentraram durante o período de receptividade. Uma hora após o término do estro houve uma diminuição da frequência dos eventos sexuais, o que se justifica pela diminuição dos estímulos de atração sexual, sendo o reflexo de monta (119/272; 49.17%) o evento mais realizado nesse período. Os comportamentos demonstrados pelos touros perante fêmea que não demonstraram estro, foram aqueles relacionados com a identificação da sua receptividade sexual. O reflexo de monta (782/2375; 33%), cheirar e lamber a vulva (710/2375; 30%), e o reflexo de Flehmen (565/2375; 24%), apresentaram destaque. Eventos como acompanhar a fêmea (77/2375; 3.2%), monta abortada (43/2375; 1.8%), e a exposição de pênis (28/2375; 1.17%), apresentaram menor frequência demonstrando não estar ocorrendo sinais de estimulação sexual.

Referências Bibliográficas

Piccinali R, Galina CS, Navarro R. 1992. Behavioural patterns of Zebu bulls towards females synchronized with prostaglandin F2 α or oestrogens under corral and field conditions. *Applied Animal Behaviour Science*, 35:125-133.

Palavras-chave: touro, Nelore, comportamento sexual.

Keywords: bull, Nelore, sexual behaviour.

Agradecimentos: à FAPEMIG pelo apoio financeiro.



Parâmetros de desenvolvimento testicular de touros da raça Guzerá criados na região do cerrado em Minas Gerais

Parameters of testicular development of younger bulls guzerat in Minas Gerais

A.S. Carmo¹, J. Perez Osorio², R.S. Gomes¹, M.G.T. Gomes¹, C.A. Clemente¹, M. Henry¹

¹Laboratório de Reprodução Animal, Escola de Veterinária - Universidade Federal de Minas Gerais.

²Bolsista da CAPES/CNPq - IEL Nacional - Brasil.

E-mail: henrym@ufmg.br

Introdução

A alta herdabilidade do perímetro escrotal, sua fácil mensuração, alta confiabilidade e repetibilidade, permitem a utilização desse parâmetro na seleção de reprodutores no rebanho bovino (Garcia Deragon e Ledic, 1990; Quirino, 1999). O presente trabalho objetiva caracterizar o desenvolvimento testicular de touros da raça Guzerá em condições semi-intensiva no cerrado mineiro no período de peri-puberdade.

Material e Métodos

No presente estudo foram avaliados 619 machos da raça Guzerá de um mesmo rebanho em 4 avaliações anuais intervaladas de 3 meses. As avaliações consistiam em mensuração do perímetro escrotal, comprimento e largura testicular, peso corporal, e coleta de sêmen dos animais que apresentaram perímetro escrotal superior a 20 cm. A coleta de sêmen foi realizada através de estímulo eletroejaculatório, sendo considerados animais púberes aqueles que apresentaram emissão de pelo menos 1 espermatozóide móvel no ejaculado. As amostras de sêmen coletadas foram submetidas à avaliação de motilidade, vigor e concentração. Para a análise estatística dos dados foram calculadas as médias simples das características avaliadas e seus respectivos desvios-padrão. O perímetro escrotal foi analisado pelo Modelo Linear Generalizado (General Linear Model Procedure) do pacote estatístico SAS, 1997.

Resultados e Discussão

Tab 1. Circunferência escrotal de touros distribuídos em faixas etárias.

Idades	15-17,9	18-20,9	21-23,9	24-26,9	27-29,9	30-32,9	33-36
n	223	226	205	291	182	219	165
Média PE	19,85 ± 3,52	22,09 ± 4,38	26,06 ± 0,77	28,44 ± 7,69	24,45 ± 8,48	30,58 ± 11,19	32,05 ± 7,88
% púberes	53,81	71,30	82,06	90,58	98,65	99,10	97,76
% não púberes	46,19	28,70	17,94	9,42	1,35	0,90	2,24

n numero de animais avaliados; PE perímetro escrotal.

O crescimento testicular ocorre de forma gradativa do nascimento aos 33 meses de idade, quando ocorre a sua estabilização. A partir dos 18 meses de idade 71,30 % da população avaliada apresentava espermatozoides móveis no ejaculado. As avaliações demonstraram que 99,10% dos animais com 30 meses de idade, 30,58 Cm de perímetro escrotal médio e 417 Kg em média já encontravam-se púbere. De acordo com a análise estatística proposta, as diferenças significativas encontradas mostram que há uma forte influência da idade, do peso, e da individualidade do mesmo sobre o perímetro escrotal, sendo o $R^2 = 0,82$, o que indica a importância da utilização do perímetro escrotal como uma ferramenta eficiente para contribuir na melhoria genética e nos processos de seleção nos rebanhos Guzerá criados nestas condições.

Referências Bibliográficas

Garcia Deragon LA, Ledic IL. 1990. Avaliação da circunferência escrotal em touros Nelore. Revista Brasileira de Reprodução Animal, 14:227-233.

Quirino CR, et al. 1999. Evaluation of four mathematical functions to describe scrotal circumference maturation in Nelore bulls. Theriogenology, 52:25-34.

SAS – Statistical Analysis System. 1999. SAS Inst., Inc., Cary, N.C.

Palavras-chave: Desenvolvimento testicular, Perímetro escrotal, Guzerá.

KeyWords: Testicular development, Scrotal circumference, Guzerat.

Agradecimentos: Ao CNPq pelo apoio financeiro.

A fazendas reunidas Antônio Balbino.



Avaliação da biometria e morfologia testicular em machos Guzerá criados a pasto com suplementação volumosa na seca na região do cerrado

Testicular growth and morphology in Guzerat (Bos Taurus indicus) males raised at pasture and supplemented with pasture during the dry period in the savannah region

¹Laboratório de Reprodução Animal, Escola de Veterinária - Universidade Federal de Minas Gerais.

²Bolsista da CAPES/CNPq - IEL Nacional – Brasil.

E-mail: henrym@ufmg.br

M. Henry¹, A.S. Carmo¹, J. Perez Osório², M.G.T. Gomes¹, C.A. Clemente¹, R.S Gomes¹

Introdução

O perímetro escrotal tem sido utilizado como a principal ferramenta na seleção de touros de alto potencial reprodutivo já que exibe altas correlações com produção e qualidade espermática (Guimarães et al., 2003). Entretanto alguns autores reconhecem e ressaltam a importância da mensuração bidimensional (largura e comprimento) como método complementar ao perímetro escrotal. O objetivo do presente trabalho foi estabelecer as correlações entre as diferentes formas testiculares e a idade dos animais.

Material e Métodos

Foram realizadas 3561 avaliações, que consistiram em medição do perímetro escrotal, comprimento e largura testicular. O diâmetro (DIAM) testicular foi aferido mensurando-se a maior distância no sentido crânio-caudal de cada testículo. A forma dos testículos foi determinada pela razão matemática entre o diâmetro e o comprimento (DIÂM/COMP), segundo Bailey et al. (1998), numa escala de 0,5 a 1, onde 0,5 significa DIÂM = ½ COMP e 1 significa DIÂM = COMP. Em função desta escala foram estabelecidas as seguintes formas testiculares: razão ≤ 0,5 = longo; razão entre 0,51 e 0,625 = longo/moderado; razão entre 0,626 e 0,750 = longo/oval; razão entre 0,751 e 0,875 = oval/ esférico; razão > 0,875 = esférico.

Resultados e Discussão

Tab 1. Distribuição das formas testiculares em diferentes intervalos de faixas etárias.

idades	Esférico		Longo Moderado		Longo		Longo Oval		Oval esférico		Total	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
13-15	11	0.31	112	3.15	124	3.48	164	4.61	38	1.07	449	12.61
16-18	10	0.28	208	5.84	69	1.94	222	6.23	21	0.59	530	14.88
19-21	7	0.20	235	6.60	27	0.76	182	5.11	17	0.48	468	13.14
22-24	3	0.08	260	7.30	124	3.48	114	3.20	5	0.14	506	14.21
25-27	1	0.03	298	8.37	108	3.03	138	3.88	3	0.08	548	15.39
28-30	2	0.06	263	7.39	76	2.13	150	4.21	13	0.37	504	14.15
31-33	3	0.08	106	2.98	143	4.02	89	2.50	7	0.20	348	9.77
34-36	1	0.03	74	2.08	103	2.89	29	0.81	1	0.03	208	5.84

n = número de animais avaliados

Apesar da ocorrência de significância, o modelo estatístico aplicado não ajusta os dados, sendo $R^2 > 0,022$, o que indica a não existência de uma tendência de mudança de forma em função da idade.

Referências Bibliográficas

Bailey TL, et al. 1996. Testicular shape and its relationship to sperm production in mature holsteins bulls. *Theriogenology*, 46:881-887.

Guimarães J.D, et al. 2003. Biometria testicular em bovinos da raça Nelore, dos 20 aos 22 meses de idade. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, 27:173-174.

Palavras-chave: Touros, Guzerá, Biometria testicular.

Keywords: Bulls, Guzerat, Testicular.

Agradecimentos: Ao CNPq pelo apoio financeiro.

A fazendas reunidas Antônio Balbino.



Efeito estacional na qualidade do sêmen de búfalos da raça Mediterrânea

Seasonal effect on semen quality of Mediterranean buffalo bulls

T.A.M.G. Castro¹, R.M.L.Pires², F.G.Castro Jr.²

¹Faculdade Santa Bárbara, Tatuí, S.P., Brasil

²Instituto de Zootecnia, Nova Odessa, SP, 13460-000, Brasil. E-mail: pires@iz.sp.gov.br

Introdução

Na raça Murrah, Castro et al (2006) mostraram que o período do inverno foi favorável para produção de sêmen. O presente estudo analisou o efeito estacional na qualidade do sêmen de búfalos Mediterrâneos e, para isso, foram determinados alguns parâmetros físicos e bioquímicos durante as quatro estações do ano.

Material e Métodos

Foram utilizados búfalos Mediterrâneos com idade de 3 a 4 anos durante o período de um ano. O sêmen foi coletado semanalmente, medido o volume total e o pH. Aliquotas foram retiradas para contagem de espermatozoides (câmara de Neubauer), e determinação da concentração de frutose. O restante foi centrifugado sob refrigeração a 2600 rpm durante 15 minutos. No plasma seminal foram determinadas as concentrações protéica e fosfatases. Os espermatozoides foram lavados três vezes com solução salina, lisado e ressuspensão para determinação de transaminases. Os dados foram submetidos ao teste de Tukey.

Resultados e Discussão

Os dados da média e desvio padrão dos atributos do sêmen nas diferentes estações do ano estão apresentados na Tabela I. Observou-se variação no volume do ejaculado entre o verão e as demais estações do ano. A concentração espermática não foi significativa, bem como os valores de pH. O teor protéico mostrou valores médios maiores no verão e outono. A atividade fosfatase alcalina variou entre as estações ($P < 0,05$), sendo maior durante a primavera, menor no verão e intermediária no inverno e outono, enquanto os níveis de fosfatase ácida não foram significativos entre as estações. Com relação as transaminases, os dados mostraram que a atividade de glutamato piruvato transaminase (GPT) foi significativa somente no verão e de glutamato oxaloacetato transaminase (GOT) não foi significativa entre as estações. O teor de frutose seminal foi significativo somente no inverno em relação ao verão. Conclui-se que, o inverno apresentou condições mais favoráveis para produção de sêmen de búfalos Mediterrâneos.

Tabela I - Médias e desvio padrão de parâmetros físicos e bioquímicos do sêmen e búfalos Mediterrâneos durante Primavera, Verão, Outono e Inverno.

Parâmetros	Primavera	Verão	Outono	Inverno
Volume (mL)	2,43 ± 0,14ab	1,96 ± 0,13b	2,61 ± 0,15a	2,50 ± 0,16ab
pH	6,86 ± 0,02a	6,88 ± 0,02a	6,91 ± 0,02a	6,89 ± 0,01a
Densidade espermática ($v10^3cc^3$)	123,35 ± 7,21a	132,86 ± 6,91a	135,33 ± 8,06a	129,87 ± 8,55a
Frutose (mg/100mL)	681,98 ± 12,58ab	660,41 ± 12,06b	698,89 ± 14,07ab	719,53 ± 14,92a
Proteína (g/100mL)	3,07 ± 0,08b	3,62 ± 0,07a	3,73 ± 0,08a	3,24 ± 0,09b
Fosfatase Ácida (mIu)	712,18 ± 13,25a	697,71 ± 12,96a	698,72 ± 14,81a	680,41 ± 15,71a
Fosfatase alcalina(mIu)	736,89 ± 10,38a	619,18 ± 9,95b	708,83 ± 11,61a	733,50 ± 12,50a
GPT - uF	117,95 ± 3,86b	143,53 ± 3,69a	118,53 ± 4,31b	116,53 ± 4,57b
GOT - uF	42,60 ± 1,20a	40,79 ± 1,15a	37,77 ± 1,35a	39,72 ± 1,43a

Referência Bibliográficas

Castro TAM, Pires, RML, Castro Jr. FG. Seasonal effects on semen quality of Murrah buffalo bulls. *Anim. Reprod.* v3, n.2, p.250, 2006.

Palavras-chave: reprodução, sêmen, enzima.

Key-words: reproduction, semen, enzyme.



Correlação da circunferência escrotal, perímetro torácico, peso, idade à puberdade e maturidade sexual em búfalos (*Bubalus Bubalis*) na Região Amazônica

(Relationship of scrotal circumference, thoracic perimeter, bodyweight and age of puberty and sexual maturity in the Brazilian Buffaloes)

H.F.L. Ribeiro, A.O. Soares, S.T. Rolim Filho, W.G.Vale, E.M.Barbosa

Universidade Federal Rural da Amazônia; e-mail: haroldo.ribeiro@ufra.edu.br

Introdução

A puberdade é definida como o período em que o animal atinge a capacidade de reprodução, enquanto que a maturidade sexual seria o período máximo de sua capacidade reprodutiva. A circunferência escrotal (C.E) é apontada como a característica mais precisa para indicação do desenvolvimento sexual em bovinos, e está correlacionado com o peso e a idade do animal (HAFEZ, 1996). Os objetivos do presente trabalho são: correlacionar circunferência escrotal, perímetro torácico, peso e idade à puberdade de búfalos machos da raça Murrah, criados em sistema semi-intensivo na região nordeste do estado do Pará.

Materiais e Métodos

Foram utilizados 33 animais da raça Murrah, com idade variando entre 15 a 42 meses pertencentes à fazenda Santa Rita no município do Nordeste paraense, Nova Timboteua, no Estado do Pará. Aos animais eram disponibilizados pastos de brachiarião (*Brachiaria brizantha*), mombaça (*Panicum maximum*), quicuiu (*Brachiaria humidícola*), além de mineralização à vontade. Os animais foram divididos em três grupos de acordo com a idade: 15 a 16 meses (n=5; grupo 1), 19 meses (n=5; grupo 2) e de 25 a 42 meses (n=23; grupo 3). Foram coletados também medidas da circunferência escrotal (CE), perímetro torácico (PT), peso (P) e idade (Id). A medida de C.E foi feita através de fita métrica metálica flexível milimetrada até 50 cm. Os testículos também foram verificados quanto à consistência e mobilidade pela palpação, posição e localização normais pela inspeção. O perímetro torácico (P.T) foi obtido pelo contorno do tórax feito por uma fita métrica plástica de 232 cm passando posteriormente à cernelha e voltando perpendicularmente à linha do dorso. O peso foi obtido pesando-se cada animal individualmente antes da realização das outras medidas. As idades foram obtidas a partir das fichas de controle dos rebanhos da fazenda. Para avaliação da média e desvio padrão das características estudadas foi utilizado o teste estatístico de Modelos Lineares Gerais (General Linear Model, GLM/SAS). Para a correlação entre as características foi utilizado o teste de correlação de Pearson.

Resultado e Discussão

Verificamos que os cinco animais do Grupo I, representando 15,15% dos 33 animais avaliados, apresentaram as seguintes médias de Peso ($X = 398,0 \pm 27,5$), CE ($X = 25,0 \pm 1,2$) e PT ($X = 179,2 \pm 2,9$). Os cinco animais do Grupo II, que também representam 15,15% dos 33 animais avaliados, apresentaram as seguintes médias para Peso ($X = 446,0 \pm 26,7$), CE ($X = 26,2 \pm 0,9$) e PT ($X = 190,0 \pm 5,3$). Do grupo III, 23 animais representando 69,70% do total, apresentaram as seguintes médias das medidas corporais: Peso ($X = 519,0 \pm 58,5$), CE ($X = 28,5 \pm 3,0$) e PT ($X = 197,3 \pm 6,2$). De acordo com as análises de correlação de Pearson, as características que mais se relacionam são: $P/PT = 0.84$ seguida de $Id/PT = 0.75$ e $Id/P = 0.73$. A característica que menos se correlacionou com as demais foi a CE, nesta ordem $CE/P = 0.17$ seguida por $CE/Id = 0.41$ e $CE/PT = 0.42$. Ohashi. (1993) observou que a CE é uma característica que pode ser utilizada para avaliação do desenvolvimento sexual em búfalos. Vale et al. (2001) observaram que a CE apresenta uma alta correlação com a idade e o peso corporal, o que não está de acordo com os dados obtidos neste estudo.

Conclusão

De acordo com os dados encontrados pode-se dizer que búfalos Murrah apresentam bons padrões de circunferência escrotal, peso, e perímetro torácico a partir dos 19 meses de idade, porém não foi encontrada nenhuma correlação significativa entre a CE e o P dos animais estudados.

Referências Bibliográficas

- Hafez, E. S. E.; Reprodução animal; 6ª edição; São Paulo; Manole; pág. 269-270/ 309-314; 1995.
Ohashi, O. M. Estudos morfofisiológico do testículo de búfalos mestiços (*B. bubalis*) em diferentes idades. In: Dissertação (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu, p. 1, 1993.
Vale, W.G. Gastal, D.W. Snel-Oliveira, M.V.Mondadori, R.G. Relationship of age, bodyweight and scrotal circumference in Murrah buffalo bulls. *Anais...VI th World Buf. Cong.*, Maracaibo, V.2:248-255, 2001.

Palavras-chaves: Búfalos; Circunferência escrotal.

Keywords: Buffaloes; Scrotal circumference.



Avaliação espermática na determinação da idade à puberdade e maturidade sexual de búfalos (*Bubalus bubalis*) na Região Amazônica

Evaluation spermatic profile in establish of puberty and sexual maturity in the Brazilian Buffaloes

E.M. Barbosa, A.O. Soares, H.F.L. Ribeiro, S.T. Rolim Filho, W.G.Vale, B.L.F. Rodrigues

Universidade Federal Rural da Amazônia, e-mail: haroldoribeiro@ufra.edu.br

Introdução

Os bubalinos vêm despertando elevado interesse na pecuária nacional. Com o advento da inseminação artificial, aspectos físicos e morfológicos do sêmen e sua relação com a fertilidade tem sido objeto de várias pesquisas (VALE et al., 1988). Face aos avanços ocorridos na bubalinocultura mundial e nacional, especialmente com a difusão do uso da biotecnologia dos rebanhos, fez com que aflorasse a necessidade de conhecimentos básicos da fisiologia do macho bubalino, uma vez que os parâmetros fisiológicos dos bovinos não se ajustam aos bubalinos no que concerne à reprodução (OHASHI, 1993). O objetivo do presente trabalho foi avaliar o perfil espermático de búfalos com idade variando de 15 a 42 meses e correlacionar aspectos físicos e morfológicos do sêmen (motilidade, concentração e patologia) com o início da puberdade.

Materiais e Métodos

Foram utilizados 33 animais da raça Murrah, criados em regime semi-intensivo, com idade variando entre 15 a 42 meses pertencentes à fazenda Santa Rita no município do Nordeste paraense, Nova Timboteua, no Estado do Pará. Os animais foram divididos em três grupos: Grupo I (n = 5), animais com menos de 19 meses (de 15 a 16 meses); Grupo II (n = 5), animais com 19 meses; e Grupo III (n = 23), animais com mais de 19 meses (de 25 a 42 meses). O sêmen foi obtido por meio de eletroejaculação e/ou massagem das ampolas dos ductos deferentes e vesículas seminais. Na própria fazenda foi observado no espermiograma turbilhonamento (0 a 5) colocando-se uma pequena gota em lâmina e observando-se ao microscópio; a motilidade (0 a 100%) e o vigor (0 a 5) também observados colocando-se uma pequena gota em lâmina com lamínula e observando-se ao microscópio. A concentração espermática (sptz x 10⁹/ml) foi feita utilizando um fotocolorímetro na Central de Biotecnologia da Reprodução Animal (CEBRAN) da Universidade Federal do Pará, localizada na cidade de Castanhal. A percentagem de patologias maiores, menores e totais foi observada em esfregaço de sêmen em lâmina, corado pelo método Cerovsky em que as lâminas ficavam mergulhadas no corante vermelho do congo (1 min) e depois no violeta de genciana (30 seg), observado ao microscópio em óleo de imersão contando-se um total de 200 células espermáticas.

Resultado e Discussão

Verificamos que dos cinco animais do Grupo I, representando 15,15% dos 33 animais avaliados, nenhum ejaculou (100%) por nenhum dos métodos utilizados, eletroejaculação ou massagem. Dos cinco animais do Grupo II, que também representam 15,15% dos 33 animais avaliados, três ejacularam (60%), e dois (40%) não ejacularam, com um deles ainda apresentando frênuo. Do grupo III, 23 animais foram submetidos à coleta representando 69,70% do total, dos quais 19 (82,61%) ejacularam e 4 animais (17,39%) não ejacularam. A seguir estão as médias dos valores espermáticos: GI nenhum animal ejaculou; GII motilidade (26,6% ± 25,1), Concentração (0,278 ± 0,1 x 10⁹) e patologias maiores (18,1% ± 5,3); GIII motilidade (21,0% ± 20,7), Concentração (0,387 ± 0,3 x 10⁹) e patologias maiores (15,4% ± 9,4). Quanto ao método de coleta do sêmen dos 10 animais submetido a massagem todos ejacularam. Dos 19 submetidos a eletroejaculação 12 ejacularam e dos 4 submetidos a ambos o métodos nenhum ejaculou. Segundo Ohashi et al. (1988), não é aconselhável o uso do método de eletroejaculação para a colheita de sêmen, uma vez que o búfalo mostra-se bastante sensível ao estímulo elétrico, podendo, entretanto, o sêmen ser colhido através da massagem das ampolas.

Conclusão

De acordo com os dados encontrados podemos dizer que búfalos Murrah são púberes a partir dos 19 meses de idade. Constatamos que a massagem é um método de coleta de sêmen em bubalino mais eficaz que a eletroejaculação, já que obtivemos sêmen de todos os animais que foram submetidos a este método.

Referências

- Ohashi, O. M.** Estudos morfofisiológico do testículo de búfalos mestiços (*B. bubalis*) em diferentes idades. In: Dissertação (Doutorado em Ciência Animal) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu, p. 1, 1993.
Vale, W.G.; Ribeiro, H.F.L.; Ohashi, O.M.; Sousa, J. S. Bubalinos: Fisiologia e patologia da reprodução. Campinas: Fundação Cargill, 1988.

Palavras-chaves: Búfalos; Puberdade.

Keywords: Buffaloes; Puberty.



Rendimento intrínseco da espermatogênese de carneiros crioulos lanados

Intrinsic rate of spermatogenesis in crioulo lanado rams

D.S. Costa¹, V.M.V. Martins², E. Martins³, C.P. Cardoso²

¹ FAMEZ – UFMS, Campo Grande/MS; ² CAV – UDESC, Lages/SC; ³ Epagri, Lages/SC
E-mail: deiler@nin.ufms.br

Introdução

Os carneiros da raça Crioula Lanada, criados no Planalto Serrano Catarinense, possuem velo de coloração variando do branco ao preto, incluindo tons intermediários. Essa variedade natural de cores e o bom comprimento de mechas são muito importantes no processo de produção de lã para artesanato, vestimentas e tapeçaria industrial (Vaz, 2000). O rendimento intrínseco da espermatogênese pode ser avaliado a partir de razões numéricas entre as populações celulares encontradas por secção transversal de túbulos seminíferos, possibilitando comparações da eficiência do processo espermatogênico entre raças e espécies diferentes (Costa et al., 2007).

Material e Métodos

Coletaram-se testículos de cinco carneiros Crioulos Lanados adultos. Após a castração, os testículos foram fixados por perfusão tecidual com solução de Karnovisk e os fragmentos testiculares incluídos com glicol metacrilato. Cortes de 4µm de espessura foram corados com azul de toluidina e borato de sódio a 1%. O rendimento intrínseco da espermatogênese foi determinado conforme Costa et al., 2007. As seguintes razões foram calculadas: coeficiente de eficiência de mitoses espermatogônias (nº espermatócitos I em pré-leptóteno/leptóteno-PL/L e nº espermatogônias A), rendimento meiótico (nº espermátides arredondadas-Ar e nº espermatócito I em paquíteno-PQ), rendimento geral da espermatogênese (nº espermátides arredondadas-Ar e nº espermatogônias A) e ocorrência de perdas celulares durante a prófase meiótica (nº espermatócitos I em pré-leptóteno/leptóteno-PL/L e nº de espermatócito I em paquíteno-PQ).

Resultados e Discussão

O coeficiente de eficiência de mitoses espermatogônias encontrado foi 14,4, ou seja, cada espermatogônia do tipo A produziu em média 14,4 espermatócitos primários em pré-leptóteno. O rendimento meiótico do processo espermatogênico dos animais trabalhados foi 3,2, portanto, cada espermatócito primário na fase de paquíteno da prófase meiótica produziu uma média de 3,2 espermátides arredondadas. Valor que é apenas 80% do número teoricamente esperado, ou seja, cada espermatócito primário em PQ deveria gerar quatro espermátides arredondadas. Por sua vez, o rendimento geral da espermatogênese dos carneiros crioulos lanados foi 45,2, portanto, cada espermatogônia do tipo A produziu, em média, apenas 45,2 espermátides arredondadas, indicando uma perda de 82,4% durante todo processo de divisão celular. Perdas celulares durante a espermatogênese normal têm sido observadas em vários mamíferos e parece ser um mecanismo para limitar o número de células germinativas a uma quantidade que pode ser suportada pelas células de Sertoli disponíveis. Desta forma, mesmo em espécies com alta produção espermática, as perdas celulares durante as divisões espermatogoniais podem ser altas (França e Russell, 1998).

Referências Bibliográficas

- Costa DS, Menezes CMC, Paula TAR** Spermatogenesis in white-lipped peccaries (*Tayassu pecari*) Anim. Reprod. Sci. v.98, p.322-334, 2007.
- França LR, Russell LD** The testis of domestic animals. In: Regadera, J. & Martinez-Garcia, F (ed). Male reproduction. a multidisciplinary overview. Churchill Livingstone, Madrid, 1998, p. 197-219.
- Vaz CMSL.** Morfologia e Aptidão da Ovelha Crioula Lanada. Bagé: EMBRAPA Pecuária Sul, 2000. 20p. (EMBRAPA Pecuária Sul. Documentos, 22)

Palavras-chave: Espermatogênese, túbulo seminífero, ovino, crioulo lanado.

Keywords: Spermatogenesis, seminiferous tubule, ram, crioulo lanado.



Ocorrência de espermatozóides decapitados, com atividade mótil da cauda isolada, em um carneiro da raça Dorper

Decapitated sperm defect with active tails in a ram of the Dorper breed

R.F. Bittencourt, S.D. Bicudo, C.E.A. Biscarde, J. Siqueira, E. Oba

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Unesp-Botucatu,
E-mail: rfbvet@yahoo.com.br

Introdução

A ocorrência de espermatozóides decapitados com manutenção da motilidade do flagelo é uma patologia espermática classificada como um defeito maior, associada a infertilidade do reprodutor e cuja ocorrência já foi relatada na espécie bovina (BLOM e BIRCH-ANDERSEN, 1970). Essa patologia espermática é originada durante o processo espermatogênico, por uma má formação da lâmina basal e da fossa de implantação na base da cabeça espermática. Assim, durante o trânsito epididimário ou no momento da ejaculação, há a decapitação espermática, no qual o flagelo mantém sua atividade mótil (BLOM e BIRCH-ANDERSEN, 1970), já que houve uma formação completa dessa estrutura. Após um vasto levantamento na literatura científica, não foram encontrados relatos dessa patologia na espécie ovina.

Material e Métodos

Em Novembro de 2006 um ovino adulto da raça Dorper, com vários filhos nascidos, deu entrada em uma Central de Processamento de Sêmen, com a finalidade de congelação do sêmen. Na anamnese foi apresentado um histórico recente de quadro sugestivo de epididimite, durante uma exposição em Junho de 2006, com presença de pequeno nódulo fibroso circular no epidídimo esquerdo. Segundo os veterinários da referida Exposição o animal, quando submetido ao exame andrológico, apresentou quadro espermático normal. Posteriormente, o animal foi submetido à antibióticoterapia e anti-inflamatórios, no entanto, houve progressão do processo inflamatório. Na Central, o animal foi submetido a avaliação clínica geral, clínica reprodutiva e colheita de sêmen, com exames andrológicos consecutivos, pesquisa de leucócitos no sêmen e exame ultra-sonográfico testicular, na tentativa de formar um quadro diagnóstico sugestivo.

Resultados e Discussão

Na palpação do testículo foi constatada uma alteração importante, unilateral, na região da cabeça do epidídimo esquerdo, que demonstrava uma consistência intensamente firme, com perda da característica fibro-elástica do epidídimo normal. Ambos os testículos e o epidídimo direito não apresentavam alterações visuais, nem perceptíveis a palpação. No espermograma foi observada uma alta incidência (33%) de uma patologia espermática maior, caracterizada pelo destacamento da cabeça do espermatozoide, com a manutenção da atividade mótil da maioria das caudas espermáticas isoladas, geralmente, acompanhada de dobramento na região proximal do flagelo com presença ou não de uma gota protoplasmática, o que a primeira vista se assemelhava à patologia de cabeça subdesenvolvida. O espermograma apresentou um total de 42% de defeitos totais (37% de defeitos maior), 50% de motilidade progressiva, vigor 3,5 (0-5) e concentração espermática de 540×10^6 espermatozóides/mL. O animal foi submetido a orquiectomia unilateral, para exame histopatológico que verificou acúmulo de material caseoso e ausência de processo neoplásico. Segundo BARTH (1989), a patologia de espermatozóide decapitado com flagelo móvel, é originada por uma fragilidade da região da lâmina basal do colo espermático, devido a uma má formação dessa estrutura durante o processo espermatogênico, na qual os espermatozóides ao ganharem a capacidade de motilidade no epidídimo, ou no momento da liberação da gota citoplasmática, acabam promovendo a ruptura dessa região. Nesse estudo não foram realizadas avaliações ultra-estruturais do espermatozóide, para averificar a possibilidade da má formação da fossa de implantação, o que impede concluir que essa seria a causa da ocorrência da patologia descrita ou se a mesma é derivada da alteração epididimária que, em alguns casos, pode promover o aparecimento de importante percentual de destacamento de cabeça (BARTH, 1989).

Referências Bibliográficas

- Barth A.D., Oko, R.J. Abnormal morphology of bovine spermatozoa. Ames. IA. Iowa State University Press, 1989. 285p.
Blom E., Birch-Andersen, A. Ultrastructure of the decapitated sperm defect in Guernsey bulls. *J. Rep. Fert.*, v. 23, p.67-72, 1970.

Palavras-chave: Ovino, Dorper, espermatozóide decapitado.

Keywords: Ovine, Dorper, decapitated sperm.



Avaliação da idade como padrão de seleção em cabritos Saanen

Evaluation of age as a selection pattern of Saanen kid goats

R.M. Ferreira¹, M.E.F. Oliveira¹, S.F. Souza², M.F. Cordeiro¹, D.S. Melo¹, H. Ayres³, P.H. Franceschini¹, W.R.R. Vicente¹, R.G. Costa², K.T. Resende¹, I.A.M.A. Teixeira¹

¹UNESP/FCAV, Jaboticabal-SP, Brasil, ²UFPB/CCA, Areia-PB, Brasil, ³USP/FMVZ, SP-SP, Brasil
e-mail: robertinhavet@yahoo.com.br

Introdução

A exploração racional e econômica da caprinocultura brasileira depende de avanços técnicos que melhorem o desempenho reprodutivo dos animais. O peso vivo vem sendo utilizado como a medida mais importante para a introdução e adoção de práticas simples de manejo, como a seleção precoce de reprodutores. No entanto, a identificação da idade em que o macho está apto à reprodução poderá permitir que o produtor realize essa seleção de forma mais prática e segura, encurtando o intervalo entre gerações e, conseqüentemente, realizando um melhoramento genético mais rápido do rebanho, já que a precocidade reprodutiva é uma característica geneticamente herdada (Campos *et al.*, 2003). Diante da carência de pesquisas mais aprofundadas e fundamentadas das características andrológicas de caprinos da raça Saanen, objetivou-se, com esse estudo, a avaliação da relação da idade e peso com o padrão seminal desses cabritos, visando o aperfeiçoamento das práticas de manejo reprodutivo nos sistemas de produção.

Material e Métodos

O experimento foi realizado no Setor de Caprinocultura e no Laboratório de Reprodução Animal da UNESP/Jaboticabal, durante o período de agosto de 2006 a março de 2007. Foram avaliados oito caprinos machos da raça Saanen (totalizando 58 avaliações), desde o desbridamento do pênis até a obtenção de ejaculados normais (seguindo normas do CBRA). Quinzenalmente, foram realizadas pesagens em balança digital, mensuração do perímetro escrotal (PE) com fita métrica e coletas de sêmen com uso de eletroejaculador, para avaliação dos parâmetros seminais: volume do ejaculado, motilidade progressiva, vigor, movimentação massal, concentração e morfologia espermática (contraste de fase) e porcentagem de espermatozoides vivos (eosina-nigrosina). Os dados foram avaliados utilizando o programa estatístico SAS for Windows (SAS, 2000). Os parâmetros seminais foram analisados utilizando o PROC Glimmix, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey ($P > 0,05$). Foi verificada correlação de Pearson das variáveis relacionadas ao andrológico com as idades e número de coleta dos animais.

Resultados e Discussão

Foi possível observar que o peso corporal não é um bom parâmetro para se predizer a precocidade reprodutiva de cabritos. O perímetro escrotal apresenta um aumento numérico com o aumento das faixas de idade (variando de 16 a 25 cm, com média de 21,89 cm). Também foi observado que o sêmen atinge os padrões aceitáveis quando os animais se encontram entre 165 e 180 dias de idade, independente da idade em que ocorreu o desbridamento. Animais que desbridam mais cedo (84 e 91 dias), precisam passar por maior número de coletas (9 e 7 coletas, respectivamente) até que ocorra a padronização seminal. Há, ainda, uma elevada correlação ($p < 0,0001$) entre o número de coletas (1 a 9) e PE ($R = 0,80$), motilidade progressiva ($R = 0,66$), vigor ($R = 0,58$), movimento massal ($R = 0,68$), porcentagem de espermatozóide vivos ($R = 0,71$) e defeitos espermáticos maiores ($R = -0,72$). Observou-se uma alta correlação entre a motilidade progressiva e o movimento massal ($R = 0,95$; correlação de Pearson), fato já esperado, uma vez que o movimento massal é um parâmetro dependente do número de espermatozoides com motilidade progressiva. Portanto, conclui-se que a seleção precoce de machos destinados à reprodução seja feita através da idade, entre 165 dias e 180 dias. Ainda, que o peso vivo e a idade ao desbridamento do pênis são características menos importantes.

Referências bibliográficas

Campos ANC, Nunes JF, Silva Filho AHS, Monteiro AWU. Parâmetros biométricos do trato genital masculino de caprinos sem raça definida (SRD) criados no semi-árido nordestino. *Braz J Vet Res Anim Sci* n.40, p.185-189, 2003

Palavras-chave: caprino, desbridamento, exame andrológico, precocidade, puberdade, sêmen.

Keywords: andrologic exam, desbridement, goat, precocity, puberty, semen.



Sazonalidade das proteínas seminais de caprinos da raça Anglo-nubiana no Nordeste do Brasil

Seasonality of seminal proteins from Anglo-Nubian goats in Northeast of Brazil

A.V.C. Teixeira¹, A.M.X. Eloy², J.R. Furtado³

¹Mestranda Universidade Estadual Vale do Acaraú angelazootecnia@yahoo.com.br

²Pesquisadora Embrapa Caprinos angela@cnpic.embrapa.br

³Assistente de Pesquisa Embrapa Caprinos ricardo@cnpic.embrapa.br

Introdução

As proteínas seminais já são estudadas em várias espécies, entre elas a bovina, eqüina, e suína, mostrando influência sobre a qualidade e congelabilidade do sêmen, e, como consequência, na fertilidade dos machos. No entanto, estudos das proteínas seminais em caprinos ainda é incipiente. O objetivo desse trabalho foi identificar o perfil protéico do plasma seminal de caprinos da raça Anglo-nubiana nas épocas seca e chuvosa na região semi-árida do Nordeste do Brasil.

Material e Métodos

Foram utilizados cinco animais adultos da raça Anglo-nubiana cujas coletas de sêmen foram realizadas através da vagina artificial, durante as épocas chuvosa (maio/2006) e seca (agosto/2006), com pluviosidade e temperatura máxima de 164,5 mm³ e 29°C e 0,00 mm³ e 32°C, respectivamente. O plasma seminal foi obtido através de centrifugação (1500g) do sêmen a 4°C durante 40 minutos e foram realizadas análises das proteínas totais (Lorry et al., 1951) e eletroforese unidimensional SDS PAGE do *pool* de amostras das respectivas épocas do ano. As bandas, seus pesos moleculares e concentração foram calculadas usando-se Software específico (Doc-IT-LS 6.0).

Resultados e Discussão

Observou-se na época seca a presença de uma banda com peso molecular de 16,00 *KDa.*, a qual não foi encontrada na época chuvosa. Em contrapartida, uma banda protéica de alto peso molecular (96 *KDa*) foi observada na época chuvosa. A concentração das bandas de maior peso molecular na época chuvosa apresentaram maior concentração de proteínas por banda, corroborando com os achados de Pinheiro et al. (1996) e Martinez & Eloy (2006) que acharam níveis de proteínas totais elevadas na época chuvosa. Talvez essas diferenças expliquem os resultados obtidos por Martinez & Eloy (2006) que identificaram maior número de doses de sêmen aprovadas na época seca, sugerindo haver alguma proteína ou fator no plasma seminal ligado à congelabilidade. Conclui-se, portanto, que as proteínas seminais apresentam diferentes perfis protéicos nas épocas chuvosa e seca, quanto ao número de bandas, peso molecular e concentração em caprinos da raça Anglo-nubiana no semi-árido do Nordeste.

Referência Bibliográfica

Lorry, O.H.; Rosenbrough, W.J.; Farr, A.L.; Randall, R.J. Protein measurement with folin phenol reagent. *Journal of Biology and Chemistry*, v.193,p.265-275, 1951.

Martinez, P.M.; Eloy, A.M.X. Efeito da sazonalidade sobre a congelação de sêmen caprino no Nordeste. IN: Congresso Norte-Nordeste de Reprodução Animal, 2, 2005. Teresina, PI. *Anais eletrônicos...* Teresina: UFPI, 2005. Disponível em CD.

Pinheiro, R.R.; Machado, R.; Pinheiro, A.A. Parâmetros bioquímicos do plasma seminal de três tipos raciais de caprinos no Nordeste do Brasil. IN: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 33., 1996. FORTALEZA, CE. *Anais. Sociedade Brasileira de Zootecnia* p.416-418, 1996.

FUNCEME www.funceme.br/DEMOT/index.htm

Palavras chave: Caprino; sêmen; proteínas seminais.

Key Words: Goats; semen; seminal proteins.



Comprimento testicular e perímetro torácico como parâmetros para determinar a puberdade de caprinos da raça Boer

Testicular length and thoracic perimeter as parameters to determine Boer breed goat puberty

F.Q.G. Bezerra¹, E.M.P. Azevedo¹, C.I.M. Gonzalez², C.R. Aguiar Filho¹, R.M. Chaves¹,
M.H.B. Santos¹, J.P. Neves¹, P.F. Lima³, M.A.L.Oliveira³

¹Pós-Graduação UFRPE, ²EMEPA-PB, ³Lab. Rep. Animal, UFRPE (malo@ufrpe.br)

Introdução

O estágio de desenvolvimento sexual de um animal depende, além da idade, de fatores como raça, alimentação, manejo, temperatura ambiente, fotoperíodo e peso corporal (Adam e Robinson, 1994). Idade, peso ao nascer, desenvolvimento ponderal, perímetro escrotal e desbridamento do pênis são indicadores importantes do início da puberdade em caprinos (De La Vega et al., 2001). No caprino, as adversidades climáticas e ambientais do semi-árido podem induzir adaptações morfológicas e até mesmo fenotípicas que permitem uma atividade sexual normal, como nos casos de testículos com bolsa escrotal individual e bipartida (Robertshaw, 1982). O objetivo deste trabalho foi determinar a influência do comprimento testicular e perímetro torácico sobre o aparecimento da puberdade de machos da raça Boer durante as estações seca e chuvosa.

Material e Métodos

Foram utilizados 22 caprinos (*Capra hircus*) machos da raça Boer provenientes da Estação Experimental Benjamim Maranhão (EMEPA), a qual é sediada no Município de Campo de Santana-PB. Os animais foram criados no sistema semintensivo, numa mesma baía, tendo acesso ao piquete formado por pastagem nativa, capim buffel (*Cenchrus ciliaris* L.), com água e sal mineral *ad libitum*. A partir de 30 dias de idade, os nascidos na estação chuvosa (EC) foram avaliados oito vezes e os nascidos na estação seca (ES) dez vezes, a cada 30 dias. Foram quantificados comprimento testicular (CT) e perímetro torácico (PT) com paquímetro e fita métrica, respectivamente. Os dados foram submetidos à análise de correlação parcial de Pearson e teste de comparação de médias (t-Student), considerando-se o nível de significância de 5%.

Resultados e Discussão

O CT esquerdo e direito dos animais nascidos na estação seca variou de 1,7±0,3 a 6,0±0,2 e 1,5±0,2 a 5,9±0,2cm e aqueles nascidos na estação chuvosa oscilou entre 2,2±0,4 a 4,4±0,3 e 2,1±0,4 a 5,1±0,5cm, respectivamente. Os resultados finais deste experimento foram semelhantes aos encontrados por Campos et al. (2003) em caprinos adultos SRD. Foi constatado que o CT dos animais nascidos na estação chuvosa foi maior ($p < 0,05$) até o sexto mês, situação invertida no sétimo e igualando no oitavo mês de vida. No PT observou-se uma rápida elevação até o quarto mês (61,05±4,76cm) o qual atingiu a puberdade nos animais nascidos na estação chuvosa, sendo que na estação seca, essa elevação foi mais evidenciada a partir do quinto ao sétimo mês (65,60±4,06cm) atingindo a puberdade neste momento. Pariacote et al. (2004) observaram que o PT tem sido considerado a medida linear de maior precisão na determinação do crescimento muscular, resultando no peso final do animal, fato que influenciou diretamente na puberdade. Ambos os parâmetros CT e PT tiveram elevada correlação de $r = 0,90$ ($p < 0,0001$).

Conclusões

Os resultados permitem concluir que o CT e PT estão diretamente relacionados com a puberdade aos 4 e 7 meses, respectivamente nas estações chuvosa e seca, podendo ser utilizados como indicadores do início da puberdade no macho caprino da raça Boer.

Referências Bibliográficas

- Adam CL, Robinson JJ. The role of nutrition and photoperiod in the time of puberty. *Production Nutrition Science*, v. 53, n. 1, p. 89-102, 1994.
- De La Vega A, Ruiz R, Wilde O. Relación de la circunferencia escrotal con algunos parámetros de calidad seminal en caprinos Criollos de Tucumán (Argentina). *Zootecnia Tropical*, 19: 455-463, 2001.
- Robertshaw D. Concepts in animal adaptation: thermoregulation of the goat. In: *International Conference on Goat Production and Disease*, 3. Tucson, Proceedings, Scoltsdale, AZ. *Dairy Goat Journal*, p. 395-397, 1982.
- Campos ANC, Nunes JF, Silva Filho AHS, Monteiro AWU. Parâmetros biométricos do trato genital masculino de caprinos SRD criados no semi-árido nordestino durante o período seco e chuvoso. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science* (2003) n. 40: 185-189, 2003.
- Pariacote FA, Ruiz L, Ascensão DCD, Borges C, Pimentel X. Características morfológicas del caprino Criollo venezolano, *Arch. Latinoam. Prod. Anim.* Vol. 12 (Supl. 1): 16-21, 2004.

Palavras-chave: Perímetro torácico, comprimento testicular, caprino.

Keywords: Thoracic perimeter, testicular length, goat.



Influência da estação do ano nas proteínas de membrana plasmática do espermatozóide de garanhões

(Seasonal influence on stallion sperm plasm membrane proteins)

K.M.G. Silva^a, M.C.G. Leitão^b, E.C.B. Silva^a, P.L.J. Monteiro Jr^a, M.E.C. Chaves^b, J.L. Lima Filho^b,
A.L.F. Porto^a, M.M.P. Guerra^a

^aUFRPE, Recife, PE; ^bLika/UFPE. Karenmascaro1@hotmail.com

Introdução

Estação reprodutiva em garanhões tem sido caracterizada por dias longos, período de máxima capacidade reprodutiva. Leme et al. (2003) verificaram que esses animais apresentaram alterações em algumas características reprodutivas entre as estações do ano no Brasil. Tem sido reportado que perda da integridade de membrana plasmática é frequentemente associada com infertilidade em homens, apesar dos parâmetros seminais normais (BATOVA et al., 1998). O presente trabalho teve como objetivo avaliar a influência da estação do ano nas proteínas de membrana plasmática relacionadas com alguns parâmetros do sêmen in natura de garanhões.

Material e Métodos

Usou-se sêmen de três garanhões Mangalarga Marchador, colhido com vagina artificial no período de junho/julho de 2005 (inverno) e janeiro de 2006 (verão), avaliado quanto a motilidades total (MT) e progressiva (MP), integridade do acrossoma (iAc) (FITC-PNA) e de DNA (Laranja de Acridina). A eletroforese bidimensional (2-D) seguiu o protocolo de Berkelman e Stensted (1998), sendo processado no Lika. Diferenças entre as médias da avaliação seminal foram testadas através da análise de variância (ANOVA) em nível de 0,05 de probabilidade. As análises dos géis de proteína 2-D foram realizados através do programa Image MásterTM (2-D Platinum software da Amersham Biociences).

Resultados e Discussão

Foi observada diferença significativa ($P < 0,05$) nos valores de MT ($76,67 \pm 5,59\%$; $66,67 \pm 5,59\%$) e MP ($83,89 \pm 5,46\%$; $75,56 \pm 6,35\%$) dentro e fora da estação reprodutiva (ER), respectivamente, com superioridade dos valores na ER, concordando com Leme et al. (2003). A análise de iAc apresentou porcentual médio de $98,44 \pm 1,51\%$ e $96,78 \pm 2,63\%$, dentro e fora da ER respectivamente assim como nos estudos da iDNA onde obteve-se 100% de células íntegras, evidenciando boa qualidade espermática nas duas estações apesar de ter havido pequena queda nas médias no período não reprodutivo na iAc. Observou-se maior número de pontos proteicos (Pp) entre 36 e 97 kDa e entre os pontos isoeletrônicos (Pi) 4 e 7 fora da ER, período caracterizado por menor média de MT e MP. Talvez a melhor qualidade espermática esteja relacionada com a ausência dessas proteínas citadas. Neste período também foi encontrado o maior número ($n=46$) de Pp no gel de eletroforese em relação ao período da ER ($n=33$). Houve maior volume de plasma seminal ($56,89 \pm 13,86$ mL) neste período ($40,33 \pm 9,80$ mL), fato explicado pela melhor estimulação sexual dos garanhões, podendo justificar a maior quantidade de proteínas.

Referências Bibliográficas

- Berkelman, T.; Stensted, T. 2-D eletrophoresis: using immobilized pH gradients, principles & methods. Piscataway: Amersham Pharmacia Biotech, 1998. 50p.
Batova, I.N.; Ivanova, M.D.; Mollova, S. *et al.* Human sperm surface glycoprotein involved in sperm-zona pellucida interaction. *Int. J. Androl.*, v. 21, p. 141-153, 1989.
LEME, D.P.; PAPA, F.O.; ROSER, J.F. *et al.* Sazonalidade reprodutiva de garanhões nos trópicos. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, v. 27, n. 2, p. 207-209, 2003.

Palavras-chave: Sêmen, proteína, membrana plasmática, equino.

Keywords: Semen, protein, plasmatic membrane, equine.



Atividade de superóxido dismutase em espermatozóides de eqüinos

Superoxide dismutase activity in equine spermatozoa

T.F.S. Domingos, M.L. López, C.A. Retamal

Setor Biologia da Reprodução, LBCT, CBB, UENF
e-mail: thaisadomingos@yahoo.com.br

Introdução

Os espermatozóides são células extremamente vulneráveis ao ataque peroxidativo, já que contêm altas concentrações de ácidos poli-insaturados e são constantemente expostos a espécies reativas de oxigênio, geradas por neutrófilos contaminantes ou por eles mesmos. A presença de enzimas antioxidantes nas secreções do trato reprodutivo masculino é um dos fatores que protegem o DNA espermático do estresse oxidativo. No presente trabalho, objetivou-se verificar a presença da atividade de superóxido dismutase (SOD) em espermatozóides epididimários e de ejaculado de eqüinos.

Material e Métodos

Os epidídimos foram obtidos por castração cirúrgica, dissecados e o conteúdo luminal das regiões de cabeça proximal e distal, corpo e cauda foi coletado segundo López (1987). As amostras de sêmen foram obtidas de garanhões em idade reprodutiva com ajuda de uma vagina artificial. Posteriormente, o conteúdo luminal do epidídimo e o sêmen foram centrifugados a 700 g, 30min a 4°C para obtenção dos espermatozóides. Amostras de espermatozóides epididimários e de ejaculado, *in natura* e criopreservados (Papa *et al.*, 2002), foram lavados em PBS pH 7.0, sonicados em alta intensidade (20 W) durante 3 min [6 ciclos de 30 segundos cada] e centrifugadas a 17000 g, 30min a 4°C. Os sobrenadantes foram armazenados a -20°C após determinar a concentração relativa de proteínas de cada alíquota. As amostras foram submetidas a eletroforeses em condições nativas, com e sem agente redutor. Em seguida, os géis foram incubados em solução contendo 50mM de tampão fosfato de potássio pH 7.8, 1mM de EDTA, 0,05mM de riboflavina, 0,1mM de NBT²⁺, 0,3% de TEMED. Para determinação das isoformas de SOD, os géis foram incubados previamente em uma solução contendo 2mM de KCN e 5mM H₂O₂, que inibe a isoforma CuZn-SOD.

Resultados e Discussão

Os resultados mostraram que espermatozóides imaturos e maduros, obtidos das diferentes regiões epididimárias, apresentam atividade CuZn-SOD, dado que corrobora o publicado para outras espécies (Jervis e Robaire, 2001). Em espermatozóides coletados da região de cauda epididimária foi também detectada atividade Mn-SOD. Em humanos esta atividade tem sido localizada na peça intermediária do flagelo (Weisiger e Fridovich, 1973). Os ensaios com espermatozóides de ejaculados *in natura* e criopreservados durante 30 dias mostraram forte atividade SOD, tanto na ausência como na presença de agente redutor, o que indica que a atividade não é afetada pela redução de pontes -S-S-. Sugere-se que a isoforma predominante nos espermatozóides de ejaculado seja Mn-SOD, uma vez que na presença de inibidor para CuZn-SOD, o perfil eletroforético não é modificado. Cabe mencionar que nos espermatozóides criopreservados ocorre um decréscimo na expressão de atividade SOD, provavelmente causado pelas alterações, provocadas pelo congelamento e descongelamento, na viabilidade e integridade espermática. Espermatozóides epididimários e de ejaculado apresentaram diferentes perfis eletroforéticos. Analisados em conjunto os dados indicam que a enzima SOD, em espermatozóides de eqüino, apresenta alta atividade específica, pois uma pequena concentração de proteínas corresponde a uma grande expressão da enzima.

Referências Bibliográficas

- Jervis, KM; Robaire, B. Dynamic changes in gene expression along the rat epididymis. *Biol. Reprod.* 65: 696–703; 2001.
López, ML.; De Souza, W.; Bustos, E. Cytochemical analysis of the anionic sites on the membrane of the stallion spermatozoa during the epididymal transit. *Gamete Research* 18: 319-332; 1987.
Papa, F; Alvarenga, MA; Dell Aqua, J. *Manual de andrologia e manipulação de sêmen eqüino* (apostila); 2002.
Weisiger, RA; Fridovich, I. Mitochondrial superoxide dismutase: site of synthesis and intramitochondrial localization. *J. Biol. Chem.*, 248:4793–4796; 1973.

Palavras-chave: espécies reativas de oxigênio, espermatozóide, superóxido dismutase.

Keywords: reactive oxygen species, spermatozoa, superoxide dismutase.



Identificação de proteases e substratos endógenos em fluido epididimário (*Equus caballus*)

Identification of proteases and endogenous substrates in epididymal fluid (Equus caballus)

N.A. Curty, M.L. López, C.A. Retamal

Setor Biologia da Reprodução, LBCT, CBB, UENF
e-mail: ncurtydeandrade@yahoo.com.br

Introdução

A maturação espermática é resultado de uma cascata de eventos bioquímicos, morfológicos e fisiológicos que conferem aos espermatozoides o potencial fertilizante. Uma expressão deste processo é a extensa remodelação de proteínas presentes na membrana espermática. Postula-se que estas modificações estejam influenciadas pelo microambiente epididimário, como conseqüência de processamentos proteolíticos dirigidos a substratos específicos. O presente estudo teve como objetivo identificar e caracterizar proteases do fluido epididimário, bem como seus substratos endógenos.

Material e Métodos

Na determinação da atividade enzimática utilizaram-se géis SDS-PAGE 12% co-polimerizados com gelatina 0,4% (zimogramas) (Métayer *et al.*, 2002). Ensaio de inibição (aprotinina, iodoacetamida, EDTA, PMSF) e análise do efeito do pH na atividade da enzima foram realizados visando caracterizar parcialmente as proteases. No intuito de identificar os substratos endógenos, proteases de fluido coletado da região da cauda do epidídimo foram purificadas (Retamal *et al.*, 1999) e incubadas em fluido da mesma região epididimária (durante 72h, 37°C). A atividade proteásica foi visualizada em géis 2D Nativo/SDS (Sun & Pan, 1999).

Resultados e Discussão

Os ensaios de inibição permitiram demonstrar que a atividade detectada corresponde a metaloproteases, a qual está presente em todas as regiões epididimárias. Cabe destacar que a atividade da enzima é mantida em uma ampla faixa de pH (pH 2,0 – 10), sendo o pH ótimo 7,5. Após a incubação das amostras de fluido com proteases purificadas, as proteínas de massas moleculares 117, 80, 69, 57, 50, 44, 35, 68 e 60 kDa desaparecem, indicando que sejam alvo da atividade proteásica. A proteína de 57 kDa se mantém, o que permite descartá-la como substrato de proteases. O Rf de algumas proteínas se altera e também aparecem novas bandas (manchas), como é caso das proteínas de massas moleculares 66, 50, 49, 44, 35, 33,5 e 32,8 kDa. Analisados em conjunto, esses dados sugerem que pode-se estar frente a substratos e produtos resultantes da ação enzimática. Algumas proteínas podem ser secretadas ou estarem presentes em uma forma inativa e tornam-se funcionais após seu processamento no fluido.

Referências Bibliográficas

- Métayer S, Dacheux F, Dacheux JL, Gatti JL.** Comparison, characterization, and identification of proteases and protease inhibitors in epididymal fluids of domestic mammals. Matrix metalloproteinases are major fluid gelatinases. *Biol Reprod*, v.66, p.1219-1229, 2002.
- Retamal CA, Thiebaut P, Alves EW.** Protein purification from polyacrylamide gels by sonication extraction. *Anal Biochem*, v.268, p.15-20, 1999.
- Sun H, Pan YC.** Using native gel in two-dimensional PAGE for the detection of protein interactions in protein extract. *J Biochem Biophys Methods*, v.39, p.143-151, 1999.

Palavras-chave: Proteases, Epidídimo, *Equus caballus*.

Keywords: Proteases, Epididymis, *Equus caballus*.



Variação sazonal das características seminais em cavalos Pantaneiros

Seasonal variation of seminales characteristics in Pantaneiro's horses

J.A.S. Ribas¹, J.F.S. Silva², I.C.N Cunha², C.R. Quirino²

¹Departamento de Fisiologia - Universidade Federal Fluminense - ribasjas@vm.uff.br

²Laboratório de Reprodução Animal, Universidade Estadual do Norte Fluminense.

Introdução

Em regiões subtropicais e boreais, as espécies que apresentam reprodução sazonal, como os eqüinos, têm as características e a qualidade seminais, influenciadas pelas estações do ano (Janett *et al.*, 2003). No entanto, faltam subsídios para avaliação do que acontece com estas espécies nas regiões intertropicais, onde há pouca influência de fatores como o fotoperíodo (Bronson e Heidman, 1994). No Pantanal Mato-Grossense as estações do ano não são bem definidas, dividindo-se em apenas duas: a estação da cheia (C) (verão e outono) e a estação da seca (S) (inverno e primavera). Porém, devido ao relevo pantaneiro, os animais encontram pastagens de boa qualidade durante todo o ano. O presente estudo objetivou observar as variações das características seminais de cavalos Pantaneiros, nas duas estações do ano.

Material e Métodos

No município de Poconé/MT, (Latitude -16° 15' S, Longitude - 56° 37' W, e altitude de 80 m) foram realizadas, ao final de cada estação (abril-final da cheia e outubro-final da seca), cinco colheitas de sêmen, por meio de vagina artificial, de sete garanhões da raça Pantaneira. Após cada colheita, avaliou-se os seguintes parâmetros seminais: volume (mL), pH, motilidade (%), vigor (1-5), concentração (10^6 /mL), morfologia espermática (% espermatozoides patológicos), número total de espermatozoides/ejaculado (10^9 /ejaculado) (Henry e Neves, 1998), funcionalidade da membrana espermática (% de espermatozoides reativos, hiposmótico) (Dell'Aqua Junior, 2001). Para análise estatística, considerou-se como efeitos fixos estação, cavalo, coleta e suas interações. A interação cavalo*estação não apresentou significância para nenhuma das características estudadas, sendo excluída do modelo de análise final. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey, com $\alpha=0,05$ (SAS, 1996).

Resultados e Discussão

Analisando-se os parâmetros seminais nas estações Cheia (C) e Seca (S), observou-se que o volume (C=43,0±20,2; S=46,4±17,1), a concentração (C=204,0±67,5; S=211,4±59,0), a motilidade (C=64,1±6,58; S=66,0±6,0), o vigor (C=3,7±0,5; S=3,8±0,4), o total de defeitos (C=23,6±3,7; S=23,3±3,3), a funcionalidade da membrana plasmática (C=63,2±6,5; S=63,9±5,4) e o pH (C=7,3±0,1; S=7,37±0,1) não variaram significativamente no grupo, diferindo portanto do encontrado por Janett *et al.* (2003) em latitudes acima de 30°, no entanto o total de spz/ejaculado (C=8086,7± 3324,2; S=9219,1±3292,0) e a percentagem de defeitos maiores (C= 21,5±3,7; S=20,4±3,4) variaram significativamente entre as estações, como observado por Janett *et al.* (2003). Estes dados demonstram que na estação seca, a espermatogênese apresenta-se mais eficiente, provavelmente: (1) devido à influência de manejo/alimentação, pois a pastagem nesta estação é de excepcional qualidade, e não pela variação do fotoperíodo, como proposto por Janett *et al.* (2003) (2) Pelo estímulo parácrino-autócrino testicular, devido ao maior contato com fêmeas em estro nesta estação (3) Talvez por um fator regulador endógeno do ciclo reprodutivo dos garanhões. Contudo, apesar dessa pequena melhora da qualidade seminal na estação da seca, o sêmen apresentava-se dentro dos padrões desejados para sêmen eqüino, ao contrário do observado por Janett *et al.* (2003) em seu estudo. Concluiu-se que os cavalos Pantaneiros mantêm a despeito da sazonalidade, condições fisiológicas que permitem uma boa qualidade seminal durante todo ano.

Referências Bibliográficas

- Bronson, F.H.; Heideman, P.D (1994) Seasonal regulation of reproduction in mammals. *In*:Knobill, E., Neill, J.D. (eds.) *The Physiology of reproduction*, 2 ed. New York: Raven Press, p.541-584.
- dell'Aqua Junior, J.A. Papa, F.O. Efeito de diluentes e da intensidade da centrifugação sobre os parâmetros espermáticos na congelamento de sêmen eqüino. *Rev.Bras. Reprod. Anim.*, v.25, p.201-03, 2001.
- Henry, M., Neves, J.P. *Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen*. 2 ed. Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 49p, 1998.
- Janett, F., Thun, R., Niederer, K., *et al.* Seasonal changes in semen quality and freezability in Warmblood stallion. *Theriogenology*, v. 60, p. 453-461, 2003

Palavras chave: Eqüinos, sazonalidade, sêmen.

Keywords: Equine, seasonality, sêmen.



Relação entre biometria testicular e volume seminal de reprodutores suínos de alta performance na fase pré-púbere

Relationship between testicular biometric and seminal volume of prepuberal high performance boars

D.M. Silva, L.D.S. Murgas, A.L.N. Alvarenga, D. Lima, G. Oberlender, T.S. Gaggini, M. G. Zangeronimo

Departamento de Medicina Veterinária – Universidade Federal de Lavras – Lavras MG
E-mail: daianemoreira@hotmail.com

Introdução

A utilização de reprodutores suínos de alta performance visa o aumento da qualidade e da quantidade dos produtos gerados pela suinocultura. O número de leitões/fêmea/ano deve ser aumentado, e isto pode ser atingido melhorando-se as características genéticas dos reprodutores através de excelentes parâmetros seminais, determinando a fertilidade do macho que é influenciada pela biometria testicular e pelo volume seminal (Ferreira et al., 2005). Desta forma, objetivou-se com este trabalho, avaliar a relação entre biometria testicular e volume seminal de reprodutores suínos de alta performance na fase pré-púbere.

Material e métodos

Foram utilizados quatro reprodutores suínos de alta performance do DZO-UFLA, nascidos em fevereiro de 2006 e com peso corporal médio de 124,6Kg. Para o estudo da biometria testicular, foram realizadas seis medidas testiculares. As medidas de comprimento e largura dos testículos direito (CTD e LTD) e esquerdo (CTE e LTE) foram realizadas com auxílio de paquímetro. Para o cálculo dos volumes testiculares direitos (VTD) e esquerdos (VTE), utilizou-se a fórmula $V = 4/3 \pi a b^2$ (V = volume testicular em mL, a=1/2 comprimento testicular em cm e b=1/2 largura testicular em cm), segundo Owsiany et al. (1998). A primeira colheita do sêmen foi realizada aos 280 dias de idade, utilizando-se o método da mão enluvada, com auxílio de um manequim móvel e frasco graduado (mL). Durante a colheita foi feita a separação da fração gelatinosa do ejaculado, por meio de uma camada tripla de gaze adaptada ao frasco coletor. O volume seminal foi determinado diretamente pela leitura no recipiente graduado.

Resultados e Discussão

Os valores médios encontrados foram: 351,6 mL para VTE, 357,4 mL para VTD e 206,2 mL para volume seminal na primeira colheita. Os resultados obtidos foram semelhantes aos observados por Murgas et al (2001), que ao trabalhar com reprodutores híbridos, registrou valores de 388,9 mL, 399,2 mL e 219,5 mL, para VTE, VTD e volume seminal, respectivamente, em animais com peso corporal médio de 128,7Kg. Os resultados mostram que, em linhagens de reprodutores suínos de alta performance, o crescimento testicular e a quantidade de ejaculado produzido acompanham o desenvolvimento corporal. Outros estudos abordando as características seminais deverão ser realizados a fim de se constatar a qualidade do sêmen produzido em reprodutores suínos de alta performance.

Referências Bibliográficas

- Ferreira FM, Wentz I, Scheid IR, Afonso SB, Guidoni AL, Bortolozzo FP.** Comportamento de monta e características seminais de suínos jovens landrace e large white. *Ciência Rural*, v.35, n.1, Santa Maria, jan/fev, 2005.
- Murgas LDS, Fialho ET, Oliveira AIG, Lima JAF.** Desempenho reprodutivo de varrões híbridos alimentados com rações suplementadas com óleo de soja como fonte de ácidos graxos. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v.25, n.6, p.1423-1434, nov/dez, 2001.
- Owsiany J, Kawecka M, Czarnecki R, Rozycki.** Relation between the size of testes and the quantitative parameters of the semen of young boars. *Pig News and Information*, v. 19, n. 2, 1998.

Palavras-chave: biometria testicular, volume seminal, reprodução.

Keywords: testicular biometric, seminal volume, reproduction.



Desenvolvimento testicular em reprodutores suínos de alta performance e no período pré-púbere

Testicle development in high performance boars at prepuberal period

T.S. Gaggini, G. Oberlender, A.L.N. Alvarenga, L.D.S. Murgas, D. Lima, D.M. Silva, M.G. Zangeronimo

Departamento de Medicina Veterinária - Universidade Federal de Lavras

E-mail: thaischwarz@hotmail.com

Introdução

As práticas de biometria e do cálculo do volume testicular auxiliam na caracterização da puberdade e maturidade sexual em suínos. Segundo Scheid & Afonso (2000), a norma que orienta o manejo de machos jovens recomenda a entrada em serviço em torno de oito meses de idade, portanto, antes desse período, caracteriza-se a pré-puberdade. A supervisão do desenvolvimento testicular através dos métodos citados possibilita o estudo comparativo entre linhagens e espécies diferentes, em muitos casos, causando a antecipação da vida reprodutiva.

Material e Métodos

Foram utilizados seis reprodutores suínos de alta performance e de aproximadamente mesma idade, sendo três de uma linhagem, denominada A e três, de uma linhagem B. O experimento foi realizado no Setor de Suinocultura do DZO-UFLA. Para a avaliação da biometria testicular, utilizou-se um paquímetro, com o qual foram mensurados o comprimento e largura dos testículos dos machos. O volume testicular foi obtido através da fórmula sugerida por Owsianny et al. (1998): $V = 4/3 \pi a b^2$ (onde $a = 1/2$ comprimento em cm^2 e $b = 1/2$ largura em cm^2). Os dados foram submetidas às análises estatísticas utilizando-se o programa SISVAR (Ferreira, 1999), e as médias foram comparadas pelo teste Tukey.

Resultados e Discussão

Os resultados da biometria e volume testicular estão apresentados na tabela 1. De acordo com os resultados encontrados a linhagem B apresentou maior volume testicular comparado a linhagem A.

Tabela 1. Biometria e volume testicular de reprodutores suínos de alta performance durante a fase pré-púbere.

Animal	Comprimento testicular (cm)		Largura testicular (cm)		Volume testicular (mL)	
	Esquerdo	Direito	Esquerdo	Direito	Esquerdo	Direito
A	15,2a	14,2a	7,5a	7,4 ^a	443,8a	411,5a
B	15,3a	15,1a	8,5b	8,6b	585,9b	496,7b

a, b Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ao nível de 5%.

O desenvolvimento testicular é um parâmetro utilizado nos programas de melhoramento genético e está altamente correlacionado com o volume seminal e as características espermáticas dos reprodutores. A avaliação da biometria testicular em reprodutores de linhagens de alta performance auxilia no processo de escolha dos reprodutores a serem utilizados para inseminação artificial.

Referências Bibliográficas

- Scheid, I.R.; Afonso, S.B. Treinamento e manejo de machos suínos jovens e adultos. In: Simpósio Internacional de Reprodução e Inseminação Artificial em Suínos, 7., p. 29-39, 2000, Foz do Iguaçu. Piracicaba, 2000.
- Owsianny J, Kawecka M, Czarnecki R, Rozycki. Relation between the size of testes and the quantitative parameters of the semen of young boars. Pig News and Information, v. 19, n. 2, p. 57-60, 1998.
- Ferreira, D. F., Análises estatísticas por meio do Sisvar para windows versão 4.0. In.: Reunião anual da região brasileira da sociedade internacional de biometria, 45., 2000, São Carlos: UFSCAR, 2000.

Palavras-chave: suíno, biometria, desenvolvimento testicular.

Keywords: swine, biometry, testicle development.

Ciclo sazonal testicular em periquitão-maracanã (*Aratinga leucophthalma* Muller, 1776) adulto, mantido em cativeiro

Sazonal testicular cycle in captive adult white eyed parakeet (Aratinga leucophthalma MULLER, 1776)

J.V. Peixoto¹, T.A.R. Paula, S.L.P. Matta, M.K. Balarini, M.A.D. Teles, V.T. Ribeiro, G.V. Peixoto

Universidade Federal de Viçosa – MG. E-mail¹: vetjuliano@yahoo.com.br

Introdução

A maioria das aves, mesmo aquelas tropicais, são reprodutores sazonais apresentando períodos de quiescência e de recrudescência da atividade espermatogênica (Lofts & Murton, 1973). Neste sentido, objetivou-se avaliar o grau de desenvolvimento espermatogênico dos túbulos seminíferos de *Aratinga leucophthalma*, em cativeiro, nas diferentes estações do ano, correlacionando-o com fatores climáticos.

Material e Métodos

Foram realizadas biópsias testiculares de 14 periquitões-maracanãs, alocados no CETAS-UFV, distribuídos em 4 grupos operados no período médio de cada estação: verão (n=4), outono (n=4), inverno (n=3) e primavera (n=3). Os fragmentos testiculares foram processados histologicamente e observados em microscopia de luz quanto ao grau de desenvolvimento espermatogênico (GDE), este foi qualificado através de pontuação de 1 a 4, onde valor 1 foi atribuído aos animais com apenas uma camada de espermatogônia e células de Sertoli (Fig. 1A); valor 2 aos animais com gerações esporádicas de espermatócitos primários (Fig. 1B); valor 3 aos animais contendo várias gerações de espermatócitos primários e espermátides arredondadas (Fig. 1C) e valor 4 aos animais com espermatogênese completada (Fig. 1D). Os parâmetros climáticos correlacionados foram: luminosidade, temperatura, umidade relativa do ar, pressão atmosférica e precipitação pluviométrica.

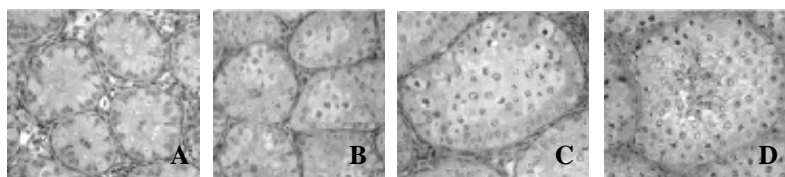


Figura 1: Grau de desenvolvimento espermatogênico em *Aratinga leucophthalma* adulta nas diferentes estações do ano.

Resultados e Discussão

Nos animais estudados, o GDE apresentou valores médios de $3,3 \pm 0,95$ (verão), $1,75 \pm 0,5$ (outono), 3 ± 1 (inverno) e $3,7 \pm 0,6$ (primavera) sendo estatisticamente significativa ($p < 0,05$) a variação observada entre o outono e primavera, caracterizando respectivamente os períodos de menor e maior atividade reprodutiva. O GDE apresentou alta correlação positiva (0,82) com a luminosidade média diária e alta correlação negativa (-0,81) com a umidade relativa do ar. Da mesma forma Lofts & Murton, (1973) observaram diferentes graus de desenvolvimento espermático, ao longo do ano, diretamente relacionados com o tamanho testicular e com a proporção volumétrica e diâmetro dos túbulos seminíferos. Embora Sick (1997) afirme não haver influência ponderável do fotoperíodismo sobre a reprodução das aves de regiões tropicais, o presente e outros trabalhos em aves tropicais (Wikelski et al., 2000), apontam para uma forte correlação da luminosidade diária com o grau de desenvolvimento testicular.

Referências Bibliográficas

- Lofts B & Murton RK. Reproduction in birds. In: Farner, D.S. & King, J.R. (eds). Avian biology. New York: Academic Press, 1973. v.3, p.1-107.
Sick H. Ornitologia Brasileira. Rio de Janeiro: Ed. Nova Fronteira, 1997. 912 p.
Wikelski M, Hau M, Wingfield JC. Seasonality of reproduction in a neotropical rain forest bird. Ecology, v.81, n.9, p.2458-2472, 2000.

Palavras-chave: ciclo espermatogênico, testículo, *A. leucophthalma*.

Keywords: spermatogenic cycle, testicle, *A. leucophthalma*.



Influência da idade sobre a produção espermática diária em cães

Influence of age on daily sperm production in dogs

T.A.R. Paula, R.M. Mascarenhas, L.L. Lanna

Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa.

E-mail: tarcizio@ufv.br

Introdução

Nas últimas décadas observamos um crescimento significativo da cinofilia, com investimento substancial dos criadores na melhoria genética de diferentes raças. A determinação dos parâmetros reprodutivos básicos torna-se relevante como subsídio no desenvolvimento de biotecnologias de reprodução assistida, bem como na avaliação dos efeitos de drogas ou agentes ambientais sobre a função testicular (Olar et al., 1983). Em humanos, têm sido relatados vários efeitos da idade sobre as características testiculares, como queda da qualidade e da produção espermática (Johnson, 1986). O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito da idade sobre a produção espermática diária de cães.

Material e Métodos

Para realização do presente trabalho foram utilizados testículos de 56 cães, sem raça definida. Os animais foram separados em 5 grupos nas seguintes faixas etárias: grupo I: cães de um a dois anos e meio, grupo II: cães de três a quatro anos, grupo III: cães de cinco a seis anos, grupo IV: cães de sete a nove anos, grupo V: cães com dez anos ou mais. Um fragmento testicular de 0,1 cm³ foi removido na região intermédia de um testículo, fixado em formol salina tamponado a 10%, e encaminhado à rotina histológica para inclusão em parafina e obtenção de lâminas histológicas coradas com a hematoxilina e eosina também segundo o protocolo de rotina. Foi então determinada a produção espermática diária total (PED_T) e por grama de testículo (PED_G) pelo método histométrico (Amann, 1981).

Resultados e Discussão

No presente trabalho a PED_T variou de 156,63 a 324,95 x10⁶ e a PED_G variou de 10,08 a 16,73x10⁶, valores de acordo com os previamente descritos por Olar et al. (1983) utilizando o método do homogeneizado testicular. Dentre as diferentes faixas etárias estudadas, observou-se um crescimento significativo da PED_T e PED_G até o grupo III, seguida de gradativa diminuição até o grupo V. A avaliação destes dados revela assim, um maior investimento na produção espermática diária nos animais entre 5 e 6 anos de idade. Concordando com os dados de Paula & Cardoso (1994), que observaram que o diâmetro médio do túbulo seminífero e a espessura média do epitélio seminífero são significativamente maiores nos cães entre 3 e 6 anos de idade, como reflexo do máximo potencial de suporte das células de Sertoli nesta faixa etária.

Referências Bibliográficas

- Amann RP.** 1981. A critical review of methods for evaluation of spermatogenesis from seminal characteristics. *Journal of Andrology*, 2:37-58.
- Johnson L. 1986. Spermatogenesis and Aging in the Human. *Journal of Andrology*, 7:331-354.
- Olar TT, Amann R P, Pickett B W.** 1983. Relationships among testicular size, daily production and output of spermatozoa, and extragonadal reserves of the dog. *Biology of Reproduction*, 29:1114-1120.
- Paula TAR, Cardoso FM.** 1994. Alterações etárias na espermatogênese do cão. I. Análise histométrica. *Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 46: 19-30.

Palavras-chave: Produção espermática diária, espermatogênese, cães.

Keywords: Daily sperm production, spermatogenesis, dog.



Efeito da suplementação oral de vitamina E sobre a viabilidade pós-congelamento do sêmen canino*

Effect of oral vitamin E supplementation on canine seminal viability after freezing

**L.K. Hatamoto-Zervoudakis¹, C.A. Baptista Sobrinho^{2,3}, M. Nichi³, V.H. Barnabe³,
R.C. Barnabe³, C.N.M. Cortada⁴**

¹Laboratório de Biotecnologia e Reprodução Animal, FAMEV-UFMT; ²Exército Brasileiro;

³Depto Reprodução Animal, FMVZ-USP; ⁴ Tecpar

E-mail: lukeiko@ufmt.br

Introdução

A vitamina E é uma vitamina lipossolúvel que está localizada na interface aquosa e nos domínios hidrofílicos das membranas biológicas protegendo as mesmas do dano oxidativo. O dano oxidativo tem sido apontado com o principal responsável pela queda na qualidade seminal pós descongelamento. Na literatura existem poucos trabalhos avaliando a eficiência do uso de anti-oxidantes na proteção celular contra os danos oxidativos provocados pelo processo de congelamento/descongelamento. O objetivo do presente trabalho foi o de avaliar os efeitos da suplementação oral de vitamina E sobre a viabilidade do sêmen canino pós-descongelamento.

Material e Métodos

Foram utilizados 10 cães, da raça Rotweiller, com idade média de 4 anos. Os animais foram divididos aleatoriamente em 2 grupos; o grupo tratamento (GT) recebeu uma suplementação oral de 500mg/dia de vitamina E (α -tocoferol), o grupo controle (GC) não recebeu nenhuma suplementação. Quinzenalmente foram realizadas a coleta e congelamento sêmen durante o período de suplementação totalizando 6 coletas/animal. O sêmen foi obtido através de manipulação digital sem a presença de uma fêmea no cio. Os parâmetros pré e pós congelamento avaliados foram: motilidade e vigor espermáticos e a integridade da membrana espermática (HOST, JEYENDRAN, et al., 1984). O sêmen foi congelado com meio tris-frutose-ácido cítrico. Os dados foram analisados através do SAS ($\alpha=5\%$).

Resultados e Discussão

Não foi possível demonstrar efeito da suplementação oral de vitamina E (VitE) sobre os parâmetros avaliados ($p>0,05$). Entretanto, observou-se que o vigor pós-congelamento foi superior pré, talvez em decorrência da criocapacitação que sofre o sêmen canino. Neste trabalho a hiperativação promovida pelo congelamento não apresentou nenhuma relação com o tratamento. Kessopoulou et al. (1995) também não observaram aumento na hiperativação espontânea de espermatozoides de homens suplementados com vitamina E. A porcentagem de células íntegras pelo HOST após o descongelamento foi significativamente menor em todos os tratamentos indicando que o congelamento foi extremamente deletério para a membrana espermática. A VitE apresentou efeito somente sobre a motilidade e HOST do sêmen fresco ($p<0,05$) no pós-congelamento os tratamentos se comportaram de maneira semelhante; indicando que a proteção conferida pela vitE ao semen fresco não foi suficiente na prevenção do dano oxidativo. Baseado nos resultados deste experimento conclui-se que a suplementação oral com vitamina E não exerce um efeito benéfico sobre viabilidade do sêmen canino pós descongelamento, entretanto maiores estudos tornam-se necessários.

Referências Bibliográficas

Jeyendran, R. S.; Van Der Ven, H. H.; Perez-Pelaez, M. et al. 1984 Development of assay to assess the functional integrity of the human sperm membrane and its relationship to other semen characteristics. *J. Rep. Fert.*, 47: 219-228
Kessopoulou, E.; Powers, H. J.; Sharma, K. K.; Pearson, M. J.; Russell, J. M.; Cooke, I. D.; Barratt, C. L. R. 1995 A double-blind randomized placebo cross-over trial using the antioxidant vitamin E to treat reactive oxygen species associated male infertility. *Fert. Ster.*, 64: 825-831,

Palavras-chave: tocoferol, espermatozoide, cão.

Keywords: tocopherol, spermatozoa, dog.

* Suporte Financeiro: FAPESP, processo nº 00/02981-9; Patrocínio: Socil Guyomarc'h
Este trabalho é parte da tese de doutoramento da primeira autora



Fertilização de óvulos de tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818), com uso de solução à base de água de coco em pó (ACP-104)

Egg fertilization of tambaqui, Colossoma macropomum (Cuvier, 1818), using solution based on powder coconut water (ACP-104)

**M.J.A.F. Vieira, M.A.M. Carvalho C.S.B. Salmito-Vanderley, J.M. Romão,
R.O.Vasconcelos, A.R. Silva Neto, C.C.M. Salgueiro, J.F. Nunes**

Laboratório de Tecnologia do Sêmen Caprino e Ovino, Universidade Estadual do Ceará
E-mail: ascensaof@bol.com.br

Introdução

A técnica de diluição do sêmen em água de coco em pó (ACP) vem sendo testada em várias espécies como caprinos e ovinos (Salgueiro *et al.*, 2004; Nunes *et al.*, 2005). Este trabalho teve por objetivo comparar a eficiência da água de coco em pó (ACP-104) como diluente seminal na fecundação de óvulos de Tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) com o método tradicional de fecundação que utiliza apenas água.

Material e Métodos

Uma fêmea (6.800g; 68cm) e um macho (7.140g; 72cm) foram induzidos hormonalmente conforme Albuquerque *et al.* (1994). Após oito horas e meia da aplicação hormonal, o sêmen de um macho foi extrusado manualmente (8,4 ml), sendo retiradas 10 alíquotas de 100 µl. O sêmen foi conservado sobre gelo a 4°C até o momento da mistura com os óvulos. A desova rendeu 654g de ovócitos que foram divididos em 10 alíquotas de 65g. Foram testados 2 tratamentos com 5 repetições. T1: água de coco em pó (ACP-104; 2,74g/50ml, pH 7,8, 300mOsm/Kg); T2: água *in natura*. No T1, o sêmen foi pré-diluído em 5ml de ACP-104 para melhor utilização dos espermatozoides, enquanto no T2 a fertilização foi realizada a seco, sendo em seguida adicionada água a ambos os tratamentos. Os resultados da fertilização foram observados após 5 horas (embrião com cabeça e cauda em início de formação) conforme Albuquerque *et al.* (1994).

Resultados e Discussão

No T1 (ACP-104) foi verificada uma média de 60% de fecundação contra 55% no T2 (água *in natura*; grupo controle). É provável que os baixos índices de fertilização aqui observados sejam devidos à influência da fêmea, uma vez que um elevado percentual de ovos brancos (inférteis) estavam presentes na desova. Conclui-se que a elevada concentração espermática observada (25 bilhões) no tambaqui favorece a otimização do sêmen pela diluição prévia em ACP-104, permitindo que um maior número de fêmeas possam ser fecundadas. A fecundação com sêmen diluído em ACP-104 apresenta resultados compatíveis com a fecundação tradicional, despontando como um produto alternativo na tecnologia do sêmen de tambaqui.

Referencias bibliográfica

Albuquerque, M.O., Silva, J.W.E.S., Kóvacs, G. Sobre o desenvolvimento do ovo e embrião do tambaqui, *C. macropomum* CUVIER, 1818. B. Téc. DNOCS, Fortaleza, 47/52 (1/2): 79-100, 1989/94.
Salgueiro, C.C.M., Gondim, J.M., Nunes, J.F., *et al.* Artificial insemination of ewes with semen diluted on powder coconut water (ACP-102[®]), cooled and stored for 48 hours at 4°C. In: 15th INTERNATIONAL CONGRESS OF ANIMAL REPRODUCTION, 2004, Porto Seguro, Bahia. *Anais...* v. 2, p. 374-374.

Palavras-chaves: água de coco em pó, diluente, fertilização, sêmen, tambaqui.

Key words: powder coconut water, extender, fertilization, sperm, tambaqui.

Arranjo dos componentes do tecido intertubular em cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous* Linnaeus, 1758)

Arrangement of the intertubular tissue components in dog-bush (Cerdocyon thous Linnaeus, 1758)

M.K. Balarini, T.A.R. Paula, B.C. Caldeira, J.V. Peixoto, R.M. Mascarenhas, M. Carretta Jr.

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

Introdução

O cachorro-do-mato, *Cerdocyon thous*, pertencente à ordem Carnívora é o membro da família Canidae mais comumente encontrado no território brasileiro (Fowler & Cubas, 2001). Estudos morfofuncionais dos testículos de carnívoros silvestres são de suma importância no estabelecimento de protocolos em reprodução assistida. A porção endócrina do testículo de mamíferos é representada pelas células de Leydig as quais, juntamente com células conjuntivas, leucócitos, vasos sanguíneos e linfáticos, formam o tecido intertubular. O arranjo destes diferentes componentes é fundamental na manutenção dos elevados níveis intratesticulares e séricos de testosterona. Fawcett *et al.* (1973) classifica o arranjo intertubular em três tipos básicos.

Material e Métodos

Foram coletados fragmentos do testículo de cinco Cachorros-do-Mato adultos provenientes do CETAS-UFV por meio de biópsia incisional testicular, sob anestesia geral dissociativa. Os fragmentos foram processados histologicamente para a obtenção de lâminas histológicas com cortes de três micrômetros de espessura, estes foram corados com azul de toluidina-borato de sódio a 1%, e analisados em microscópio de luz.

Resultados e Discussão

O arranjo e a proporção dos componentes intertubulares variam nas diferentes espécies de mamíferos e formam mecanismos que mantêm o nível de testosterona de 40 a 250 vezes maior no intertúbulo testicular em relação ao sangue periférico, para manutenção da espermatogênese (HALES, 2002). De acordo com Fawcett *et al.*, (1973), a drenagem linfática, aliada à quantidade de células de Leydig e tecido conjuntivo frouxo no espaço intertubular segue três padrões distintos: 1) presença de extensos sinusóides ou espaços linfáticos interpostos aos túbulos seminíferos; 2) presença de grupos de células de Leydig em abundante tecido conjuntivo frouxo drenado por um vaso linfático; 3) presença de abundantes grupamentos de células de Leydig em todo o compartimento intertubular (Fig. 1). O Cachorro do mato apresenta arranjo indicativo do padrão 2, com grupos de células de Leydig espalhados em abundante tecido conjuntivo frouxo edemaciado, o qual é drenado por um vaso linfático localizado central ou excentricamente no espaço intertubular, semelhante ao observado nos demais carnívoros estudados (Fig. 2).



Figura 1- arranjos intertubulares padrões 1, 2 e 3.

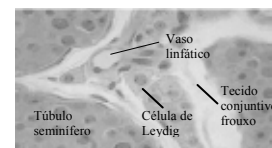


Figura 2- arranjo intertubular, padrão 2 em *C. thous*

Referências Bibliográficas

- Hales DB. Testicular Macrophage modulation of Leydig cell. *J. Reprod. Immun.* 57: 3-18. 2002.
Fawcett DW, Neaves WB, Flores MN. Comparative observations on intertubular lymphatic and the organization of the interstitial tissue of the mammalian testis. *Biol. Reprod.* 9: 500- 532. 1973.
Fowler ME, Cubas Z.S. *Biology, medicine, and surgery of south American wild animals.* Iowa State University Press, 2001, p.279-290.

Palavras-chave: *Cerdocyon thous*, testículo, tecido intersticial.

Keywords: *Cerdocyon thous*, testicle, Interstitial tissue.



Avaliação morfofuncional do processo espermatogênico de pacas (*Cuniculus paca*) adultas em cativeiro

*Morphological and functional evaluation of the spermatogenic process of adult captive agouti (*Cuniculus paca*)*

**M. Carretta Jr¹, T.A.R. Paula¹, S.L.P. Mata¹, D.S. Costa², R.M. Mascarenhas¹, B.C. Calderia¹,
J.V. Peixoto¹, M.K. Balarini¹, M.V. Rodrigues¹**

¹Universidade Federal de Viçosa, ²Universidade Federal do Mato Grosso do Sul.
E-mail: momocjr@yahoo.com.br

Introdução

A paca (*Agouti paca*) é um roedor pertencente à subordem Hystricomorfa e família Dasyproctidae. Apesar de seu potencial econômico, existem poucos trabalhos publicados descrevendo sua biologia reprodutiva, sendo em sua maioria relacionados aos aspectos anatômicos dos órgãos reprodutivos. O presente trabalho objetivou a avaliação morfométrica do processo espermatogênico de pacas adultas.

Materiais e Métodos

Utilizaram-se cinco pacas adultas mantidas no Centro de Triagem de Animais Silvestres da UFV. Após pesagem, os animais foram hemicastrados sob anestesia dissociativa. O testículo coletado foi pesado e fixado em solução de aldeído glutárico tamponado 4% (Merck®). Fragmentos foram coletados para confecção de lâminas histológicas segundo procedimentos rotineiros. A partir da observação em microscopia de luz, foram aferidos a proporção volumétrica dos componentes testiculares pela contagem de pontos projetados, o diâmetro médio dos túbulos seminíferos por mensuração direta e a contagem da população dos diferentes tipos celulares do epitélio seminífero no estágio 1 do Ciclo do epitélio seminífero. A partir desses dados foram calculados os rendimentos intrínsecos do processo espermatogênico, o índice de célula de Sertoli, o comprimento total dos túbulos seminíferos e o índice gonadossomático. Os dados foram estimados pela estatística descritiva como média ± desvio padrão.

Resultados e Discussão

O índice gonadossomático (IGS) encontrado foi de aproximadamente 0,3%, semelhante ao observado em cotia, porém inferior às demais espécies da ordem Rodentia (Kenagy e TrombulaK, 1986). A proporção volumétrica ocupada pelos túbulos seminíferos de pacas foi de 90,87%, sendo este maior que os valores encontrados para a cotia (84,75% - Assis Neto *et al.*, 2003). O diâmetro médio dos túbulos seminíferos foi de 202 µm, estando este dentro da média observada nos demais aminiotas (Roosen-Runge, 1977), o comprimento médio de túbulos seminíferos foi de 29m/g. A capacidade de suporte das células de Sertoli, foi 24,3 células germinativas por célula de Sertoli. O rendimento meiótico foi de 2,46 células e o rendimento geral da espermatogênese de 19,8 células, valores baixos quando comparados com animais domésticos, porém superiores aos da cotia (Assis Neto *et al.*, 2003). Concluindo, a paca apresenta um dos maiores valores já relatados para um mamífero de comprimento de túbulo seminífero por grama de testículo, destaca-se por apresentar uma grande capacidade de suporte de células de Sertoli mas apresenta valores inferiores aos dos animais domésticos para os rendimentos intrínsecos da espermatogênese.

Referências Bibliográficas

- Assis-Neto AC, Melo, M.I.V., Carvalho, M.A.M., Miglino, M.A., Oliveira, M.F., Menezes, D.J.A, Papa, P.C., Kfoury Júnior, J.R. Análise qualitativa do estabelecimento da espermatogênese em cutias (*Dasyprocta aguti*) criadas em cativeiros. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* 40, 3 : 180-184, 2003.
Kenagy GJ, Trombulak SC, Size and function of mammalian testes in relation to body size. *J. Mamm.*, 6: 1-22, 1986.
Roosen-Runge EC, The process of spermatogenesis in animals. Cambridge: University Press, 1977.

Palavras-chave: *Agouti paca*, espermatogênese, morfometria.

Keywords: *Agouti paca*, spermatogenesis, morphometry.



Parâmetros e congelabilidade do sêmen de Lobo-Guará (*Chrysocyon brachyurus*)

*Parameters and congelability of semen of maned wolf (*Chrysocyon brachyurus*)*

R.M. Mascarenhas, T.A.R. Paula, V.L. Bittencourt, M. Carretta Jr, M.K. Balarini, J.V. Peixoto

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

Introdução

O lobo-guará (*Chrysocyon brachyurus*) representa a maior espécie de canídeo da América do Sul, ocorrendo do nordeste do Brasil ao norte da Argentina (WIELOCH et al., 1997). Estes animais habitam, preferencialmente, áreas de várzeas, matas arbustivas e baixadas com capoeirões. São animais facultativamente monogâmicos podendo, os casais dividir a mesma área, mas raramente são vistos juntos, exceto durante a estação de reprodução (abril a junho) (WIELOCH et al., 1997). Poucos relatos sobre a reprodução do lobo-guará em vida livre ou em cativeiro são disponibilizados na literatura, principalmente em relação aos aspectos básicos da fisiologia reprodutiva. O desenvolvimento de técnicas de reprodução assistida em espécies da fauna brasileira que se encontram ameaçadas de extinção, como o lobo-guará, pode possibilitar preservação da variabilidade genética.

Material e Métodos

Foram realizadas coletas mensais de sêmen, por um período de um ano, pelo método de manipulação digital, em Lobo-Guará pertencente à Fundação Zoobotânica de Belo Horizonte. Os ejaculados foram avaliados segundo volume, aspecto físico, vigor, motilidade, concentração e patologias espermáticas. Após análise o sêmen foi diluído em meio Tris-citrato-ovo com 4 % de glicerol, envasado em palhetas de 0,5mL e resfriado por uma hora até 4°C. O congelamento foi feito em caixa de isopor contendo nitrogênio líquido, pelo posicionamento das palhetas a 5 cm da lâmina de nitrogênio líquido por 15 minutos e posterior imersão. O descongelamento do sêmen foi feito através da imersão das palhetas em banho maria a 37°C por 1 minuto, em seguida foram avaliados o vigor e a motilidade espermática.

Resultados e discussão

À semelhança do que ocorre em cães domésticos os lobos-guaras apresentam ejaculação fracionada. O volume médio de sêmen foi $4,2 \pm 2,7$ mL e a concentração média foi de 483×10^6 spz/ejaculado, valores estes inferiores ao observado na espécie canina (Johnston, 1991). A análise morfológica do sêmen revelou grande número de espermatozoides com anormalidades (média 76,9%), sendo as principais: presença de gotas protoplasmáticas proximais (41%); defeitos de acrossoma (13%); e presença de cauda fortemente enrolada (9%). Estas anormalidades estão associadas, em cães domésticos, ao estresse, processos inflamatórios e infecciosos (Peña, 2004). Acredita-se que a degradação do habitat natural, a diminuição do número de indivíduos e o isolamento das populações acentuam a consangüinidade intra-específica, propiciando o aparecimento de anormalidades espermáticas. Variações na congelabilidade do sêmen são significativas entre espécies, provavelmente em função de diferenças na composição bioquímica de membranas e metabolismo dos espermatozoides (Cross, 1998), sendo necessário desta forma o desenvolvimento de protocolos de congelamento de sêmen espécies-específicos. No presente trabalho, após o descongelamento o sêmen apresentou motilidade média de 30% e vigor médio de 2.

Referências Bibliográficas

- Cross N.** Role of cholesterol in sperm capacitation. *Biol. Reproduction*, 59:7-11, 1998.
- Johnston SD.** Performing a complete canine semen evaluation in small animal hospital. *Small Animal Practice*, 21:545-551, 1991.
- Peña Martínez AI.** Canine fresh and cryopreserved semen evaluation. *Anim. Rep. Sci.* 82:209-224, 2004.
- Wieloch DR, Veado BV, Furtado DB.** Cadernos da Fund. Zoo-Botânica I - Animais do Zoológico, Fund. ZooBotânica de Belo Horizonte, Serviço de educação ambiental, Belo Horizonte, 1997, p. 235.

Palavras-chave: Lobo guará, sêmen, criopreservação.

Keywords: Maned wolf, semen, cryopreservation.



Biometria testicular em queixadas (*Tayassu pecari*) criados em cativeiro

*Testicular biometry of the white-lipped peccary (*Tayassu pecari*) raised in captivity*

L.C. Rezende¹, C.C. Oliveira², A.M.D. Paranhos¹, J.F. Alves¹

¹UFG-Campus Jataí, Centro de Ciências Agrárias e Biológicas

²Médica Veterinária Autônoma

E-mail: lorisvete@yahoo.com.br

Introdução

Atualmente o aumento do consumo de carne de animais silvestres vem intensificando o sistema de criação destes animais. De acordo com Sonner et al. (2004) há a necessidade de informações que possam subsidiar outras, principalmente na área de reprodução animal, com o objetivo de preservação das espécies e aproveitamento controlado e racional das mesmas. Este trabalho identificou medidas macroscópicas dos testículos e epidídimos de queixadas criados em cativeiro.

Material e Métodos

Três animais provenientes da Chácara Zooflora, criados em cativeiro e abatidos no matadouro municipal de Jataí-GO. Após o abate, separou-se testículo e epidídimo, em seguida obteve-se o peso de cada estrutura em balança analítica. Para o volume utilizou-se o princípio do deslocamento de líquido em proveta graduada contendo 500ml de água. Com auxílio de paquímetro mediu-se o comprimento (extremidade superior até a inferior), largura (da margem livre a margem epididimária) e espessura (da face lateral a medial) do testículo. No presente trabalho dividiu-se os grupos de animais jovens (A1 e A2) e adulto (A3), de acordo com a classificação de Sonner (2004) para animais adultos com comprimento testicular maior que quatro centímetros. Os dados biométricos foram analisados estatisticamente pela média e desvio padrão dos testículos direito e esquerdo dos grupos A1 e A2.

Resultados e Discussão

Nos queixadas jovens o testículo direito apresentou comprimento, largura e espessura médios de $3,6 \pm 0,57$ cm; $1,50 \pm 0,14$ cm e $2,15 \pm 0,07$ cm, enquanto o esquerdo $4,20 \pm 0,28$ cm; $1,55 \pm 0,07$ cm e $1,85 \pm 0,07$ cm. Valores semelhantes para o comprimento ($3,20 \pm 0,44$ cm) e espessura ($2,11 \pm 0,40$ cm) do testículo direito foram relatados por Sonner et al. (2004). Neste experimento o comprimento do testículo direito foi menor que o esquerdo, concordando também com Sonner et al. (2004), os quais citaram para animais jovens ($3,20 \pm 0,44$ cm e $3,23 \pm 0,47$ cm) e adultos ($5,36 \pm 0,64$ cm e $5,45 \pm 0,77$ cm). Os pesos médios do testículo direito e esquerdo não diferiram, sendo respectivamente para jovens ($4,25 \pm 0,35$ g e $4,20 \pm 0,57$ g) e adulto (50g e 51g), entretanto Menezes (2006) encontrou valor médio de $37,35 \pm 7,26$ g em animais adultos. O volume encontrado para o testículo direito e esquerdo dos jovens foi ($4,25 \pm 0,35$ ml e $4,50 \pm 0,71$ ml) e adulto (40 e 50ml), demonstrando maior volume nos testículos esquerdo, não encontrando a mesma relação com os pesos dos mesmos.

Referências bibliográficas

- Menezes CMC.** Análise morfofuncional da espermatogênese de queixadas (*Tayassu pecari* LINK, 1795). Dissertação (Mestrado em Produção Animal) – Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campo dos Goytacazes 2006.
- Sonner JB, Miglino MA, Santos TC, Carvalhal R, Assis Neto AC, Moura, CEB, Oliveira MF.** Aspectos macroscópicos e morfométricos dos testículos em catetos e queixadas. *Biota Neotropica*, v.4, n.2, 2004. Disponível em <http://www.biotaneotropica.org.br/v4n2/pt/abstract?article+BN0300402200>>. Acesso em 01 jan. 2007.

Palavras-chave: Queixada, biometria, testículo.

Keywords: White-lipped peccary, biometry, testicle.



Morfometria dos testículos de coelhos alimentados com farelo de canola (*Brassica sp*)

Testicle morphometry of rabbits fed with canola meal (Brassica sp)

L.V. Lage, C.A.A. Torres, J. Penitente-Filho, M. Drumond, W.M. Ferreira, S.L. Matta, V.A. Nascimento,
M. Dias, E.A.M. Amorim, L.S. Amorim

Universidade Federal de Viçosa/MG e Universidade Estadual de Santa Cruz/BA
E-mail: lvlage@uesc.br

Introdução

O farelo de canola tem sido utilizado na alimentação animal, como fonte protéica. Ele contém menos de 30 $\mu\text{mol/g}$ de glicosinolatos no farelo, cuja digestão enzimática produz substâncias de ação goitrogênica que podem causar alterações na histofisiologia da glândula tireóide. Os hormônios tireoidianos interferem na fisiologia reprodutiva. Rotkiewicz et al (1997) observaram efeitos deletérios das substâncias goitrogênicas sobre o testículo de varrões, observando-se degeneração e necrose do epitélio seminífero e atrofia dos túbulos seminíferos. O presente estudo avaliou se o tratamento gestacional e continuado até 180 dias de idade com dieta formulada com farelo de canola, poderia interferir nos parâmetros morfométricos testiculares de coelhos.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no setor de Cunicultura do DZO-UFV/MG. Foram formuladas duas dietas contendo 18% de PB oriunda do farelo de soja ou de canola, analisando-se os tratamentos até 180 dias: soja (TS-controle), canola contínuo (TCanC) e interrompido ao parto (TCanIPa), ao desmame (TCanID) e à puberdade (TCanIPu). Aos 150 e 180 dias de idade, foram sorteados 10 animais de cada tratamento para serem sacrificados para coleta dos órgãos reprodutivos (testículos, epidídimos e glândulas acessórias) e processamento histológico dos testículos. Fragmentos do testículo direito foram fixados em glutaraldeído e incluídos em historesina para microtomia e coloração. Foram mensurados espessura, diâmetro e comprimento total dos túbulos seminíferos (TS), proporções volumétricas (%) e volume (mL) dos componentes testiculares: TS, lâmina própria (LP), vasos sanguíneos e linfáticos (VSL), espaço linfático (EL), células e fibras conjuntivas (CFC), núcleo (NL) e citoplasma (CL) de células de Leydig.

Resultados e Discussão

Aos 150 dias de idade, as glândulas acessórias foram menores ($P < 0,05$) em peso nos animais do TS em comparação aos demais; entretanto, aos 180 dias, menor peso foi verificado em TCanIPu ($P < 0,05$). Entre as duas idades não houve diferença ($P > 0,05$), concluindo-se que, aos 150 dias de idade, estes órgãos já atingiram seu desenvolvimento máximo, com maior crescimento no período da puberdade, quando a produção de testosterona é aumentada (Miros et al., 1980). Em coelhos, o período de puberdade está entre 72 e 126 dias de idade, atingindo a maturidade sexual aos 129 dias. Com relação à morfometria, somente a proporção do espaço linfático mostrou diferença entre os tratamentos ($P < 0,05$), com a menor valor no TCanC, sendo que esta diferença não se confirmou no volume deste componente. O índice gonadossomático foi similar ($P > 0,05$) entre os tratamentos e nas duas idades avaliadas. De acordo com os resultados, observou-se que a ingestão de glicosinolatos não causou alterações deletérias na morfometria testicular, concluindo-se que o fornecimento de farelo de canola pode ser uma alternativa possível para coelhos destinados inclusive para a reprodução.

Referências Bibliográficas

- Miros, V.V.; Shulimov, A.G.; Voskrensenskaya, N. et al. Age at sexual maturity of rabbits. 1980. IN: ALVARIÑO, M.R. Control de la Reproduccion en el Conejo. Ed. Multi-Prensa. Madrid, 1993, 137p.
- Rotkiewicz, T.; Bomba, G.; Falkowski, J. et al. Studies on long-term use of rapessed products in diets for boars. Pathomorphological changes in the reproductive system, liver and thyroid gland. *Reprod. Nutr. Dev.* v.37, n.6, 1997, p.675-690.

Palavras-chave: Canola, coelho, testículo, morfometria.

Keywords: Rapessed, rabbit, testicle, morphometry.



Parâmetros morfofisiológicos testiculares de camundongos (*Mus musculus*) suplementados com geléia real

*Testicle morphometry parameters of mice (*Mus musculus*) supplemented with royal jelly*

**A.C.T. Morais¹, L.P. Barbosa², M.M. Neves³, S.L.P. Matta¹, D.B. Morais¹, J. Reyne³,
A.L. Gusmão⁴, R. G. Cordeiro⁵**

¹Departamento de Biologia Geral, UFV; ²Departamento de Produção Animal, UFBA; ³Curso de Ciências Biológicas, UnilesteMG;

⁴Departamento de Patologia e Clínica, UFBA - E-mail: lpieres73@yahoo.com.br

⁵Departamento de Medicina Veterinária, UNIFESO - Centro Universitário Serra dos Órgãos - Teresópolis - RJ

Introdução

Estudos retratam o uso da geléia real nos processos reprodutivo de animais. Husein e Kridli (2002) demonstraram que parâmetros reprodutivos, resposta ao estro e a taxa de prenhez, foram melhorados em ovelhas, quando a geléia real foi administrada em conjunto com o tratamento de progesterona intravaginal. Outro estudo utilizando geléia real em ovelhas, demonstrou que a geléia real produz efeitos similares àqueles produzidos pelo eCG (Husein e Haddad, 2006). Este estudo objetivou conhecer os efeitos da geléia real sobre os parâmetros morfofisiológicos testiculares de camundongos (*Mus musculus*).

Material e Métodos

Utilizou-se 28 camundongos machos (*Mus musculus*) da linhagem Swiss, com quatro meses de idade, distribuídos aleatoriamente em três tratamentos: T1: solução fisiológica, via intraperitoneal (n=10); T2: 0,1mg de geléia real, via intraperitoneal (n=10); T3: 0,2mg de geléia real, via intraperitoneal (n=8). Após 45 dias de suplementação com geléia real, os animais foram sacrificados, pesados, os testículos coletados, incluídos em parafina e corados com Hematoxilina de Harris e Eosina (HE). Os parâmetros analisados foram: peso corporal, peso testicular, índice gonadossomático; diâmetro médio dos túbulos seminíferos e a altura do epitélio seminífero, obtidos a partir de 20 secções transversais circulares por animal. Para análise dos dados, utilizou-se o teste Kruskal-Wallis (não paramétrico) a um nível de significância de 5%.

Resultados e Discussão

O peso corporal dos animais não apresentou diferença significativa entre os tratamentos ($40,62 \pm 3,47$; $41,25 \pm 1,86$ e $45,16 \pm 4,91$ g, respectivamente), corroborando com Kridli e Al-Khetib (2006), que não encontraram diferença no peso corporal médio de ovelhas suplementadas com geléia real e o grupo controle. O peso médio dos testículos ($0,28 \pm 0,02$; $0,28 \pm 0,03$ e $0,24 \pm 0,04$ g, respectivamente) e o índice gonadossomático ($0,69 \pm 0,07$; $0,68 \pm 0,06$ e $0,53 \pm 0,12\%$, respectivamente) também não apresentaram diferença significativa, demonstrando que o percentual de massa corporal alocado nos testículos foi similar para os seis tratamentos. O diâmetro tubular não variou estatisticamente entre os grupos, sendo o menor diâmetro encontrado de $183,40 \mu\text{m}$ e o maior de $192,95 \mu\text{m}$, estes se enquadram dentro dos valores de diâmetro tubular médio observado para a maioria dos mamíferos (180 a $300 \mu\text{m}$). A altura do epitélio seminífero, não apresentou diferença significativa entre os tratamentos ($60,48 \pm 4,04$; $61,50 \pm 5,46$ e $58,31 \pm 3,60 \mu\text{m}$, respectivamente), se encontrando dentro ou bem próximo da amplitude média referente à maioria dos mamíferos (60 a $100 \mu\text{m}$). Assim, conclui-se que a suplementação com geléia real nas doses utilizadas não foram suficientes em alterar os parâmetros de morfofisiologia testicular analisados.

Referências Bibliográficas

- Husein MQ, Haddad SG** A new approach to enhance reproductive performance in sheep using royal jelly in comparison with equine chorionic gonadotropin. *Anim. Reprod. Sci.*, v.93, p.24-33, 2006.
- Husein MQ, Kridli RT** Reproductive responses following royal jelly treatment administered orally or intramuscularly into progesterone-treated Awassi ewes. *Anim. Reprod. Sci.*, v.74, p.45-53, 2002.
- Kridli RT, Al-Khetib SS** Reproductive responses in ewes treated with eCG or increasing doses of royal jelly. *Anim. Reprod. Sci.*, v.92, p.75-85, 2006.



Avaliação preliminar da atividade da castanha-do-pará (*Berthollitia excelsa*) na motilidade e concentração espermáticas de camundongos (*Mus musculus*)

*Preliminary evaluation of Brazil nut's (*Berthollitia excelsa*) activity on sperm motility and concentration in mice (*Mus musculus*)*

J.A. Lucca Neto, V.L.L. Amaral, M. Frajblat

Laboratório de Biotecnologia da Reprodução, UNIVALI, Itajaí, SC, Brasil
E-mail: zuzehh@gmail.com

Introdução

A infertilidade é um problema que atinge cerca de 30% dos casais no mundo. Apesar de muitas causas serem desconhecidas, as espécies reativas de oxigênio são consideradas como um dos fatores causadores. Elas têm relação com a infertilidade por causar danos nos processos fisiológicos aos espermatozóides. A castanha-do-pará (*Berthollitia excelsa*) é uma espécie arbórea que ocorre em toda a região amazônica e norte do Mato-Grosso. Sua semente apresenta uma constituição química extremamente rica em selênio, um poderoso antioxidante utilizado na prevenção do câncer e doenças cardiovasculares. Uma única castanha fornece cerca de 126µg de selênio. Testes realizados em ratos comprovam que quantidades insuficientes de selênio na dieta podem levar a um grande número de anormalidades nos parâmetros espermáticos, podendo chegar à completa falta de motilidade espermática. O Objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da castanha-do-pará nos parâmetros de motilidade e concentração espermática em camundongos.

Materiais e Métodos

Foram utilizados 10 camundongos, mantidos isoladamente e divididos em dois grupos (controle e experimental), ambos com 5 animais cada. O grupo experimental recebeu uma suplementação alimentar com castanha-do-pará correspondente a 10% do seu consumo de ração (15g de ração/100g de peso vivo/dia). O tratamento durou 58 dias, período aproximado de dois ciclos espermato gênicos. Após o tratamento os parâmetros espermáticos dos grupos foram analisados e comparados. Os animais foram sacrificados por deslocamento cervical e os espermatozóides foram coletados de ambos ductos deferentes. Os ductos receberam 3 a 5 cortes e foram suspensos em 500µl de meio KSOM por 10 min a 37°C. A motilidade foi avaliada sob microscopia ótica, levando em consideração todos os espermatozóides que apresentaram algum movimento. A concentração foi realizada em hematocítmetro.

Resultados e Discussão

Não houve um aumento significativo na motilidade no grupo que recebeu castanha-do-pará (78,9% e 73,6% para o grupo tratado e controle, respectivamente, $P < 0,13$). Porém a suplementação de castanha-do-pará na dieta levou a uma tendência de aumento da concentração de espermatozóides na região do ducto deferente analisada ($23,5 \times 10^6$ e $17,2 \times 10^6$ espermatozóides/ml para o grupo tratado e controle, respectivamente, $P < 0,06$). Apesar de não haver sido constatada diferença significativa, estes resultados sugerem que a suplementação de castanha-do-pará pode aumentar os parâmetros seminais em camundongos. Assim, é necessária a execução de outro experimento utilizando maior número de animais para avaliar os efeitos da castanha-do-pará nos parâmetros de motilidade e concentração espermáticas em camundongos.

Referências Bibliográficas

Wu A.S.H.; Oldfield J.E.; Shull L.R.; Cheeke P.R.. Specific effect of selenium deficiency on rat sperm. *Biology of Reproduction*, v. 20, p. 793-798, 1979.

Palavras-chave: Camundongo, castanha-do-pará, espermatozóides, infertilidade, selênio.

Keywords: Mice, brazil-nut, spermatozoa, infertility, selenium.



Condensação anormal da cromatina: relação com a área da cabeça espermática e defeitos de cabeça em touros Nelore submetidos à insulação escrotal

Chromatin abnormal condensation: relationship with sperm head area and head sperm defects in Nelore bulls submitted to scrotal insulation

C.E. Fernandes¹, A.E.D. Feliciano-Silva², H. Azevedo², S.D. Bicudo²

¹Dept. de Patologia, CCBS, Univ. Federal de Mato Grosso do Sul; ²FMVZ – UNESP, Botucatu, SP.
E-mail: cefernandes@nin.ufms.br

Introdução

Variações no formato, tamanho e contorno da cabeça espermática estão associadas a modificações na estruturação e compactação da cromatina nuclear e mais recentemente, têm sido quantificadas em sistemas digitais de imagens, contribuindo ao estudo da etiopatogenia das alterações morfológicas no sêmen bovino. O objetivo deste estudo foi verificar a estimativa da variância para a área da cabeça espermática e sua relação com alterações na cromatina espermática e demais defeitos de cabeça em touros submetidos à degeneração testicular por insulação.

Material e Métodos

Touros Nelore (n=4) entre 30 e 36 meses foram submetidos à insulação escrotal por cinco dias. As colheitas de sêmen foram feitas por eletroejaculação, antes (um dia antes da insulação escrotal, -1) e após a retirada do insulto, nos dias 7, 14 e 21. Avaliou-se todas as características seminais, porém, para fins deste experimento, observou-se em microscopia de contraste de fase os percentuais de defeitos de cabeça do tipo cratera, delgado, delgado na base, forma anormal, piriforme, *pouch formation*, subdesenvolvido e o percentual total (DCab). A condensação anormal da cromatina (CACr), foi estimada pela reação de Feulgen. As análises morfométricas da área da cabeça espermática (ACE, μm^2) foram feitas medindo-se 100 cabeças espermáticas em esfregaços corados com Rosa Bengala (3%) no sistema KS-400, adaptado em microscópio de campo claro. Estimou-se o efeito do período antes e após a indução da insulação para ACE, CACr e DCab, ajustando-se o modelo para decomposição polinomial linear (efeito de períodos). A correlação de Pearson foi usada entre ACE e demais variáveis seminais e a análise da regressão múltipla para estimar o percentual da variância da CACr (dependente) associada à ACE e total de DCab (independentes).

Resultados e Discussão

Todas as características seminais estudadas foram diferentes ($p < 0,01$) entre períodos. Houve aumento ($p < 0,01$) na ACE nos períodos 7 e 14 subsequentes à indução da insulação escrotal ($48,6 \pm 7,14$ e $49,8 \pm 5,12 \mu\text{m}^2$, respectivamente) e no período 21, houve queda ($45,1 \pm 4,48 \mu\text{m}^2$) em relação ao período - 3 ($47,1 \pm 4,12 \mu\text{m}^2$). A insulação explicou 58% da variação no percentual de DCab e 46% de CACr. Espermatozoides delgados na base e piriformes foram os que apresentaram maior correlação com CACr ($r=0,60$ e $0,50$, respectivamente, $p < 0,01$). ACE e DCab explicaram ($R^2 = 0,55$, $p < 0,001$) a variação de CACr pela equação: $\text{CACr} = -13,557 + 0,328 \times (\text{ACE}) + 1,701 \times (\text{DCab})$. As alterações na ACE refletem um efeito direto sobre a cromatina, semelhante às transformações nucleares observadas em processos degenerativos previamente descritos em células germinativas (ROYERE et al., 2004). Essas mudanças mostram relação com diferentes morfologias de cabeça, identificadas ao exame ótico. Formas delgadas e piriformes foram as mais prevalentes na variação da área da cabeça espermática e explicaram a maior parte da variância dos DCab, sugerindo mudanças no remodelamento nuclear das espermátides durante a fase de espermiogênese. Porém, as correlações estimadas foram moderadas, sugerindo que formas normais classificadas à microscopia de contraste de fase podem conter anormalidades na cromatina espermática. Conclui-se que o uso de métodos mais específicos como a morfometria digitalizada e análise da condensação da cromatina são alternativas valiosas para caracterizar a resposta do epitélio seminífero frente ao estresse térmico induzido.

Referências Bibliográficas

Royere, D., Guérif, F., Laurent-Cadoret, V., de Reviere, M.-T.H. Apoptosis in testicular germ cells. *Intern. Cong. Ser.*, v. 1266, p.170-176. 2004.

Palavras-chave: bovino, sêmen, degeneração testicular, cromatina espermática.

Keywords: bovine, sêmen, testicular degeneration, sperm chromatin.



Efeito da PGF_{2α} sobre a colonização bacteriana e a involução uterina no puerpério de vacas de aptidão leiteira

Effect of PGF_{2α} on bacterial colonization and uterine involution during post partum of dairy cows

**D.T. Lopes, B.D. Oliveira Filho, M.L. Gambarini, H.T. Ferraz, M.A.O. Viu,
U.O. Bilego, F.C. Santos, A.R. Ferreira**

Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás
E-mail: bene@et.ufg.br

Introdução

O Brasil é o sexto maior produtor de leite do mundo e continua em crescente ascensão, entretanto, a baixa eficiência reprodutiva prejudica o sistema de produção leiteira. A involução uterina é um importante processo no período puerperal e condiciona o retorno à atividade reprodutiva. A prostaglandina F_{2α} (PGF_{2α}) tem sido utilizada pelos efeitos benéficos no ciclo estral dos bovinos, tais como luteólise, aceleração da involução uterina, elevação da atividade imunológica uterina, redução do período entre o parto e o primeiro estro, entre outros. O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos de diferentes protocolos de utilização de PGF_{2α} durante o período puerperal sobre a microbiologia uterina e o período necessário para involução uterina de vacas de aptidão leiteira.

Material e Métodos

Foram utilizadas 20 vacas Girolando, distribuídas aleatoriamente em quatro grupos: G1 - controle; G2 - tratado com uma única aplicação (530 µg) de cloprostenol sódico no 14º dia pós-parto; G3 - duas aplicações (530 µg) do mesmo produto, a primeira no 3º e a segunda no 6º dia após o parto; G4 - duas aplicações (530 µg), a primeira no 7º e a segunda no 14º dia após o parto. Os animais foram submetidos à avaliação da involução uterina (IU) por palpação retal avaliando-se posição, tônus e espessura da cérvix e do útero. As colheitas de material para a realização das análises microbiológicas foram realizadas sempre nos dias 1º, 7º e 30º pós-parto, utilizando-se escovas ginecológicas estéreis, e posteriormente semeadas em meios de cultura para identificação microbiológica.

Resultados e Discussão

As bactérias identificadas foram: *Escherichia coli*, *Streptococcus spp.*, *Arcanobacterium spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Salmonella spp.*, *Citrobacter spp.* e *Providencia spp.* Mais importante que a bactéria identificada é seu potencial patogênico, e *Streptococcus spp.*, *Arcanobacterium spp.*, e *Pseudomonas spp.* podem causar endometrite severa, levando o tecido, inclusive, à necrose (Lopes, 2007). No G4 nenhum isolamento de bactéria aeróbia foi obtido em qualquer das datas de colheita. A contaminação do útero na primeira semana pós-parto é muito comum, e sua recuperação depende da quantidade e da virulência dos microrganismos, assim como de sua condição física e seu mecanismo de defesa (Sheldon & Dobson, 2004). O tempo para IU completa foi 30,62; 33,66 e 34,58 dias para G4, G3 e G2, respectivamente, com diferença destes grupos (P<0,05) em relação ao G1 (40,33 dias). Grande parte das bactérias é oportunista, e a rápida involução da cervix e do útero contribuem para sua eliminação. Considerando que o útero possui condições de anaerobiose, a maior velocidade de IU no G4 indicam que o tratamento foi mais eficiente em promover a eliminação rápida de bactérias anaeróbias, prevenindo sua proliferação.

Referências Bibliográficas

Lopes DT. 2007. Efeitos da utilização de prostaglandina F_{2α} durante o puerpério precoce sobre a eficiência reprodutiva de vacas leiteiras. Goiânia, Brasil: Universidade Federal de Goiás. Mestrado. dissertação.
Sheldon IM, Dobson H. 2004. Postpartum uterine health in cattle. *An Reprod Sci.* 82-83:295-306.

Palavras-chave: utero, microbiologia, reprodução, bovinos.

Keywords: uterus, microbiology, reproduction, bovine.



Perfil seminal de touros da raça Nelore com degeneração testicular

Seminal profile of Nelore bulls with testicular degeneration

L.G. Lopes¹, P.F.I Goiozo^{1,2}, P.P. Pires², M.L. Costardi^{2,3}, T.B. Amaral², C.E.S. Fernandes³.

¹Universidade Católica Dom Bosco, Campo Grande, MS, ²Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, MS,

³Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, MS.

E-mail: leizinara2@hotmail.com

Introdução

A degeneração testicular caracteriza-se por processos degenerativos e necróticos das células germinativas. É uma afecção de origem multi-fatorial, e pode apresentar-se de maneira uni ou bilateral, a depender da causa, temporária ou permanente e podendo variar de discreta a severa sob o ponto de vista patológico (CAMP, 1997). Este processo constitui a principal fonte de infertilidade do macho. MAIA (1979) e GOIOZO et al. (2005) avaliaram microscopicamente os testículos de touros e a degeneração testicular foi a afecção mais freqüente em ambos os estudos, representando 42,66% e 54,10% respectivamente, a infertilidade também pode ser notada macroscopicamente. Animais com degeneração testicular severa apresentam oligospermia ou azospermia, dependendo da gravidade, aumento no número de anormalidades espermáticas, especialmente de cabeça e peça intermediária. Quanto à cinética espermática, o percentual de motilidade progressiva dos espermatozoides diminui concomitantemente ao aumento das anormalidades (PARKINSON, 2004; CAMP, 1997;).

Material e Métodos

Para a realização do estudo que se apresenta, foram utilizados 56 touros da raça Nelore, com idade de $36,5 \pm 5,1$ provenientes de criação extensiva da Embrapa Gado de Corte. Os animais foram submetidos a três avaliações andrológicas de acordo com Barth e Oko (1989). Após o último exame andrológico, realizou-se a orquiectomia destes animais e fragmentos representativos dos testículos foram fixados, processados, laminados e corados pelo método de Hematoxilina e Eosina, seguindo técnicas rotineiras do Laboratório de Patologia Animal da Embrapa Gado de Corte, para avaliação histopatológica.

Resultados e Discussão

Os resultados dos exames andrológicos e a incidência de testículos normais e degenerados estão expressos na Tabela 1. No que concerne a freqüência, os resultados obtidos no trabalho exposto, diferem aos encontrados por Maia (1981) e Goiozo et al. (2005), tal fato pode ser explicado por não serem consideradas as alterações degenerativas conseqüente aos processos infamatórios.

Quanto ao impacto da degeneração testicular na qualidade seminal, os resultados ilustrados no trabalho que se expõe, corroboram com as citações de CAMP (1997) e PARKINSON, (2004), que afirmam o decréscimo na qualidade espermática em touros com degeneração testicular.

Tabela 1 – Freqüência das alterações testiculares e parâmetro seminais nos touros avaliados (n = 56)

Classificação Histopatológica	Freqüência (n - %)	Defeitos Espermáticos
Normais	14 – 25,00%	13,89 \pm 4,66 ^a
Degenerados	10 – 17,86%	43,00 \pm 30,05 ^b
Outras Afecções	32 – 57,14%	

Médias na mesma coluna seguidas por letras diferentes, diferem entre si pelo teste de Tukey $p < 0.05$) realizado com valores submetidos à transformação angular (ASEN)

Referências bibliográficas

- AMP, S.D.V. Common Causes of Infertility in the Bull. Veterinary Clinics of North América: Food Animal Practice. v.13, n. 2 p. 203 – 231, 1997
- Goiozo, P.F.I.; Di Santis, G.W.; De Lima, J.P.; Lima, M.C.; Laufer Amorim, R.; Bandarra, E.P. Alterações Testiculares em Bovinos da Raça Nelore (*Bos taurus indicus*) Criados no Centro-Oeste Brasileiro. Revista do Conselho Federal de Medicina Veterinária, Brasília DF, v. 11, n. 34, p. 58-62, 2005(a).
- Maia, P.C. Alterações testiculares e epididimárias em bovinos. Belo Horizonte -MG, 1979, Tese de Mestrado em Patologia Veterinária – Faculdade de Medicina Veterinária, UFMG, 1979.
- Parkinson, T.J. Evaluation of fertility and infertility in natural service bulls. The Veterinary Journal, v. 168, n. 3, p. 215 – 229, 2004.

Palavras-chave: Touros Nelore, Degeneração Testicular e Qualidade seminal.

Keywords: Nelore Bulls, Testicular degeneration and Seminal quality.

Gêmeos siameses bovinos da raça Nelore: descrição anatômica das estruturas corpóreas

Conjoined twins in Nelore zebu: Description anatomic of the structures

M.C. Frade¹, C.A.M. Bomfim², R. Carvalho², A.R.S. Silva¹, L.D.R.P. Ciarlini².

¹Pós-Graduando do Curso de Medicina Veterinária - Unesp, Araçatuba-SP,

²Professor do Curso de Medicina Veterinária - Unesp, Araçatuba-SP.

E-mail: cabomfim@fmva.unesp.br

Introdução

Os fetos conjugados também conhecidos como "gêmeos siameses", gêmeos interligados ou unidos, geralmente, são provenientes de gestações gemelares monozigóticas as quais podem resultar em vários tipos de duplicidades incompletas. Isto ocorre devido a distúrbios do desenvolvimento em que a massa celular interna ou o disco embrionário não se divide completamente.

Material e Métodos

Ao ambulatório da Área de Reprodução Animal do Curso de Medicina Veterinária – Unesp, Araçatuba-SP, foram encaminhados bezerros gêmeos interligados, natimortos, da raça Nelore (*Bos taurus indicus*), provenientes de parto distócico em que a fecundação havia sido pelo método de fertilização *in vitro*. Foram submetidos à perfusão de solução de formol a 10% e analisados quanto aos aspectos anatômicos com objetivo de notificação dos componentes somáticos e viscerais. Utilizaram-se, para tanto, as técnicas de dissecações e de imagens fotográficas e radiográficas.

Resultados e Discussão

As estruturas corpóreas de ambos os fetos estavam com desenvolvimento compatível com feto a termo. Havia junção entre os gêmeos pela cartilagem xifóide; região isquiática dos coxais direito do feto 1 e esquerdo do feto 2; e de um membro pélvico do mesmo lado desta última junção. Também apresentavam em comum um cordão umbilical e uma cavidade abdominal. As cavidades torácicas eram individualizadas e havia comunicação através de uma abertura em anel de aproximadamente 3 cm de diâmetro, localizada na região dorsal da cartilagem xifóide. Pela prova de flutuação pulmonar verificamos que um dos fetos apresentou prova positiva o que indica que havia tido respiração pulmonar ativa. Não se pode determinar uma terminologia com base na literatura, para a descrição deste caso, porque não há, atualmente, citação semelhante.



Figura 1. Fetos conjugados de bovinos da raça Nelore.

Referências bibliográficas

Jackson, P.G.G. *Obstetrícia Veterinária*, 2 ed., Roca; São Paulo, 2006, 328p.

Kaufman, M.H. The embryology of conjoined twins, *Childs Nervous System*, v.20 p.508-25, 2004.

Tansel, T., Yazicioglu, F. Cardiac and other malformations in parapagus twins. *Archives of Gynecology and Obstetrics*, v.269, p.211-3, 2004.

Palavras-chave: Fetos conjugados, bovinos siameses, gêmeos monozigotos, anatomia.

Keywords: Conjoined twins, Siameses calves, monozygotic twins, anatomy.



Morfologia espermática de bovinos da raça Nelore portadores de dermatite digital

Espermatozoa morphology of carrying bovines of the Nelore race of digital dermatitis

M.I. Moura, L.A.F. Silva, G.I.F. Esteves, L. J. Abud, M.A.M. Silva, R.E. Rabelo, D. S. Goulart, K.M. Bernardes, C.M.M. Coelho, G. L. Costa

Departamento de Medicina Veterinária. EV/UFG. E-mail: medivetemoura@yahoo.com.br

Introdução

A fertilidade do touro é uma das características mais importantes para o desempenho reprodutivo do rebanho, principalmente em criações extensivas (Silva et al., 2002). Portanto, a capacidade reprodutiva deve ser cuidadosamente avaliada e o exame andrológico é uma forma de se obter informações sobre as características produtivas e reprodutivas do touro, analisando, sobretudo, a saúde geral do animal e a qualidade do sêmen (Martinez et al., 2000). Objetivou-se neste estudo avaliar a qualidade espermática, quanto à concentração, defeitos maiores e menores em touros Nelore portadores de dermatite digital.

Material e Métodos

Os dados são provenientes de 21 touros da raça Nelore entre 25 e 30 meses de idade, de uma única propriedade, distribuídos em três grupos (GI, GII e GIII) contendo sete animais cada. O GI foi constituído de animais portadores de doença digital que foram tratados cirurgicamente após a segunda avaliação andrológica. No grupo GII distribuíram-se bovinos doentes não tratados durante o estudo e no GIII alocaram-se animais saudáveis. Todos os bovinos foram manejados extensivamente. Realizaram-se sete colheitas de sêmen, por meio de eletroejaculador, em todos os animais, com intervalo de 15 dias. As características avaliadas durante o exame andrológico como a concentração, defeitos maiores e menores foram analisadas descritivamente, comparando os dados obtidos entre os grupos e antes e após o tratamento das lesões no grupo GI. A morfologia espermática foi realizada utilizando esfregaços em lâmina, coradas com vermelho cônico, e preparação em câmara úmida.

Resultados e Discussão

Os animais pertencentes aos grupos GI e GII obtiveram uma média de concentração espermática inferior aos animais sadios. Logo após o tratamento das lesões nos bovinos do GI, observou-se queda acentuada da concentração, que aumentou progressivamente após 45 dias do tratamento. Ao final das colheitas apresentou maior concentração que os bovinos do GII, mas, inferior a do GIII. Estes achados encontraram respaldo no trabalho de Chiquetto (2004) que, ao realizar estudo similar com touros da raça Holandesa, observou diferença significativa para a concentração espermática, no período de máxima injúria da lesão. No presente estudo não houve diferenças, entre os grupos antes do tratamento, para a percentagem de defeitos menores, mas após o tratamento a média obtida incluindo a terceira a sétima colheita foi de 5,6, 7,2 e 6,4 nos animais do GI, GII e GIII, respectivamente indicando que o grupo tratado apresentou redução considerável desses defeitos. A média de defeitos maiores observada nas duas primeiras colheita, nos grupos GI, GII e GIII foi de 24,1, 20,1, e 21,4 e após o tratamento foi de 22,2, 21,9 e 17,9, respectivamente. Nota-se que os defeitos maiores diminuíram em todos os grupos, porém, foi mais perceptível no grupo GIII. Segundo Chiquetto (2004) em seu estudo, conforme os animais se recuperavam, após o tratamento da enfermidade podal, os defeitos menores aumentavam e os maiores diminuía. Conclui-se que a dermatite digital influencia na concentração de touros da raça Nelore.

Referências Bibliográficas

- Chiquetto, C.E.** Efeitos da dermatite digital sobre as características andrológicas de touros da raça Holandesa. 2004. 48f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal). Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás. Goiânia.
- Martinez, M.L.; Verneque, R.S.; Teodoro, R.L.; Paula, L.R.O.; Cruz, M.; Campos, J.P.; et al.** Correlações entre características da qualidade do sêmen e a circunferência escrotal de reprodutores da raça Gir. *Vet. Bras. Zootec.*, v.29, p.700-706, 2000.
- Silva, A.E.D.F.; Unanian, M.M.; Cordeiro, C.M.T.; Freitas, A.R.** Relação da circunferência escrotal e parâmetros da qualidade do sêmen em touros da raça Nelore, PO. *Ver. Bras. Zootec*, v.31, n.3, p.1157-1165, 2002.

Palavras-chave: enfermidades podais, macho, patologia espermática.

Keywords: bulls, illnesses prune, spermatozoa pathology.



Comportamento reprodutivo de fêmeas bovinas mestiças (Zebu x Holandesa) portadoras de dermatite digital

Reproductive behavior of cross-breed cows (Zebu x Holstein) with digital dermatitis

L.A.F. Silva, A.R. Ferreira, K.M. Bernardes, M.I. Moura, C.O. Guimarães, L.K. Soares, L.G. Franco, R.E. Rabelo

¹Departamento de Medicina Veterinária. EV/UFG. Goiânia-GO. E-mail: lafranco@vet.ufg.br

Introdução

A habilidade da vaca em ingerir alimento suficiente para sua produção e manutenção, pode ser diminuída devido às enfermidades podais, levando-a ao anestro (PEELER et al., 1994). Este estudo objetivou avaliar o comportamento reprodutivo de fêmeas bovinas mestiças portadoras de dermatite digital, manejadas em sistema semi-extensivo e extensivo.

Material e Métodos

O estudo foi realizado em uma propriedade rural, no município de Jataí-GO, entre os meses de maio de 2004 e maio de 2006, utilizando-se 30 fêmeas bovinas mestiças, em lactação, entre 36 e 84 meses de idade, média de 385 kg/pv e portadoras de dermatite digital. Cada animal foi avaliado por um período de 24 meses em manejo semi-extensivo e extensivo. O manejo semi-extensivo entre os meses de maio e novembro de 2004 e 2005 e o extensivo entre novembro/2004 e maio/2005 e novembro/2005 a maio/2006. Os animais foram incluídos no estudo imediatamente após o parto e distribuídos em três grupos (GI, GII, GIII), com dez animais cada, utilizando-se o delineamento em blocos ao acaso. O GI foi composto por animais portadores de dermatite digital na forma erosiva, GII na forma verrucosa e GIII animais saudáveis. Avaliou-se presença de cisto ovariano, retenção de envoltórios fetais, metrite, sinais externos de cio, consistência dos ovários e do útero, período de serviço, número de serviços, prenhez e parto. Os dados foram analisados descritivamente.

Resultados e Discussão

No grupo GI, três (30%) fêmeas apresentaram período de serviço de aproximadamente 150 dias, duas (20%) de 180, uma (10%) de 270, uma (10%) de 300 dias e três (30%) não manifestaram cio. Para emprenhar as sete (70%) fêmeas foram necessários 2,1 serviços. Para RAMOS et al. (2001), fêmeas bovinas portadoras de dermatite digital apresentam intervalo entre parto e concepção maior do que animais clinicamente saudáveis. Ao exame reprodutivo específico, aos 140 dias do pós-parto, quatro fêmeas (40%) alocadas no GI apresentaram ovários lisos e cornos uterinos flácidos. Das três fêmeas que não manifestaram cio, em uma (33,3%) foi diagnosticado cisto ovariano, outra (33,3%) retenção de envoltórios fetais e em uma (33,3%), metrite que, para BOOSMAN et al. (1991), as endotoxinas produzidas nesses casos, podem desencadear enfermidades podais. No GII, quatro (40%) fêmeas apresentaram período de serviço de aproximadamente 180 dias, uma (10%) de 240 dias e uma (10%) de 330 dias. Quatro (40%) não manifestaram cio. Cada fêmea requereu 2,3 serviços para emprenhar. Nesse grupo, a última fêmea a emprenhar (10%) e uma (10%) que não manifestou cio apresentaram retenção dos envoltórios fetais. O exame ginecológico realizado aos 150 dias pós-parto revelou ovários lisos e cornos uterinos flácidos em seis (60%) fêmeas. Quanto ao GIII, uma (10%) fêmea manifestou cio aos 90 dias do pós-operatório, duas (20%) aos 120, uma (10%) aos 150, três (30%) aos 180 e duas (20%) aos 240 dias. Uma (10%) não manifestou cio e apresentou ovários lisos, pequenos e cornos uterinos flácidos, sendo necessário 1,4 serviços por fêmea para emprenharem. Concluiu-se que a dermatite digital interfere negativamente no comportamento reprodutivo de fêmeas bovinas mestiças.

Palavras-chave: bovino, enfermidade digital, prenhes, período de serviço.

Keywords: bovine, illness digital, pregnant, service period.

Referências bibliográficas

- Boosman R., Nemeth F. & Gruys F.** Bovine Laminitis: clinical aspects, pathology and pathogenesis with reference to acute bovine laminitis. *Vet. Rec.* v. 125, p. 573-575, 1991.
- Peeler, E.J., Otee, M.J., Esslemont, R.J.** Interrelationship of periparturient diseases in dairy cows. *Veterinary Record*, v. 134, p.129 -132, 1994.
- Ramos et al.** Avaliação de parâmetros reprodutivos em fêmeas bovinas de aptidão leiteira portadoras de pododermatite necrosante. *ARS Veterinária*, 17(2): 98-106, 2001.



Ocorrência de Alterações Reprodutivas em Búfalos na Região Amazônica

Occurrence of Reproductive Alterations in Female Buffaloes in the Amazon Region

W.G. Vale, S.T. Rolim Filho, H.F.L. Ribeiro

Universidade Federal Rural da Amazônia
E-mail: sebastiaoarolim@yahoo.com.br

Introdução

Apesar dos avanços tecnológicos alcançados no manejo de criação de búfalos e de técnicas de melhoramento genético (inseminação artificial), ainda depara-se com baixo desempenho reprodutivo, relacionado com problemas intrínsecos dos búfalos, em menor proporção, e a fatores externos como estresses térmicos, nutricionais e manejos inadequados (RIBEIRO, 2002). Maximizar a eficiência reprodutiva é de grande importância para a produção de leite e carne. No entanto, o desenvolvimento de novos e melhores métodos com objetivos de aumento da performance reprodutiva no búfalo, depende de um conhecimento profundo dos mecanismos endócrinos e fisiológicos e do controle dos processos reprodutivos (VALE et al., 1994). O objetivo deste trabalho foi avaliar o número de casos de abortamento, retenção de placenta, infecções uterinas, morte embrionária, ovários afuncionais, hipoplasia ovariana, cistos ovarianos e salpingites em um rebanho bubalino criado em um sistema produtivo de várzea e terra firme na cidade de Belém no estado do Pará.

Material e Métodos

O trabalho foi realizado na Unidade de Pesquisa Bubalina “Dr. Felisberto Camargo” de propriedade do Centro de Pesquisa da Amazônia Trópico Úmido (CPATU-EMBRAPA), localizado em Belém, Pará, com estação chuvosa (janeiro a junho) e menos chuvosa (julho a dezembro), temperatura média anual de 26° C, variando entre 22,6°C e 31,2°C. A umidade relativa do ar é em média de 84%. O presente estudo foi desenvolvido com base nos registros reprodutivos colhidos durante os anos de 2002 à 2005. Foram analisados 167 registros de partos. Os animais foram submetidos à exame ginecológico seguindo-se a metodologia preconizada por Grunert e Gregory (1989) com escore de condição corporal que variou de 2,5 a 4,5 em uma escala de 1 a 5, correspondendo a muito magra e muito gorda respectivamente.

Resultado e Discussão

Durante os anos de 2002 a 2005, o número de casos de abortamento, retenção de placenta e morte embrionária foi, nesta ordem, de 10 (5,9%), 13 (7,78%) e 14 (8,38%) casos. Vale et al. (1994) observaram que em um rebanho com 63 animais submetidos à inseminação artificial, 2,4% dos animais apresentaram retenção de placenta e 7,1% apresentaram morte embrionária. Baruselli (1997) registrou uma taxa de 7 % de morte embrionária, sem causa definida. O número de casos de infecção uterina foi de 18 (10,77%). No Brasil, são poucas as citações de ocorrência de endometrites na búfala. Ribeiro (1996), em estudos na Região Amazônica encontrou 17 (2,70%) casos de endometrite crônica suave. Vale et al. (1994) observaram que em um rebanho com 63 animais submetidos à inseminação artificial, 7,2% apresentavam infecção uterina. Em relação aos ovários afuncionais, foram encontrados 26 casos ou 15,56%. Ribeiro et al. (1987) registraram que os ovários afuncionais são alterações causadas principalmente por erros de manejo, deficiências nutricionais e doenças caquetizantes, sendo a alteração mais freqüente no ovário da búfala, com 102 (16,21%) casos, semelhante aos dados reportados no neste estudo. Foram observados 2 (1,19%) casos de hipoplasia ovariana, 3 (1,79%) casos de cistos ovarianos, 2 (1,19%) casos de salpingites.

Conclusão

Pôde-se observar que as principais alterações que acometem os bubalinos na região amazônica são abortamentos, retenções de placenta, mortes embrionárias e ovários afuncionais, em detrimento de manejo inadequado, estresse térmico e fatores nutricionais.

Referências Bibliográficas

- Baruselli, P.S. Reprodução de bubalinos. In: Simpósio Brasileiro de Bubalinocultura, 1., 1996, Cruz das Almas. *Anais...* Cruz das Almas: Universidade Federal da Bahia, 1997. p. 117-153.
- Ribeiro, H.F.L. Characteristics of the reproductive handling in búfalas in the Amazonian. Brazilian In: Congresso of Specialties in Medicina Veterinária.I., Curitiba.Paraná. *Anais: SPrMV*. 1: 101-104. 2002.
- Ribeiro, H.F.L. (1996). **Puerpério in the búfala (*Bubalus bubalis*): Clinical aspects and histológicos of the uterine involução and ovarian activity.** Belo Horizonte. School of Veterinary of UFMG, .125p. (Tese doutorado).
- Vale, W. G., Sousa, J.S., Ribeiro, H.F.L., Ohashi, O. M., Láu, H.D. & Silva, A.O.A. (1994). Preparation of Teaser" buffalo bull goes uses in artificial programs. *Buffalo Journal* 10(1):75-79.

Palavras-chaves: Búfalo; Alterações reprodutivas.

Keywords: Buffaloes; Reproductive Alterations.



Conforto térmico e taxas de concepção em búfalas criadas na Amazônia Oriental

Thermal comfort ranges and conception rates in buffaloes raised on Eastern Amazon

L.B. Matos¹, A.R. Garcia², B.S. Nahúm², J.B. Lourenço Jr², N.A. Costa², T.X. Bastos², K.S. Gonçalves³, M.Y.A. Miyasaki³, C.V. Araújo³

¹UFPA, Belém-PA. ²Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA. ³UFRA, Belém-PA.
E-mail: argarcia@cpatu.embrapa.br

Introdução

A adoção de sistemas silvipastoris (SSP) diminui a intensidade da radiação solar direta sobre os animais, proporcionando maior conforto e produtividade dos bubalinos. Contudo, na Amazônia, poucas são as pesquisas sobre ecofisiologia que relacionam o conforto animal à eficiência reprodutiva dos rebanhos. Este trabalho teve por objetivo avaliar o efeito do conforto térmico sobre as taxas de concepção de búfalas mantidas em SSP.

Material e Métodos

O trabalho foi realizado na Embrapa Amazônia Oriental, em Belém-PA (1° 25'S e 48° 26'W), de março a dezembro de 2006. Foram usadas 56 búfalas adultas, com idade de $6,62 \pm 3,80$ anos, cíclicas e sem bezerro ao pé ($544 \pm 101,2$ Kg e ECC 3,0). A sincronização foi realizada pelo seguinte protocolo: d0: 50µg I.M GnRH / d7: 0,150mg I.M de cloprostenol / d9: 25µg I.M GnRH (d0 = início do tratamento). A IATF ocorreu no d10, de 16 a 20 hs após a administração do GnRH. Durante a sincronização do estro e inseminação artificial (dias 0, 7, 9 e 10), a temperatura retal (°C) e a frequência respiratória (mov./min.) foram obtidas para o cálculo do Índice de Conforto de Benezra (ICB), conforme Lourenço Júnior (1998). Os animais foram estratificados segundo seus ICBs. As taxas de concepção, obtidas após ultra-sonografia aos 30 e 90 dias, foram associadas aos ICBs e comparadas entre si pelo teste do Qui-Quadrado ($P < 0,05$).

Resultados e Discussão

Os resultados de conforto térmico e concepção se encontram na Tabela 01. Os ICBs próximos a 2,0 indicam maior conforto térmico dos animais. Apesar de não ter havido diferença estatística, observou-se que maiores taxas de concepção ocorreram quando os animais apresentaram ICBs entre 1,9 e 2,1. Nesta faixa, obteve-se 19 das 27 gestações, sendo de 55,88% a taxa de concepção ($n=19/34$), demonstrando, assim, uma maior concentração de concepções na zona de conforto térmico, que proporciona melhores condições para a fertilização. Segundo Dantas (2001), a concepção de búfalas em condições de clima quente e úmido está associada às variáveis climáticas, sendo estas responsáveis pelas variações fisiológicas dos animais. Os resultados indicam a necessidade do oferecimento de conforto térmico durante todo o processo de sincronização do estro e inseminação artificial, visando o incremento nas taxas de concepção em búfalas criadas sob condições de clima tropical.

Tabela 01 – Índices de conforto térmico (ICB) e taxas de concepção em búfalas na Amazônia Oriental.

ICB	N. de animais	N. de gestantes	Taxa de concepção (%)
<1,90	12	4	33,33 (4/12}
1,9 - 2,0	22	14	63,64 (14/22}
2,0 - 2,1	12	5	41,67 (5/12}
2,1 - 2,2	4	2	50,00 (2/4}
>2,2	6	2	33,33 (2/6}
Total	56	27	48,21 (27/56}

Referências Bibliográficas

Dantas, JAS. Influência de variáveis climáticas na fertilidade de búfalas Murrah e Mediterrâneo na Amazônia Oriental. (Dissertação de Mestrado) Belém, 2001.

Lourenço Júnior, JB. Variáveis produtivas, fisiológicas e de comportamento de zebuínos e bubalino e fatores do ambiente físico em pastagem cultivada da Ilha de Marajó. (Tese de Doutorado) Belém, 1998.

Palavras-chave: búfalo, conforto térmico, IATF, eficiência reprodutiva, Amazônia.

Keywords: buffalo, thermal comfort, TFAI, reproductive efficiency, Amazon.

Apoio Financeiro: Projeto Basa Pecuária (02.05.0.19.04).



Anomalias do aparelho reprodutor de búfalos (*Bubalus bubalis*) na Região Amazônica

*Anomalies of the reproductive system of male buffaloes (*Bubalus Bubalis*) in the Amazon Region*

R.O. Pinho, H.F.L. Ribeiro, S.T. Rolim Filho, W.G.Vale, A.R. Simões

Universidade Federal Rural da Amazônia

E-mail: haroldo.ribeiro@ufrpa.edu.br

Introdução

A fertilidade de um macho reprodutor está relacionada a vários fenômenos: produção de espermatozoides, viabilidade e capacidade fertilizante dos espermatozoides ejaculados, desejo sexual e habilidade de praticar a cobertura. O reprodutor infértil rapidamente é identificado, porém aquele com fertilidade reduzida apresenta sérios problemas e ocasiona perdas econômicas para a pecuária (JAINNUDEEN & HAFEZ, 2004). Portanto, outro fator a ser analisado é a busca por muitos produtores em saber se os seus animais possuem real capacidade reprodutiva, assim o exame andrológico é empregado em muitas fazendas, pois permite avaliar reprodutivamente o animal através do exame clínico e de um espermograma garantindo a eficiência reprodutiva do rebanho (OHASHI et al., 1992). O objetivo deste trabalho foi avaliar através de exame clínico do sistema genital a capacidade reprodutiva de bubalinos criados em sistema semi-intensivo na Região Amazônica.

Material e Métodos

Foram utilizados 33 animais da raça Murrah, criados em regime semi-intensivo, com idade variando entre 15 a 42 meses pertencentes à fazenda Santa Rita no município do Nordeste paraense, Nova Timboteua, no início de outubro de 2004. Aos animais eram disponibilizados pastos de brachiário (*Brachiaria brizantha*), mombaça (*Panicum maximum*), quicuiu (*Brachiaria humidicola*), além de mineralização a vontade. No exame clínico foram avaliados aspectos como: estado geral do animal, escore de condição corporal, aprumos, cascos, pele e pelos e a presença ou não de ectoparasitas. Quanto a avaliação específica do sistema genital, foram avaliados pênis, prepúcio, inserção do ligamento escrotal, bolsa escrotal, circunferência escrotal, cordões espermáticos, testículos e glândulas vesiculares.

Resultado e Discussão

Dos 33 animais submetidos a exame andrológico, 3 (9,09%) animais não estavam aptos à reprodução, sendo que 1 deles apresentava testículo localizado na região inguinal na posição oblíqua “testículo de equino”, 1 apresentava aplasia segmentar da cabeça do epidídimo e 1 apresentava defeito anatômico, com alteração da inserção do ligamento escrotal. Oito (24,24%) animais encontravam-se aptos a reprodução, porém com maturidade sexual atrasada, pois as medidas de testiculares e de circunferência escrotal estavam abaixo das medidas relatadas na literatura para esta idade. Os outros vinte e dois animais (66,66%) estavam aptos à reprodução através do exame clínico andrológico. De acordo com Jainudeen & Hafez. (2004) a aplasia segmentar é mais comum entre os descendentes de touros portadores desta condição e caracteriza-se pela ausência parcial ou total de um ou de ambos os epidídimos, embora mais freqüentemente do epidídimo direito.

Conclusão

De acordo com os resultados do presente trabalho pôde-se observar que patologias como testículo localizado na região inguinal de forma oblíqua “testículo de equino”, aplasia segmentar da cabeça do epidídimo, alterações na inserção do ligamento escrotal e testículos subdesenvolvidos, estão cada vez mais comuns no rebanho bubalinos da região, em consequência do alto grau de consangüinidade.

Referências

Jainudeen, M.R.; Hafez, B. **Falha Reprodutiva em Machos**. 7 ed. Barueri, SP: Manole, 2004.

Ohashi, O.M.; Sousa, J.S.; Vale, W.G.; Silva, A.O.A.; Ribeiro, H.F.L. Buffalo Epididymal Activity on Sperms Cytoplasmic Droplet Migration. **Buffalo Journal**. v 1. p. 17-22. 1992.

Vale, W.G. Patologia hereditária em bubalinos criados na região amazônica. *Revista de Ciências Agrárias* (Belém), v.45, p.1-22, 2006

Palavras-chaves: Búfalos; Reprodução.

Keywords: Buffaloes; Reproduction.



Avaliação da sincronização de cio com implantes de melatonina exógena como tratamento de fêmeas ovinas com baixa fertilidade

Evaluation of oestrus synchronization as a treatment for low fertility on Santa Inês breed sheep treated with exogenous melatonin implants

E.B.S. Meira Jr, L. Gregory, M.Y. Hasegawa, H. Rizzo, G. Decuadro, C.O. Alvarenga

Departamento de Clínica Médica FMVZ-USP
E-mail: ejmeira@hotmail.com

Introdução

Os ovinos são animais poliéstricos estacionais. Esta sazonalidade é determinada pela redução fotoperíodo, que por sua vez regula o aumento da secreção de melatonina, intimamente ligada a secreção pulsátil de LH (hormônio luteinizante), fazendo desta forma que a atividade sexual máxima desta espécie se concentre nos meses de outono e inverno. Embora os animais da raça Santa Inês apresentem uma sazonalidade pouco expressiva na latitude em que nos encontramos no Estado de São Paulo, este experimento foi realizado com o intuito de maximizar a obtenção dos resultados esperados com o emprego de biotecnologias da reprodução em animais com histórico de baixa fertilidade, tal qual a IATF, no período da contra-estação reprodutiva, compreendido pelos meses de primavera e verão.

Material e Métodos

O experimento foi realizado nos meses de dezembro e janeiro em uma cabanha na região de Bragança Paulista, SP. Para tal utilizou-se um total de 29 ovinos da raça Santa Inês, divididos em um grupo controle (n=9) e um grupo experimental (n=20) que recebeu um implante de melatonina de nome comercial Melovine[®] 30 dias antes que todos animais fossem submetidos a um protocolo de inseminação artificial em tempo fixo. O protocolo preconizado de sincronização de cio foi realizado através do uso de implantes de progesterona (progespon[®]) durante 14 dias e administração de 400 U.I: Novormon[®]. Após 55 horas os animais foram inseminados com sêmen fresco colhidos com vagina artificial. Para o controle do cio colocou-se as fêmeas para serem rufiadas. Todas foram inseminadas com sêmen fresco por depósito em via cervical. Após 60 dias foi realizado o diagnóstico de gestação pelo método ultra-sonográfico.

Resultados e Discussão

Ao avaliar a presença de cio entre os dois grupos notou-se que 95% das fêmeas do grupo experimental com melatonina apresentaram um comportamento clássico de cio, permitindo a monta do rufião, enquanto somente 22,22% das fêmeas do grupo controle deram sinais de cio. Os resultados da inseminação do grupo controle apresentou uma taxa de prenhez de 66,66%, confirmada pelo exame ultra-sonográfico e o grupo experimental por sua vez obteve 60%. Estes resultados permitem afirmar que a utilização do implante de melatonina otimizou a apresentação do cio em animais que possuíam baixa fertilidade.

Referências Bibliográficas

- Loureiro, M. F. P.** Indução de estro por implante de melatonina em ovinos da raça Suffolk. 2003. 68p. Tese (Mestrado)- Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 2003.
- Malpaux, B., Vigié, C., Skinner, D.C., Thiéry, J.C., Pelletier, J., Chemineau, P.** Seasonal breeding in sheep: Mechanism of action of melatonin. *Animal Reproduction Science* n.42. p. 109-117, 1996.
- Nett, T.M., Niswender, G.D.** Influence of exogenous melatonin on seasonality of reproduction in sheep. *Theriogenology*, v. 17, p. 645-653, 1982.

Palavras-chave: Ovinos, sazonalidade, melatonina, estro.

Keywords: Sheep, seasonality, melatonin, oestrus.



Ocorrência de Intersexo Verdadeiro em Ovino da Raça Santa Inês

Occurrence of True Intersex in ovine of Santa Inês

P.P.M. Teixeira¹, R.F. Andrade¹, M.M. Penha-Filho¹, L.F.S. Rodrigues¹, M.E.F. Oliveira²,
W.L.A. Pereira¹, H.L.L. Sousa¹, Moura A.C.B.¹

¹CPCOP/UFRA, Belém - PA, Brasil ²UNESP/FCAV, Jaboticabal - SP, Brasil
E-mail: cpcop@yahoo.com.br

Introdução

O intersexo é um animal com variações anatômicas congênitas que confundem o diagnóstico do sexo, podendo ter órgãos reprodutivos de ambos os sexos, ou ser geneticamente pertencente a um sexo e fenotipicamente ao outro. Sob a denominação de intersexo, estão enquadrados os hermafroditas, pseudo-hermafroditas e outras formas de inversão sexual. Hermafroditas verdadeiros são animais portadores de ambigüidade sexual genital. Estes se apresentam com tecido ovariano testicular, seja na forma de uma gônada combinada (ovotestes), seja em órgãos separados. A maioria desses tipos de intersexo possui o genótipo de fêmea XX, mas são positivos para o antígeno H-Y, o antígeno de histocompatibilidade secundária normalmente codificado por um gene localizado no cromossomo Y masculino. Esperaria que os hermafroditas verdadeiros fossem mosaicos XX/XY, porém, a maioria possui uma constituição cromossômica sexual XX normal. O objetivo deste trabalho é relatar a ocorrência de hermafroditismo verdadeiro em um ovino da raça Santa Inês; patologia de rara frequência nessa espécie.

Material e Métodos

O animal procedeu de uma fazenda no Nordeste do Estado do Pará, enviado para estudo ao Centro de Pesquisa em Caprinos e Ovinos do Estado do Pará (CPCOP) em conjunto com o setor de Patologia Veterinária da Universidade Federal Rural da Amazônia. Este foi sacrificado e no exame anatomo-patológico a genitália interna demonstrou bilateralmente as gônadas (testículo e ovário), sem a presença de um ovoteste e graus variáveis de desenvolvimento do epidídimo e das estruturas foliculares, assim como, da porção tubular uterina, que apresentou segmentos dos cornos expandidos por secreção, entretanto, na maior parte, as estruturas millerianas estavam aplásicas. A partir do sangue foi realizado o estudo citogenético, para análise do cariótipo, sendo a coloração cromossômica processada com Giemsa, coloração convencional para este método.

Resultados e Discussão

A genitália externa apresentava características ambíguas, com graus variáveis de diferenciação masculina e feminina. Havia uma vulva e um clitóris bastante desenvolvido semelhante a um pênis. Os achados clínicos e anatomo-patológicos deste trabalho foram semelhantes aos referidos na literatura para os hermafroditas verdadeiros. Após a análise de dez metáfases, obtidas por cultura temporária de linfócitos, foi verificado a presença de mosaicismo com uma linhagem sendo 54,XX (5 células) e outra 54,XY (5 células).

Referências Bibliográficas

- Hafez, B.; Hafez, E.S.E. Reprodução Animal. 7.ed. Barueri: Manole, 2004.
Grunert, E.; Birgel, E.H.; Vale, W.G. Patologia e Clínica da reprodução dos animais mamíferos domésticos – Ginecologia. Varela, 2005.

Palavras-chave: Ocorrência, Intersexo, Ovino.

Keywords: Occurrence, Intersex, ovine.



Avaliação andrológica durante a insulação escrotal por 96 horas em carneiros

Andrological evaluation during the scrotal insulation for 96 hours in rams

A.L.R. Rodrigues*, L. Tutida, S.D. Bicudo¹**

¹ Departamento Reprodução Animal e Radiologia Veterinária, FMVZ, UNESP, Botucatu - SP, Brasil

E-mail: *arios@terra.com.br, **sony@fmvz.unesp.br

Introdução

A insulação escrotal envolvendo toda a superfície do escroto é um método eficiente para indução da degeneração testicular prolongada e transitória, e geralmente leva a um quadro espermático de declínio da motilidade, vigor e concentração espermática e aumento das alterações morfológicas dos espermatozoides (BARTH & BOWMAN, 1994). O objetivo deste trabalho foi avaliar as características andrológicas anteriores, no decorrer e no momento posterior à insulação escrotal em carneiros da raça Santa Inês.

Material e Métodos

Foram utilizados 12 carneiros da raça Santa Inês, sendo 6 carneiros controle da insulação escrotal e 6 carneiros submetidos à insulação escrotal por 96 horas. Exames andrológicos (CBRA, 1998) foram realizados anteriormente, 24 horas, 48 horas, 72 horas e 96 horas a partir da colocação da bolsa insuladora. O sêmen foi colhido com auxílio de eletro-ejaculador.

Resultados e Discussão

Os animais submetidos à insulação escrotal, tiveram aumento crescente na temperatura da superfície escrotal de 1,3°C às 24 horas, 1,5°C às 48 horas, 2,0°C às 72 horas e 2,6°C às 96 horas do início da insulação comparados aos animais controle. Os carneiros com bolsa escrotal insulada apresentaram um decréscimo no grau de consistência do parênquima testicular de 4, para 2, após a retirada das bolsas de insulação em relação ao momento anterior à insulação, semelhante aos carneiros Santa Inês relatados por Moreira, et al. (2001). Contudo, a diminuição da consistência testicular nesse experimento não alterou a circunferência escrotal às 96 horas de insulação escrotal. As mudanças encontradas nas características seminais durante a insulação escrotal indicaram que houve a elevação na temperatura epididimária suficiente para causar alterações. Houve diferença significativa somente às 96 horas após o início da insulação, ocorrendo uma redução em 20% na motilidade espermática, e um aumento em 8% nos defeitos menores e em 20,5% nos defeitos totais devido ao aumento significativo de espermatozoides com cabeça normal decapitados, não ocorrendo aumento de outros tipos de patologias espermáticas. Moreira, et al. (2001) relatam um decréscimo na motilidade espermática logo na primeira colheita realizada no primeiro dia após a insulação de carneiros Santa Inês, evidenciando efeito direto da temperatura, e mais rápido sobre o epidídimo associado ao aumento estatisticamente significativo nos defeitos menores e totais. Estudos realizados por Barth & Bowman (1994) e Fonseca & Chow (1995) ocorreram aumento de anomalias espermáticas secundárias, particularmente espermatozoides decapitados e defeitos de cauda, logo após a insulação escrotal. No presente estudo, não houve alteração nas concentrações espermáticas por mL e total ao comparar os grupos de carneiros controle e insulado. Levando-se em conta o tempo necessário para o transporte espermático pelo epidídimo, não houve tempo para que alterações na espermatogênese refletissem nas células do ejaculado.

Referências Bibliográficas

- Barth, A. D.; Bowman, P. A. **The sequential appearance of sperm abnormalities after scrotal insulation or dexametason treatment in bulls.** *Can. Vet. J.*, v. 35, p. 93-102, 1994.
- CBRA – Colégio Brasileiro de Reprodução Animal. Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal. 2ed. Belo Horizonte. 49p. 1998.
- Fonseca, V. O.; Chow, L. A. Características seminais de touros zebus com degeneração testicular transitória. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v. 47, p. 707-16, 1995.
- Moreira, E.M.; Moura, A.A.A.; Araújo, A.A. Efeitos da insulação escrotal sobre a biometria testicular e parâmetros seminais em carneiros da raça Santa Inês criados no estado do Ceará. *Rev. Bras. Zootec.*, v.30, n.6, p. 1704-1711, 2001

Palavras-chave: carneiro, insulação escrotal, andrologia.

Keywords: ram, scrotal insulation, andrology.



Alterações endócrinas em reprodutor suíno: relato de caso

Endocrine alterations in swine reproduction: report case

G. Oberlender, A.L.N. Alvarenga, D. Lima, L.D.S. Murgas, T.S. Gaggini, D.M. Silva, M.G. Zangeronimo

Departamento de Medicina Veterinária – Universidade Federal de Lavras – Lavras - MG

E-mail: guilherme_oberlender@yahoo.com.br

Introdução

A testosterona é um dos principais hormônios andrógenos produzido nas células de Leydig, com limitada produção no córtex adrenal. Essencial à função reprodutiva do macho suíno, exerce atividade de crescimento, desenvolvimento e secreção das glândulas acessórias, como próstata, glândulas vesiculares e bulbouretrais. É especialmente importante no estímulo ao comportamento sexual do macho e na libido, que são características sexuais secundárias fundamentais ao sucesso reprodutivo do suíno (Murgas, 1999).

Material e Métodos

Foram utilizados dois reprodutores suínos de alta performance, com idade entre 7 e 8 meses, os quais foram submetidos durante dois meses a um protocolo de treinamento para colheita de sêmen. O treinamento teve como objetivo a avaliação do comportamento sexual e reprodutivo visando a incorporação destes animais ao plantel do DZO-UFLA. Durante esse período, os animais foram submetidos à pesagem e medições de biometria testicular para avaliações posteriores de média de ganho de peso e crescimento testicular. Durante o treinamento apenas um dos animais (animal 1) apresentou libido e realizou a monta sobre o manequim, com posterior ejaculação. O outro animal (animal 2) não demonstrou nenhum interesse pelo manequim e não houve realização de monta. Após o período de treinamento, foram coletadas, de ambos os machos, duas amostras de sangue de 10 mL cada para realização de análises de testosterona e estradiol plasmáticos, a fim de verificar se o comportamento de libido dos machos estava sendo influenciado pelos níveis hormonais. A concentração de testosterona foi determinada através de radioimunoensaio e a de estradiol pela quimioluminescência.

Resultados e Discussão

Com relação às médias de ganho de peso e de biometria testicular, os animais apresentaram semelhanças quanto à análise destes parâmetros (635 g e 711 mL de volume testicular médios). O animal 1 apresentou, em média, quatro saltos sobre o manequim durante o período de treinamento. O tempo médio de ejaculação foi de 4 minutos e 39 segundos. O animal 2 não realizou nenhum salto durante esse período. As dosagens hormonais para o animal 1 foram de 0,0153 ng/mL e 0,7015 ng/mL para testosterona e estradiol, respectivamente. O animal 2 apresentou concentração plasmática de testosterona igual a 0,0011 ng/mL e de estradiol igual a 0,0241 ng/mL. Esses dados hormonais são conflitantes segundo Zamaratskaia et al. (2004), que encontraram 0,2 e 0,02 ng/mL para testosterona e estradiol respectivamente em animais com libido normal; porém, deve-se ressaltar que as concentrações desses hormônios variam com as linhagens de suínos. Além disso, o horário da coleta pode ter grande influência nos níveis plasmáticos desses hormônios. Pode-se concluir que o animal 2 apresentou valores muito inferiores de testosterona e estradiol em relação ao animal 1, o que pode explicar o fato de não ter saltado no manequim e nem demonstrado interesse pelo mesmo.

Referências Bibliográficas

- Murgas, L. D. S.; Fialho, E. T.; Oliveira, A. I. G.; Lima, J. A. F.** Desempenho reprodutivo de varrões híbridos alimentados com rações suplementadas com óleo de soja como fonte de ácidos graxos. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v.25, n.6, p.1423-1434, nov/dez, 2001.
- Zamaratskaia G, Babol J, Madej A, Squires EJ, Lundström K.** Age-related variation of plasma concentrations of skatole, androstene, testosterone, oestradiol-17 β , oestrone sulphate, dehydroepiandrosterone sulphate, triiodothyronine and IGF-1 in six entire male pigs. *Reprod Dom Anim*, v.39, n.3, p.168-172, 2004.

Palavras-chave: Testosterona, estradiol, suíno, libido.

Keywords: Testosterone, oestradiol, swine, libido.



Efeito do estresse térmico sobre parâmetros seminais de suínos criados na Baixada Cuiabana.

Effect of heat stress on seminal swine parameters in Baixada Cuiabana

**F. Mainardi¹, J.X. Oliveira Filho¹, R.V. Martins¹, H.P. Carvalho¹, G.S. Silva¹,
L.K. Hatamoto-Zervoudakis², J.G. Caramori Jr²**

¹Discente - Medicina Veterinária - FAMEV-UFMT ²Docente - FAMEV-UFMT
E-mail: felipemainardi@yahoo.com.br

Introdução

Suínos submetidos à temperaturas superiores à zona de termoneutralidade (29°C) estão sujeitos à depressão de seus parâmetros seminais: motilidade (MOT), vigor (VIG), aglutinação (AG) e surgimento de defeitos de morfologia espermática (DME), sendo que a temperatura de conforto térmico para machos suínos varia entre 16°C e 22°C (Ruvalcaba e Conde Martínez, 2005). O presente estudo tem como objetivo avaliar o efeito de altas temperaturas ambientais sobre os parâmetros seminais de suínos criados na Baixada Cuiabana.

Material e Método

Foram utilizados oito machos com maturidade sexual criados em sistema intensivo e alojados em baias individuais. Foram realizadas coletas semanais de sêmen pela técnica de mão enluvada, com o auxílio de manequim, durante o período de agosto de 2006 a janeiro de 2007, totalizando 26 coletas. Foram colhidas as médias diárias de temperatura em graus Celsius (TES) e umidade relativa do ar (UR) na estação meteorológica local. Antes das coletas aferiu-se a frequência respiratória (FR) dos animais, em repouso, e temperatura retal (TR). Em cada coleta, foram avaliados de maneira subjetiva a motilidade, vigor, e aglutinação. A morfologia espermática foi avaliada pelo método de câmara úmida e a quantidade de espermatozoides vivos foi avaliada em esfregaços corados com eosina e nigrosina (EOS). Os dados foram analisados pelo SAS (2000), com α de 5%, e serão expressos na forma de média \pm erro padrão da média.

Resultados e Discussão

Observou-se início da elevação da temperatura nos meses de outubro ($26,56 \pm 0,14$) e novembro ($27,64 \pm 0,18$), sendo que neste período os animais estavam em estresse térmico (Ruvalcaba e Condes Martínez, 2005) com médias de espermatozoides vivos em torno de $84,26\% \pm 3,2\%$ e $82,80\% \pm 1,2\%$, respectivamente. Nos meses de dezembro e janeiro os animais apresentaram melhores resultados no teste de EOS mesmo ocorrendo elevação de temperatura, talvez por terem se adaptado ao clima. Com relação ao volume foi observado nos meses de agosto e setembro os menores volumes, provavelmente por coincidir com a fase inicial das coletas, com os animais ainda em treinamento. Com relação aos DME, observou-se maiores médias nos meses de novembro $45,81\% \pm 9,87\%$ e dezembro $35,00 \pm 5,47\%$. Observou-se correlação estatística significativa ($P < 0,05$) da TES com EOS ($r = -0,18$; $p = 0,015$), VOL ($r = 0,12$; $p = 0,10$), DME ($r = 0,15$; $p = 0,04$) e deste com a MOT ($r = 0,15$; $p = 0,046$). Segundo Ruvalcaba e Conde Martínez (2005), Conde Martínez e Corcuera Urbina (2005), o estresse provocado pelo calor causa efeitos variáveis nos cachos relacionados a sua performance reprodutiva, aumentando a incidência de formas espermáticas anormais, e consequente diminuição de motilidade espermática. Concluímos que o estresse térmico interfere nos parâmetros seminais de suínos.

Referências Bibliográficas

- Ruvalcaba JAG, Conde Martínez P**, 2005. Por que ocorrem problemas reprodutivos no cachaço? *Suínos & Cia*, 14:11-26.
Conde Martínez P, Corcuera Urbina BD, 2005. Análise de sêmen: importância nos resultados reprodutivos. *Suínos & Cia*, 13: 11-17.

Palavras-chave: macho, temperatura, sêmen.

Keywords: male, temperature, semen.



Hipospadia severa canina - relato de caso

Severe canine hypospadias - case report

P.C. Faria¹, V.L.T. Jesus¹, A.C.N. Castro¹

¹Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

E-mail: escociabdg@ig.com.br

Introdução

A hipospadia é uma anomalia congênita em que o orifício uretral externo pode estar localizado em qualquer parte da porção ventral do pênis, desde o local normal de abertura até a região perineal. Tal anomalia pode ser classificada como 'peniana', 'escrotal' e 'perineal' (ADER; HOBSON, 1978; RAHAL; et al., 2004). O diagnóstico é feito por uma análise clínica do pênis e do períneo. Em cães com uma severa irritação associada a uma anormal fusão do prepúcio ou com o pênis hipoplásico usualmente opta-se pela amputação do pênis e do prepúcio, além de uma uretostomia escrotal ou perineal (PAPAZOGLU, 2004). A excisão dos remanescentes do prepúcio e do pênis, bem como a orquidectomia bilateral são práticas que podem ser indicadas em casos graves, mantendo-se o orifício uretral na região perineal (SMITH, 1993).

Material e Métodos

Foi encaminhado a uma clínica veterinária um cão (*Canis familiares*) macho, mestiço, com cinco meses de idade, que havia sido abandonado em um domicílio da cidade de Niterói, no Estado Rio de Janeiro. Submeteu-se o animal ao exame clínico e, de imediato, foi realizada a reparação do pênis afuncional - que não possuía sustentabilidade do prepúcio - através de uma sutura do prepúcio. Por meio do exame ultrassonográfico da região pélvica e da uretra conseguiu-se a confirmação do caso de hipospadia. Conseguiu-se também a correção cirúrgica definitiva da anomalia peniana. Levou-se em conta no procedimento de reparação do distúrbio a relação direta entre anomalias envolvendo o sistema urinário e o reprodutor.

Resultados e Discussão

Pelo exame ultra-som constatou-se a presença de pequenos cristais na uretra, que foram retirados através da introdução de uma sonda na abertura uretral. Esse procedimento foi realizado com sucesso. Para a correção da hipospadia optou-se por uma penectomia e uma orquidectomia bilateral, como recomendado por Papazoglou (PAPAZOGLU, 2004). Após o ato cirúrgico o animal apresentou bom quadro clínico. Trinta dias após a cirurgia, no entanto, o animal veio a falecer em função de uma Erlichiose, impedindo o prosseguimento de novas análises, que foram solicitadas na época ao proprietário. Vale ressaltar ainda que achados como esse em clínicas veterinárias deveriam ser relatados para que, no futuro, venhamos a ter uma casuísta desta anomalia na clínica reprodutiva dos animais de companhia.

Referências bibliográficas

Adler PL, Hobson HP. Hypospadias: A review of the veterinary literature and a report of three cases in the dog. *J Am Anim Hosp Assoc* 14:721-727, 1978.

Rahal SC, Mota LSLS, Mamprim MJ, Ciani RB. Perineal hypospadias in a dog – case report, *Priory Medical Journals (The International Journal of Veterinary Medicine)* 2004. Disponível em: <http://www.priory.com/vet/hypospadias.htm>.

Papazoglou LG. Diseases and Surgery of the Canine Penis and Prepuce; 29th World Congress of the World Small Animal Veterinary Association, 2004.

Smith CW. Surgical diseases of the urethra. In: Slatter, DH, ed. *Textbook of Small Animal Surgery*. 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders, 1993:1462-1463.

Palavras-chave: intersexo, penectomia, cão.

Keywords: intersex, penectomy, dog.



Expressão imunoistoquímica da proteína p53 em tecido glandular mamário sadio, tumoral e metastático de cadelas

Immunohistochemical expression of p53 protein in healthy, tumoral and metastatic mammary glandular tissue

**M.J.C.D. Teixeira¹, M. Christilis², A.P.V. Sobral³, M.C.C. Abreu-e-Lima⁴,
F.C.L. Maia⁵, M. Adrião⁵, A. Wischral⁵**

¹Pós-graduando, ²Graduando - UFRPE, ³Professor FOP-UPE, ⁴Professor UFPE, ⁵Professor UFRPE
E-mail: aurea@dmv.ufrpe.br, madriao@dmfa.ufrpe.br

Introdução

A frequência de tumores mamários benignos e malignos em cães varia consideravelmente devido à existência de diferentes métodos de classificação dos tumores e ausência de critérios uniformes para diferenciar os tipos tumorais. Tumores classificados histologicamente como benignos podem eventualmente dar origem a metástases. Análises imunoistoquímicas para descoberta de receptores hormonais, oncogenes e supressores de tumor como o gene p53 (Tp53) entre outros, são de grande valor para predizer um prognóstico mais preciso em neoplasia mamária (CASSALI, 2000). O objetivo do presente experimento foi verificar a expressão imunoistoquímica da proteína p53 associando-a: ao aspecto morfológico de tecido glandular mamário sadio, à classificação e gradação de tumores mamários, e ao tecido linfonodal inguinal ipsilateral, metastático ou não, oriundos da espécie canina.

Material e Métodos

Dezenove mamas sadias serviram como grupo controle (G-1) e vinte e nove amostras de mamas com diagnóstico clínico de tumor (G-2), 29 mamas contra laterais (G-3) e 29 linfonodos (G-4) foram coletados. Todo material foi fixado em formol, emblocado em parafina, cortado em 5µm e corado em HE. Os tipos histológicos tumorais, bem como sua gradação foram identificados. Para a realização da técnica de imunoistoquímica foi utilizado o método da estreptavidina-biotina peroxidase, otimizado com o sistema de amplificação LSAB-DAKO, e revelado pelo DAB. A expressão imunoistoquímica da proteína p53 foi avaliada quanto à localização no compartimento celular e intensidade da marcação.

Resultados e Discussão

Todos os animais do G-1 apresentaram tecido mamário normal. A avaliação morfológica do G-2 revelou: 19 tumores malignos, 4 tumores benignos, 2 processos inflamatórios, 2 tecido sadio, 1 hiperplasia glandular e 1 material insuficiente para diagnóstico. No G-3 foram observadas 26 mamas contra laterais sem alteração, 2 com metástase e 1 material insuficiente. No G-4 foram verificados: 6 linfonodos normais, 9 com metástase e 14 material insuficiente. Observou-se maior frequência para as variantes histológicas malignas (65,52%), concordando com Hellmén (2005) quando afirma que cerca de 50% dos tumores de mama em cadelas são considerados malignos, diminuindo a qualidade e tempo de vida destes pacientes. Não foi observada expressão para p53 no G-1. No G-2, ocorreu marcação positiva tanto em tumores benignos (3), como malignos (19), localizada no núcleo e no citoplasma, ora isoladamente ora associados. No G-3, a marcação ocorreu em metástase (2) e em mamas sadias (5). No G-4, todos os linfonodos metastáticos exibiram marcação. A expressão para p53 foi independente do caráter benigno ou maligno dos tumores, com variação da intensidade da marcação, independente de seus subtipos histológicos, fato já detectado em tumores similares de ratos (Bukhari et al., 2006). Não houve diferenças estatísticas entre a intensidade da marcação e do número de células marcadas com o grau de malignidade. Estes achados permitem concluir que a imunoexpressão tem correlação com o subtipo histológico, o grau de malignidade e o processo de metástase dos tumores mamários em cadelas, sugerindo a utilização destes parâmetros para nortear o comportamento destes tumores, associados a outros marcadores prognósticos.

Referências Bibliográficas

- Bukhari MH, Salaria SM, Niaz Z, Muzzafar A, Batool Z, Qureshi GR, Naveed IA, Chaudhry NA.** Mutation of p53 in skin papilloma and tubular breast adenoma of albino mice. *J Coll Physicians Surg Pak.*, v. 16, n. 4, p. 280-3, 2006.
- Cassali GD.** Estudos morfológicos, imuno-histoquímico e citométrico de tumores da cadela – Aspectos comparativos com neoplasias da mama humana. 2000, Tese (Doutorado em Ciência Animal), Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, Belo Horizonte, 2000.
- Hellmén E.** Complex mammary tumour in the female dog: a review. *J Dairy Res.*, v.72, p. 90-97, 2005.

Palavras chave: Tumores mamários caninos, proteína p53, metástase, linfonodos.

Key words: Breast cancer, p53 expression, metastasis, lymph-nodes.



Hérnia ínguino-escrotal em cão da raça Golden Retriever afetado por distrofia muscular progressiva (GRMD) - relato de caso

Inguino scrotal hernia in a Golden Retriever dog affected by muscular dystrophy (GRMD) - case report

**M.M.C.P. Luppi^{1,2}, E.C. Pessuto⁴, T.P.M. Lourenço^{1,2}, A.C. Morini¹, D.S. Martins,
C.E. Ambrósio, T. Froes⁴, M. Zatz⁵, M.A. Miglino¹**

¹FMVZ/USP, ²UNIP/Campinas, ³UFPR, ⁴UNIMES, ⁵IB, USP
E-mail: martaluppi@gmail.com

Introdução

Distrofia Muscular Progressiva é um grupo de doenças genéticas que se caracterizam por degeneração progressiva do tecido muscular. A distrofia muscular canina da raça *Golden Retriever* tem similaridades com a distrofia muscular de Duchenne em humanos e o cão é o modelo clínico para o estudo dessa miopatia. Informações acerca dos aspectos clínicos de cães distróficos são escassas em literatura e não há dados estatísticos da incidência de hérnias em cães afetados. A patogenia da hérnia inguinal é multifatorial, porém pode-se inferir que animais com distrofia muscular tenham também fraqueza das fibras musculares das estruturas anatômicas inguinais, o que lhes confere maior predisposição às hérnias primárias. O presente trabalho teve por objetivo descrever um caso de hérnia ínguino-escrotal unilateral em um cão afetado por distrofia muscular, do canil experimental de da raça *Golden Retriever* afetados pela distrofia muscular.

Material e Métodos

O animal em questão pertence ao canil experimental da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia e do Centro de Estudo do Genoma Humano da Universidade de São Paulo. O canil é considerado a terceira colônia no mundo com este tipo animal e pesquisa. Em avaliação clínica de rotina foi observado em um dos cães distróficos, de 4 anos e 23 kg, estrutura em escroto esquerdo de 5 cm de diâmetro, palpável, de consistência macia e irreductível. A bolsa escrotal tinha aspecto inalterado com testículos de tamanho, consistência e mobilidade normais. Para pesquisa clínica foi realizado exame ultra-sonográfico. O animal veio a óbito após complicações de uma cardiomiopatia dilatada e a necropsia foi realizada.

Resultados e Discussão

Em exame ultra-sonográfico foram observados órgãos reprodutivos sem alterações, além de estrutura hiperecótica, anexa ao testículo esquerdo, com densidade compatível com gordura, sem alças intestinais encarceradas. Durante necrópsia foi confirmada a hérnia ínguino-escrotal com presença de omento maior locado na cavidade escrotal. A análise de qualquer aspecto clínico da doença nos cães é importante para a obtenção de dados que possam ser aplicados na medicina humana. Sugerem-se estudos que visem elucidar se a fragilidade muscular da distrofia muscular é fator predisponente para hérnias e se há maior incidência desta alteração em animais e humanos afetados. Além disto, ressaltamos que toda musculatura esquelética dos indivíduos distróficos apresentam alterações na distribuição de distrofina o que poderia levar a fragilidade de estruturas musculares planas de formação do anel inguinal bem como enfraquecimento do músculo cremáster. Estes achados podem ser usados na medicina humana visando à prevenção de herniações inguinais nos meninos afetados.

Referências Bibliográficas

1. **Bergman, R. L.; Inzana, K. D.; Monroe, W. E.; Shell, L. G.; Liu, L. A.; Engvall, E.; Shelton, G. D.** Dystrophin-deficient muscular dystrophy in a Labrador retriever. *Journal of the American Animal Hospital Association*, v. 38, n. 3, p. 255-261, 2002
2. **Howell, J.M.; Fletcher, S.; Kakulas, B. A.; O'hara, M.; Lochmuller, H.; Karpati, G.** (1997). Use of the dog model for Duchenne muscular dystrophy in gene therapy trials. *Neuromuscular Disorders*. v.7, n.5, p.325-328, 1997.

Palavras-chave: Distrofia muscular animal, Cães, Hérnia ínguino-escrotal.

Keywords: Animal muscular dystrophy, Dogs, Hernia.



Pseudo-hermafroditismo masculino canino – relato de caso

Canine male pseudohermaphroditism – case report

**F.A. Voorwald, M.G. Medeiros, T.F. Motheo, D.G. Martins, V. Rodrigues, F.M. Fukutaki, G.H. Toniollo,
W.R.R. Vicente, J.F. Lui**

Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal - FCAV/UNESP
E-mail: voorwald@gmail.com

Introdução

Os pseudo-hermafroditas possuem apenas um tipo de tecido gonadal, que é concordante com o sexo cromossômico, mas discordante do sexo fenotípico (BEARDEN & FUQUAY, 2000). O pseudo-hermafroditismo masculino apresenta-se de duas formas: síndrome da persistência dos ductos de Muller, onde ocorre produção do fator de inibição dos ductos de Müller no período embrionário, mas ocorre um defeito em seus receptores, tornando o tecido irresponsivo a ele; e falha no processo de masculinização andrógeno-dependente, que pode ser parcial ou completa dependendo da capacidade funcional dos receptores de andrógenos, independente das concentrações de andrógenos circulantes; esses indivíduos possuem testículos bilaterais, geralmente criptorquídeos, genitália externa feminina com vagina que termina em fundo cego, e ausência de derivados dos ductos de Müller, também não possuem estruturas derivadas dos ductos de Wolff, ou estas estão pouco desenvolvidas (MEYERS-WALLEN, 1993). O objetivo deste relato é apresentar um caso de pseudo-hermafroditismo masculino em cão, os exames complementares realizados para diagnóstico e o procedimento terapêutico adotado.

Relato de caso

Foi atendido no Hospital Veterinário da FCAV-UNESP/Jaboticabal, um animal da raça Pastor Alemão de um ano, adquirido como fêmea, com comportamento de macho, ausência de sinais de ciclicidade e estrutura anormal na vagina. Ao exame físico observou-se vulva normal, canal vaginal preservado e fossa clitoriana desenvolvida com um hemipênis. Foram realizados hemograma, exames bioquímicos, dosagens hormonais e análise citogenética. O exame ultra-sonográfico e radiográfico permitiu a visualização de útero e testículos na cavidade abdominal e confirmar a existência de osso peniano. Realizou-se celiotomia retro-umbilical para orquiectomia e histerectomia e posterior envio para análise histopatológica. O útero, sustentado pelo mesométrio, era composto de cérvix, corpo e cornos uterinos. Os testículos inseriam-se caudalmente aos cornos uterinos pelo ligamento da cauda do epidídimo e próprio do testículo e cranialmente pelo músculo cremaster e plexo pampiniforme, na posição anatômica dos ovários. Realizou-se episiotomia, remoção do pênis-símile e vulvovaginoplastia. A cariotipagem resultou em 78,XY, o exame histopatológico em dois testículos atrofiados e útero e as dosagens hormonais 0,22ng/ml de progesterona, 34,4pg/ml de estradiol e 242ng/ml de testosterona.

Resultados e Discussão

Observou-se que o animal atendido apresentou concordância do sexo cromossômico com o sexo gonadal. Embora a genitália externa fosse fenotipicamente feminina, as gônadas eram masculinas, o que permitiu classifica-lo como pseudo-hermafrodita masculino. Devido ao fato do animal apresentar derivados dos ductos de Müller e derivados dos ductos de Wolff, sugeriu-se tratar de pseudo-hermafroditismo masculino decorrente da síndrome da persistência dos ductos de Müller.

Referências Bibliográficas

- Bearden HJ, Fuquay JW.** Anatomical and inherited causes of reproductive failure. Applied animal reproduction. 5 ed., p.319-327, 2000.
- Meyers-Wallen VN et al.** Mullerian inhibiting substance is present in embryonic testes of dogs with persistent mullerian duct syndrome. Biol. Reprod., v.48, n.6, p.141-148, 1993.

Palavras-chave: pseudo-hermafrodita masculino, síndrome da persistência dos ductos de Muller.

Keywords: male pseudohermaphrodite, persistent mullerian duct syndrome.



Avaliação histológica e hormonal de animais com complexo hiperplasia endometrial cística/piometra e animais normais

*Histological and hormonal evaluation of animals with complex cystic endometrial
hyperplasia/pyometra and healthy animals*

P.C. Oliveira¹, J.C.C. Balieiro², M.D. Lopes³

¹Doutoranda em Reprodução Animal–UNESP / Botucatu /UNIFEOB; ²FZEA/USP; ³ UNESP/Botucatu
E-mail: dirhovet@unifeob.edu.br

Introdução

A piometra é uma importante doença em cadelas adultas e não castradas. É provavelmente, a condição patológica mais severa do útero de cadelas, sendo responsável por um índice elevado de mortalidade quando não diagnosticada precocemente.. A hiperplasia cística endometrial (HCE) é uma resposta anormal e exagerada do útero de cadelas à estimulação crônica progesteronal, repetida durante a fase luteal do ciclo estral, com acúmulo de fluido dentro das glândulas endometriais e lúmen uterino. HEWITT e KORACH (2003) consideraram o estrógeno como importante modulador das funções reprodutivas normais de mamíferos. O objetivo do presente trabalho foi avaliar em diferentes fases do ciclo estral, a concentração de progesterona plasmática bem como, exames histológicos do tecido uterino de cadelas normais e com piometra.

Material e Métodos

Foram utilizadas 51 fêmeas caninas submetidas a ovariosalpingo-histerectomia (OSH), sendo 30 animais de conveniência e 21 com diagnóstico clínico de piometra. Os animais foram divididos em dois grupos: animais saudáveis e animais com a patologia. Amostras de sangue foram coletadas para determinação dos níveis séricos de progesterona, usando a técnica de radioimunoensaio em fase sólida, por meio do *kit* comercial de Progesterona COAT-A-COUNT[®], DPC – Méd. Lab. Os animais de cada grupo foram classificados nas diferentes fases do ciclo estral (fase folicular, luteal e anestro) com base no perfil hormonal de progesterona, conforme FELDMAN e NELSON (2004). Amostras dos cornos uterinos foram coletadas e fixadas em solução tamponada a 10% de fosfato de formoldeído por 24 horas e processados rotineiramente para análise histológica. As amostras foram examinadas histologicamente usando o critério previamente descrito por BANKS (1992).

Resultados e Discussão

Os níveis de progesterona para os 51 animais variaram entre 0,11 e 38,00 ng/ml, com média e erro padrão de 7,46±1,52 ng/ml, respectivamente. A análise de variância revelou resultado altamente significativo ($P<0,01$) das fases do ciclo estral dentro dos grupos comparativos avaliados. Para animais normais, resultados significativos ($P<0,01$) foram observados entre a fase diestro e as demais fases, não sendo observadas diferenças significativas ($P>0,05$) entre as fases de pro-estro, estro e anestro. Nos animais com piometra, as fases de diestro e anestro demonstraram diferenças significativas ($P<0,01$), não sendo verificadas diferenças significativas ($P>0,05$) entre as dosagens de progesterona dos animais normais e com piometra para a fase de anestro. Entretanto para a fase de diestro, foi observado resultado significativo ($P<0,01$) em relação aos grupos comparativos, sendo maiores níveis de progesterona associados aos animais normais, em relação aos animais acometidos com piometra. As amostras de útero foram examinadas histologicamente e, com base neste exame, os animais foram classificados quanto à presença ou ausência de HEC. Nos animais clinicamente saudáveis, foram observados apenas em 6,6% com algum grau de HEC e 93,4% sem HEC. Para os animais com piometra, 100% exibiram HEC.

Referências Bibliográficas

- Banks, W.** Histologia Veterinária Aplicada. São Paulo. Manole, 2 ed., 1992. 629p.
Feldman, E. C.; Nelson, R. W. Canine e feline endocrinology and reproduction, 2 ed. Philadelphia: WB Saunders, 2004, 785 p.
Hewitt, S.C. & Korach, S. K. Oestrogen receptor knockout mice: roles for oestrogen receptors α and β in reproductive tissues. J. Reprod. and Fertil., v. 125, n. 2, p. 143-149, 2003.

Palavras-chave: piometra, cadela, histologia uterina, progesterona.

Key-words: pyometra, bitch, uterine histological, progesterone.



Fertirelina associada ao cloprostenol para tratamento de cistos ovarianos

Fertirelin associated to Cloprostenol for ovarian cysts treatment

B.F.L. Alves², C.A.C.Fernandes¹⁻², M.M. Gioso¹, J.H.M. Viana³, A.C.S. Figueiredo¹⁻², E.R. Oliveira²,
T.D.Vasconcelos², B.M. Pereira⁴

¹Prof. Unifenas, ²Biotran LTDA, ³Embrapa-Gado de Leite, ⁴Mestrando Ciência Animal - Unifenas
E-mail: cacf@biotran.com.br

Introdução

Por se tratar de uma patologia de elevada ocorrência e por provocar alterações significativas na performance reprodutiva dos animais, o tratamento dos cistos ovarianos deve ser efetivo, no sentido de minimizar as perdas (Fernandes et al, 2004). O resultado do tratamento bem sucedido seria a regressão da estrutura cística e formação de uma massa de tecido luteal (corpo Lúteo) e o rápido retorno à atividade ovariana luteal cíclica e manifestação de ciclos estrais regulares. Braun et al. (2000) relatam ocorrência considerável de estruturas císticas com parede parcialmente luteinizada em vacas leiteiras, e citam a possibilidade de efeito benéfico na aplicação de prostaglandinas associada aos análogos do GnRH para tratamento. O objetivo deste trabalho foi avaliar e comparar a eficiência da Fertirelina associada ou não ao Cloprostenol para tratamento de cistos ovarianos em vacas leiteiras.

Material e Métodos

Foram utilizadas 40 vacas de leiteiras, holandesas, pertencentes a quatro rebanhos. O diagnóstico de cisto, foi feito por ultra-sonografia (Esaote-Falco), considerando como cisto estrutura anecóicas acima de 20mm. Os animais foram aleatoriamente divididos em dois grupos que receberam os seguintes tratamentos, via IM em dose única: G1: 0,1mg de Acetato de Fertirelina (Fertigen[®]) e G2: 0,1mg de Acetato de Fertirelina + 0,530mg de Cloprostenol (Ciosin[®]). Todos os animais foram novamente avaliados de 12 a 16 dias mais tarde. Considerou-se eficiente o tratamento onde na segunda avaliação ultra-sonográfica foi detectada a ausência da estrutura cística e presença de massa de tecido luteal. A eficiência dos tratamentos foi avaliada pelo teste de χ^2 .

Resultados e Discussão

A tabela 1 mostra os resultados dos dois tratamentos empregados. A associação do Cloprostenol ao acetato de fertirelina se mostrou benéfica no tratamento. Segundo Fernandes et al. (2004) uma parcela considerável dos cistos ovarianos em vacas leiteiras possui quantidades variadas de tecido luteal no bordo. Braun et al. (2000) relata que a destruição do tecido luteal nos cistos, quando existente, pode auxiliar na eliminação desta estrutura. Provavelmente uma parcela dos animais utilizados apresentavam cistos com parede luteinizada, onde a ação conjunta de um luteolítico, o cloprostenol, com o análogo do GnRH, foi benéfica para resolução desta patologia. Trabalhos adicionais, avaliando a real eficiência desta associação em vacas com estruturas císticas sabidamente luteinizadas, são necessários.

Tabela 1: Eficiência do tratamento de cistos ovarianos utilizando o Acetato de Fertirelina associada ou não ao Cloprostenol.

Grupo	Tratados	Cura	Eficiência (%)
G1: Fertirelina	20	12	60,0a
G2: Fertirelina + Cloprostenol	20	17	85,0b

Medias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem a 5% de probabilidade

Conclusões

Conclui-se que a associação do Cloprostenol ao Acetato de Fertirelina é mais eficiente que a esta última sozinha, no tratamento de cistos ovarianos em vacas leiteiras.

Referências Bibliográficas

Braun, J. Strategic use of hormones in dairy cows... *Tierarztliche Umschau*, v.55, p.299-300, 2000.
Fernandes, C.A.C. et al. Alternativas para tratamento... *A Hora Veterinária*, v. 23, p. 44-49, 2004.

Palavras Chave: Bovino, cistos ovarianos, fertirelina, cloprostenol.

Key Words: Bovine, ovarian cysts, fertirelin, cloprostenol.



Inovulação em tempo fixo após sincronização da ovulação em receptoras de embriões bovinos tratadas com progesterona

Fixed time Transfer after Synchronization of ovulation in embryo heifers treated with progesterone

A.J. Del Rei¹, C.C. Bartolomeu², C.T.G. Alvares³, A.L. Neves¹, J.A. Carvalho¹, L.L. Oliveira¹

CBRA –UESB, Campus Itapetinga- BA¹; UAG-UFRPE, Garanhuns –PE²; DCAA-UDESC³
E-mail: delrei@uesb.br

Introdução

Estudos tem mostrado eficiência em diferentes tratamentos na sincronização do estro e da ovulação para inovulação de embriões em receptoras bovinas, RODRIGUES et al.,(2004). Objetivou comparar a eficácia dos tratamentos com PGF₂alfa ou Progesterona (P4) associado ao Benzoato de Estradiol (BE) e ou ao eCG no protocolo de sincronização de receptoras para Transferência de Embriões em Tempo Fixo (TETF).

Material E Métodos

Foram utilizados embriões congelados em etileno glicol segundo VOCKEL e HU (1992), de doadoras da raça Pardo Suíço linhagem leiteira. De um rebanho de 250 fêmeas, utilizou-se 150 novilhas mestiças (Holando/Zebu) como receptoras de embrião, com massa corporal igual ou superior a 320 kg, em atividade cíclica regular. Ao exame da palpação retal, para detecção da presença de corpos lúteo (CL), foram selecionadas as que apresentaram uma condição corporal $\geq 2,5$ (escala 1 a 5), sendo divididas em diferentes tratamentos de sincronização de estro e ovulação. Dos animais selecionados 150 foram divididos aleatoriamente em três grupos (G) iguais, de (n=50). O G1 (Controle), o G2 (CIDR-B) e o G3 (CIDR-B + eCG). O G1 (n=50) receberam uma dose de PGF₂alfa 500mcg de cloprostenol por via IM e uma segunda dose após 11 dias da primeira, e sendo observados os sinais de estro por 5 dias subsequentes. O G2 (n=50) recebeu um dispositivo vaginal de CIDR juntamente com 2mg de BE. No D5, aplicou-se 500mcg de cloprostenol sódico (CIOSIN). A remoção do CIDR (Pfizer-SP) se deu no D8 e no D9 aplicou-se 1mg BE (IM), já o G3 (n=50) recebeu o mesmo tratamento do G2, no entanto aplicou-se 500 UI de eCG associado ao luteolítico. O dia do estro foi considerado o D10 para o G2 e o G3. A avaliação por via retal foi realizada no momento da TETF e as receptoras consideradas aptas, as que apresentaram uma estrutura nos ovários. O diagnóstico de gestação foi realizado pela palpação retal aos 50 dias e reexaminadas aos 60 após a inovulação transcervical. Foram analisadas as taxas de aproveitamento, concepção e prenhez e os resultados foram analisados pelo programa estatístico SAS for Windows.

Resultados e Discussão

As taxas de aproveitamento, concepção e prenhez diferiu ($P < 0,005$) entre o G2 em relação aos grupos G1 e G3 respectivamente, conforme resultados a seguir: G1= 70,0%^a (35/50); G2= 62,0%^b (31/50) e G3=78,0%^a (39/50), o G1=51,4%^a (18/35); G2=38,7%^b (12/31) e G3=48,7%^a (19/39) e para o G1=36,0%^a (18/50); G2=24,0%^b (12/50) e G3 38,0%^a (19/50). Resultados similares foram observados por (RODRIGUES et al., 2004 e VOCKEL e HU, 1992).

Conclusão

Os resultados indicam que o uso de dispositivo intravaginal de P4 elimina a necessidade de detecção do estro facilitando o manejo na TE. E o tratamento com P4 associado ao eCG apresentou a mesma eficiência que o tratamento com PGF₂alfa.

Referencias Bibliográficas

RODRIGUES, C.A.; MANCILHA, R.F.; REIS, E.L et al. Sincronização da ovulação com progesterona e progestagênio para inovulação em tempo fixo. *Acta Scientiae Veterinariae*, v.32, p.227, 2004.
VOCKEL, S.A., HU, Y.X. Use of ethylene glycol as cryoprotectant for bovine embryos allowing direct transfer of frozen-thawed embryos to recipient females. *Theriogenology*, v. 37, p.687-697, 1992.

Palavras chaves: Transferência em tempo fixo, sincronização da ovulação, novilhas.

Keywords: Fixed time Transfer, Synchronization of ovulation, heifers.



Pesquisa do vírus da rinotraqueíte infecciosa dos bovinos (BHV-1), através da técnica de PCR em complexos *cumulus*-oócito (COCs) e líquidos foliculares recolhidos por punção ovariana

Research of the virus of the infectious bovine rinotracheitis virus (BHV-1), through the technique of PCR in cumulus-oocyte complexes (COCs) and follicular liquids collected for ovum pick-up

A.P. Oliveira^{1,2}, R.C. Leite¹, J.H.M. Viana³, M.B. Heinemann², L.G.B. Siqueira⁴, A. Maciel, B.R.C. Alves^{2,3}

¹EPAMIG; ²EV-UFMG; ³EMBRAPA Gado de Leite; ⁴EV-UFV.
E-mail: andre.penido@gmail.com

Introdução

O comércio mundial de embriões vem acompanhando o crescimento da produção, com isso vem aumentando a preocupação com o risco da introdução de doenças exóticas ou cepas mais virulentas de doenças endêmicas através da transferência de embriões. Os países têm buscado desenvolver protocolos reguladores para a importação e exportação de germoplasma animal, mas para isso, a epidemiologia das doenças e a interação entre os patógenos e os complexos *cumulus*-oócitos (COCs), embriões e sêmen devem ser previamente conhecidas. Este trabalho procurou avaliar a presença do herpes vírus bovino 1 (BHV-1) em COCs e líquidos foliculares (LFs) provenientes de animais naturalmente infectados e sem tratamentos para a indução de estresse.

Material e Métodos

Foi realizada a aspiração folicular de 38 animais sorologicamente positivos para BHV-1, e que não apresentavam sinais clínicos da doença. O diagnóstico sorológico foi realizado pela prova de soroneutralização em microplacas (OIE, 1992). A pesquisa do vírus nos COCs e LFs foi realizada pela PCR, segundo Alegre *et al.* (2001). O controle negativo foi realizado a partir da infecção artificial com título de $10^{6,5}$ em 50µl da cepa de referência IBR Colorado 1 (ATCC, VR-864) em COCs e LFs de 8 animais sorologicamente negativos para BHV-1.

Resultados e Discussão

A sensibilidade da PCR no controle negativo foi de $10^{0,5}$ TCID. O DNA do BHV-1 não foi detectado nos COCs e LFs avaliados. Os resultados obtidos pela PCR são semelhantes aos observados por Bielanski & Dubuc (1993) e Singh (1982), nos quais oócitos com zona pelúcida intacta são refratários à infecção por BHV-1. Os resultados encontrados neste trabalho indicam que a triagem da doença pela PCR em gametas não é satisfatória, e que o risco de transmissão do BHV-1 através de COCs e LFs provenientes de animais sorologicamente positivos e que não apresentam sintomatologia clínica da doença, pode ser considerado irrelevante.

Referências Bibliográficas

- Alegre, M.; Nanni, M.; Fondevila, N.** Development of a Multiplex Polymerase Chain Reaction for the Differentiation of Bovine Herpesvirus-1 and -5. *J. Vet. Med. B*, vol. 48, 613-621, 2001.
- Bielanski, A.; Dubuc, C.** *In vitro* fertilization of bovine oocytes exposed to bovine herpesvirus 1 (BHV-1). *Reprod. Dom. Anim.*, vol. 28, 285-288, 1993.
- Office International Des Epizooties.** *Manual of Standards for diagnostic test and vaccines.* (O.I.E). Paris, France. 2 ed. 783 p., 1992.
- Singh, E.L.; Thomas, F.C.; Papp-Vid, G; Eaglesome, M.D.; Hare, W.C.D.** Embryo transfer as a means of controlling the transmission of viral infections. The *in vitro* exposure of pre implantation bovine embryos to infectious bovine rhinotracheitis virus. *Theriogenology*, vol. 18, 133-140, 1982.

Palavras-chave: BHV-1; OPU; oócitos; líquido folicular; PCR.

Keywords: BHV-1; OPU; oocytes; follicular liquid; PCR.



Um surto de Leptospirose em rebanho bovino leiteiro

An outbreak of Leptospirosis bovine in the dairy cattle

A.L.B.B. Mineiro¹, E.E.A. Bezerra², F.A.L. Costa³, N.A. Macedo⁴, R.J. Vieira⁵

¹CCA UFPI DCCV, ²Médico Vet. Parnaíba, ^{3,4,5}CCA UFPI DCCV

E-mail: lysarradas@yahoo.com.br

Introdução

A leptospirose é de distribuição cosmopolita causada por um grande número de sorovares patogênicos do gênero *Leptospira* (LEVETT, 2001). A sorovariedade hardjo é a mais freqüente em todo o mundo, portanto, a maior causador de problemas reprodutivos (ELLIS, 1994). O tipo hardjoprajitno é mais virulento e foi isolado da maioria dos fetos abortados, enquanto o hardjobovis foi isolado principalmente do rim e trato genital de bovinos portadores (BOLIN & ALT, 1999). O presente trabalho descreve um surto de leptospirose em rebanho bovino leiteiro no município de Buriti dos Lopes, bacia leiteira de Parnaíba, no Estado do Piauí.

Material e Método

Entre julho de 2005 e abril de 2006, ocorreram 52 abortamentos em vacas da raça girolanda, nos terços inicial e final de gestação, em propriedade localizada no município de Buriti dos Lopes – Piauí, situada na região norte do Estado do Piauí. Nesta propriedade existiam 450 bovinos, distribuídos nas seguintes categorias: 341 fêmeas, sendo 35 em idade pré-púbere, 28 púberes, 106 prenhes com idade gestacional entre 3 e 8 meses, 120 lactantes, 52 bezerras; 3 touros e 25 bezerros. O rebanho era submetido a controle sanitário para brucelose, tuberculose, IBR (Rinotraqueíte Infeciosa Bovina), febre aftosa e raiva. Para o diagnóstico de leptospirose foram coletadas amostras de sangue de 15 fêmeas que abortaram e de um reprodutor. Estas amostras foram submetidas ao teste de soroaglutinação microscópica (SAM) segundo GALTON et al. (1965).

Resultado e Discussão

Dos soros das 18 fêmeas testadas, 15 apresentaram aglutininas anti-leptospira para os sorovares hardjo (hardjoprajitno) (53,33%), hardjo (hardjobovis) (6,67%), wolffi (6,67%) e shermani (6,67%) (Tab. 1) com títulos variando de 1:100 a 1:400. Houve quatro co-aglutinações (26,66%). O soro do reprodutor apresentou aglutinina anti-leptospira para o sorovar hardjo (hardjobovis) com titulação de 1:400, constituindo, assim, possível disseminador de leptospira no rebanho. Outros sorovares reagentes, mas de baixa frequência, foram: Bratislava, pomona, pyrogenes e grippotyphosa.

Tabela 1. Distribuição dos sorovares de *L. interrogans* em 15 vacas girolandas e um touro, Buriti dos Lopes, Piauí.

Sorovares	Nº de animais reagentes/% de reagentes
Hardjo (hardjoprajitno)	9 (53,33%)
hardjo (hardjobovis)	1 (6,67%)
wolffi	1 (6,67%)
shermani	1 (6,67%)
co-aglutinações	4 (26,66%)
Total	16 (100%)

Referências Bibliográficas

- Bolin & Alt Bolin, C.A.; ALT, D.P. Clinical Signs, diagnosis, and prevention of bovine leptospirosis. **Bov. Pract.**, v. 33, n.1, p. 50-55, 1999.
- Ellis, W.A. Leptospirosis as a cause of reproductive failure. **Vet. Clin. Nth. Amer.: Food animal practice**, v. 10, n.3, p. 463- 478, 1994.
- Levett, P.N. **Leptospirosis. Clin. Microbiol. Reviews**, v. 14, n. 2, p. 296-326, 2001.

Palavras-chave: leptospirose, abortamento, mastite.

Keywords: leptospirosis, abortion, mastitis.



Grupos genéticos e a sua susceptibilidade à Brucelose Bovina

Susceptibility of Bovine Brucellosis between genetic groups

R.M.P. Oliveira¹, F.M. Tostes¹, V.L.T. Jesus¹, P.A.M. Alves²

¹Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro/ Instituto de Zootecnia/ DRAA-Seropédica/ RJ

²PESAGRO/ Seropédica – Rio de Janeiro

E-mail: frmedvet@yahoo.com.br

Introdução

A brucelose bovina é uma doença infecto-contagiosa de evolução crônica, causada pela *Brucella abortus* (*B. abortus*) (NIELSEN & DUNCAN, 1990). Em bovinos é endêmica em todo o território nacional e há heterogeneidade entre as regiões quanto à sua frequência (PAULIN & FERREIRA NETO, 2002). No estudo sobre a relação da susceptibilidade entre os grupos genéticos há citação de Morris (2006), que afirma ser *Bos taurus*, mais susceptível à brucelose. Segundo esta afirmação, o objetivo deste trabalho foi avaliar a susceptibilidade dos grupos genéticos da espécie bovina relacionado com a infecção da brucelose, em dados de demanda laboratorial do Estado do Rio de Janeiro.

Material e Métodos

Foi montado um banco de dados, utilizando o programa EPI INFO 2002 (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2002), constituído dos registros de exames sorológicos para Brucelose Bovina, realizados no período de 1958 a 1997, por demanda laboratorial, do Laboratório de Patologia da Reprodução, Projeto Sanidade Animal do Convênio EMBRAPA/ UFRRJ, provenientes de exames em animais de propriedades leiteiras situadas no Estado do Rio de Janeiro. Para análise da susceptibilidade dos grupos genéticos a brucelose foram avaliadas as variáveis grupo genético; sexo e resultado sorológico do teste Soroaglutinação Rápida em Placa (SRA), com antígeno de Hudlleson, utilizado no período de 1958 a 1997. Os resultados foram analisados estatisticamente pelo teste do qui-quadrado e Fisher exato quando recomendado, e feita a associação da variável explicada (prevalência de Brucelose) e as variáveis explicativas (sexo e grupo genético), para a susceptibilidade pesquisada.

Resultados e Discussão

Foram analisados dados de 11.290 bovinos examinados, dos quais 561 (5,0%) com resultado positivo para Brucelose, correspondendo a 22 (3,9%) touros e 539 (96,1%) fêmeas. Feita análise quanto ao sexo, observou-se haver grande significância entre os sexos por grupos genéticos ($p < 0,0001$). Não havendo diferença entre os machos, mas foi detectada significância entre as fêmeas do grupo genético *Bos taurus* e mestiças, fato este explicado por se tratar de animais de aptidão leiteira, e sempre entre os cruzamentos há certa predominância de touros europeus, fato este constatado na tabela 1.

Tabela 1: Resultados sorológicos para Brucelose Bovina, associados aos grupos genéticos e sexo.

Grupos genéticos	Resultados sorológicos para Brucelose Bovina					
	Machos			Fêmeas		
	pos	neg	total	pos	neg	total
<i>Bos taurus</i>	9	590	599	93	2405	2498
<i>Bos indicus</i>	10	324	334	14	326	340
Mestiços	3	125	128	432	6959	7391
total	22	1039	1061	539	9690	10229

Referências Bibliográficas

- Morris, C.A. *A review of genetic resistance to disease in Bos Taurus cattle*. The Veterinary Journal, in press, 2006.
Nielsen, K. & Duncan, R. *Animal brucellosis*. Boca Raton: CRC Press, 1990.
Paulin, L.M. & Ferreira Neto, J.S. A Experiência Brasileira no Combate à Brucelose Bovina. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, v. 69, n.2, p.105-112, abr./jun., 2002.

Palavras-chave: Brucelose, sexo, grupo genético, bovinos.

Keywords: Brucellosis, sex, genetic groups, bovine.



Criopreservação e viabilidade de *Tritrichomonas foetus* em diferentes diluidores e crioprotetores

Cryopreservation and Tritrichomonas foetus viability in different extenders and cryoprotectants

B.P. Carvalho¹, R.G. Pereira¹, M.J.P. Gomes², J.E. Trés¹, V.L.T. Jesus¹

¹ Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro/Instituto de Zootecnia/DRAA – Seropédica/RJ

² Universidade Federal do Rio Grande do Sul, LABACVET/Porto Alegre/RS

E-mail: penarural@yahoo.com.br

Introdução

Tritrichomonas foetus é um protozoário flagelado, piriforme, de vida estritamente parasitária cuja transmissão se ocorre pelo coito ou pelo uso de material contaminado utilizado em inseminação artificial e exames ginecológicos (FAO, 2007), levando em consideração esta afirmativa, este experimento objetivou avaliar *T. foetus* criopreservado e a sua viabilidade nos diluidores e crioprotetores utilizados rotineiramente para o congelamento do sêmen bovino.

Material e Métodos

Como parte experimental foi utilizada o mesmo protocolo rotineiramente preconizado para o congelamento de sêmen bovino no laboratório do Setor de Reprodução Animal/DRAA/IZ, proposto por Garcia, 1976, com o uso dos diluidores Tris-gema e Citrato-gema e os crioprotetores Glicerol e Etilenoglicol. Foram realizados dois procedimentos baseados nos crioprotetores e diluidores, primeiro grupo: 6,4 % de Glicerol e o segundo grupo: 6,4 % de Etilenoglicol, visando estabelecer quais dos dois crioprotetores permitirão a melhor conservação das estruturas morfológicas do protozoário. Para tal, foi utilizada a cultura RS 04/06 de *T. foetus*, que, após feita sua concentração em câmara hematimétrica, foi diluída e, ao final do protocolo, envasadas em palhetas de 0,5 ml. Após o congelamento as palhetas foram descongeladas por 30 segundos em banho-maria a 37°C e inoculadas em meio de cultivo Diamond, mantidas a 35°C ± 2°C. Após iniciou-se a observação do crescimento da amostra, através da microscopia óptica, nas objetivas de 10 e 40 x.

Resultados e Discussão

Quanto à avaliação microscópica pós-descongelamento não foi observado nenhum protozoário com motilidade após 24 horas de incubação, em ambos crioprotetores e diluidores, começando a ser visualizado um movimento progressivo do protozoário sete dias após o descongelamento, com os crioprotetores Etilenoglicol e Glicerol, e no diluidor Tris-gema. Não foi constatado nenhum crescimento do protozoário com o diluidor Citrato-gema nos crioprotetores testados. Quanto à viabilidade pós-descongelamento de *T. foetus* no diluidor Tris-gema e os crioprotetores testados, constatou-se uma sobrevivência do protozoário ao meio de até 30 dias pós-descongelamento, sem qualquer repique do meio de cultivo. Tais resultados ressaltam a necessidade de um controle sanitário de todos os reprodutores submetidos ao processo de congelamento de sêmen, visto que, se há a sobrevivência do *T. foetus* a este processo, no momento de utilizar um sêmen contaminado para a inseminação artificial, estará sendo veiculado o protozoário, e como consequência poderá ocorrer repetição de cios, levando a infertilidade do rebanho.

Referências Bibliográficas

Organización de las Naciones Unidas para la agricultura y la Alimentación- FAO. Infertility in cows. Disponível em: <http://www.fao.org/wairdocs>. Acessado em: 05/02/2007.

Garcia, O. S. Diluição e congelamento de sêmen em paillets. In: Simpósio Nacional de Reprodução Animal, 2, Belo Horizonte, Minas Gerais, Anais... Belo Horizonte, Minas Gerais, Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, p. 236-241, 1976.

Palavras-chave: criopreservação, diluidores, *Tritrichomonas foetus*.

Keywords: Cryopreservation, extender, *Tritrichomonas foetus*.



Deteção por nested PCR de CAEV no sêmen de reprodutores caprinos no estado de São Paulo, Brasil

Detection for nested PCR of CAEV in the semen of goat reproducers in the state of São Paulo, Brazil

L. Gregory, M. Angelini, H. Rizzo, M.C.C.H. Lara, M.Y. Hasegawa, J.N.M. Rodrigues, E. Durigon, E.B.S. Meira Jr, R. Castro

Departamento de Clínica Médica FMVZ-USP
E-mail: lgregory@usp.br

Introdução

Lentivírus são vírus complexos, não oncogênicos, pertencentes a família Retroviridae, que infectam várias espécies de mamíferos. A transmissão venérea ainda não foi confirmada, apesar da detecção de RNA viral no sêmen de carneiros naturalmente infectados (Andrioli et al. 2006). Porém a comprovação da presença do lentivírus no sêmen reforça a possibilidade da transmissão do LVC pela via sexual. Rowe et al. (1992) observaram maiores taxas de soro-conversão em fêmeas cobertas por machos soropositivos do que naquelas cobertas por machos negativos. Andrioli et al. (2006) concluíram que a transmissão do LVC pelo sêmen de reprodutores caprinos é potencializada pela presença de inflamações testiculares pois os lentivírus infectam monócitos e macrófagos (Nash et al., 1995), e a presença de inflamações poderia desencadear o maior fluxo destas células, resultando em aumento da carga viral no sêmen. O objetivo do trabalho foi detectar através da técnica de PCR a presença de partículas virais de CAEV no sêmen de reprodutores caprinos no estado de São Paulo.

Material e Métodos

Foram colhidos para exame microbiológico 14 amostras de sêmen caprino para detecção da presença do vírus. O sêmen foi colhido através do método de eletroejaculação. Para a realização da técnica de PCR o DNA proviral do sêmen foi extraído pelo método fenol/clorofórmio/álcool isoamil. Foram utilizados primers gerados especificamente para um fragmento conservado do gene *pol*, situado entre as posições 2198 e 2650. Para a amplificação foi utilizado inicialmente 94°C por 5 minutos e 35 ciclos de desnaturação a 94°C por 1 minuto, anelamento a 60°C por 1 minuto e extensão a 72°C por 1 minuto. Ao final, 72°C por 8 minutos e 4°C até a colheita das amostras, que foram analisadas por eletroforese em gel de agarose 1,5% com tampão TBE, coradas com brometo de etídeo e visualizadas em luz ultravioleta.

Resultados e Discussão

Das 14 amostras 4 (28,6%) apresentaram a detecção do vírus provando que há a presença de partículas virais no sêmen de caprinos reprodutores no estado de São Paulo. De acordo com a literatura consultada há indícios que o coito pode ser uma possível via de transmissão da CAE. No Brasil são raros os trabalhos sobre este tema. Conclui-se que devido ao risco de transmissão da CAE pelo sêmen e a sua detecção em machos de rebanhos brasileiros pesquisas que avaliem a sua possível transmissão devem ser realizadas para prevenir os órgãos competentes a realizar medidas de controle futuras.

Referências Bibliográficas

- Andrioli, A.; Gouveia, A.M.G.; Martins, A.; Pinheiro, R.R.; Santos, D.O.** Fatores de risco na transmissão do lentivírus caprino pelo sêmen.. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília - DF, v. 41, n. 8, p. 1313-1319, 2006.
- Nash, J.W.; Hanson, L.A.; Coats, K.C.** Bovine immunodeficiency virus in stud bull semen. American Journal of Veterinary Research, v.56, p.760-763, 1995.
- Rowe, J.D.; East, N.E.; Thurmond, M.C.; Franti, C.E.; Pedersen, N.C.** Cohort study of natural transmission and two methods for control of caprine arthritis-encephalitis virus infection in goats on a California dairy. American Journal of Veterinary Research, v.53, p.2386-2395, 1992.

Palavras-chave: Caprino, Artrite encefalite caprina, Lentivirus, Sêmen, Nested PCR.

Keywords: Goat, Caprine arthritis encephalitis, Lentivirus, Semen, Nested PCR .



Seroprevalência *Leptospira* sp en equinos en la región del medio sinú, Córdoba, Colombia - 2001

Seroprevalence of Leptospira sp in horses in medio sinú region, Córdoba, Colombia – 2001

J. Perez Osorio¹, A. Franco², A.S. Carmo¹, A.P. Lage¹, M. Henry¹

1. Bolsista da CAPES/CNPq - IEL Nacional – Brasil

2. Universidad de Córdoba, Montería – Córdoba – Colombia

3. Laboratório de Reprodução Animal, Escola de Veterinária - Universidade Federal de Minas Gerais

4. Médico Veterinário, Doutor, Professor, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Universidade Federal de Minas Gerais, (UFMG), Belo Horizonte, MG
E-mail: jair_ufmg@hotmail.com

Introducción

La leptospirosis es una enfermedad infectocontagiosa febril aguda o crónica, de distribución cosmopolita, causada por una espiroqueta del género *Leptospira*, de comportamiento endémico que afecta especies silvestres, domésticas y al hombre; cursa en animales domésticos con fiebre, inapetencia, aborto, anemia, ictericia y hematuria. En el hombre la enfermedad se caracteriza por fiebre, mialgias, conjuntivitis, náuseas, vómito, diarrea y constipación. Debido a la escasa información existente sobre la leptospirosis equina en la Costa Atlántica de Colombia, se llevó a cabo el primer estudio de esta patología infecciosa en el Departamento de Córdoba. El objetivo del estudio fue el de determinar la presencia de anticuerpos contra *Leptospira* sp en poblaciones equinas en la región del Medio Sinú (Córdoba).

Materiales y Métodos

Se realizó entre abril y diciembre del año 2001 un estudio de corte transversal, que comprendió los municipios de montería, cereté, ciénaga de oro, san Pelayo y san Carlos. Se analizaron 150 especímenes de suero equino que fueron colectados de 6 animales por cada propiedad y fueron seleccionadas 5 propiedades en cada uno de los municipios. Para el análisis de las muestras fue realizado el test de micro aglutinación en placa empleándose los siguientes serovares de *leptospira* sp: Bratislava, Canicola, Grippotyphosa, Hardjo, Icterohaemorrhagiae y Pomona.

Resultados y discussion

Se encontraron 83 animales seropositivos, lo que significó una prevalencia del 55,3%, con títulos que oscilaron entre 1:50 a 1:400; no se detectaron manifestaciones clínicas en los animales que presentaron estos títulos. La frecuencia de aparición, de acuerdo a la reactividad positiva, a los diferentes serovares de *Leptospira* sp, correspondió a: Bratislava 38,0%, Canicola 11,3%, Grippotyphosa 17,3%, Hardjo 36,7%, Icterohaemorrhagiae 12,7% e Pomona 19,3%. El estudio seroepidemiológico permite concluir que existe una alta prevalencia de leptospirosis equina y la presencia de anticuerpos a los seis serovares de *Leptospira* en los municipios de la región del Medio Sinú (Córdoba).

Referencias Bibliográficas

- Bennett S, Woods T, Liyanage WM, Smith DL. 1991. A simplified general method for cluster surveys of health in developing countries. *World Health Statistics Quarterly*, 44:98-106.
Cole JR, Sulzer CR, Pursell AR. 1973. Improved Microtechnique for the leptospiral microscopic agglutination test. *Appl. Microbiol* 25:976-980.

Palavras-chave: Leptospirosis, Equino, Colômbia.

Keywords: Leptospirosis, Horse, Colômbia.



Avaliação do ganho de peso de novilhas ovariectomizadas por técnica transvaginal

(*Analysis of the weight profit of heifers castrated by transvaginal technique*)

C.F. Bueno Jr¹, C. Meirelles², L.E. Kozicki³, R.R. Weiss⁴, M.S. Segui⁵

¹Acadêmico Medicina Veterinária PUCPR; ^{2,3,4}Curso Pós Graduação UFPR; ⁵Medicina Veterinária PUCPR¹

E-mail: cfbuenojunior@uol.com.br, ciromeirelles@bol.com.br, kozicki@ufpr.br, rrweiss@bol.com.br, msegui@uol.com.br

Introdução

Um aspecto discutido na produção de bovinos é o menor rendimento de carcaça das fêmeas não-castradas em relação aos machos. Por esse motivo essa categoria animal tem sido discriminada pelas indústrias frigoríficas em virtude do menor retorno financeiro (Crouse *et al.*, 1989; Zobell *et al.*, 1993). Segundo Habermehl (1993) fêmeas castradas são mais valorizadas, pois desenvolvem consideravelmente a porção anterior do corpo, com bom aspecto fenotípico. Em recente publicação de Silval *et al.* (2006), as fêmeas ovariectomizadas tiveram ganhos de rendimento de carcaça ligeiramente superior ao de novilhas não-ovariectomizadas, porém o ganho de peso não apresentou diferença. Para ZoBell *et al.* (1993), um incremento no ganho de peso diário é possível somente se as novilhas ovariectomizadas forem submetidas a tratamentos hormonais. O objetivo desse trabalho é avaliar o ganho de peso de novilhas ovariectomizadas bem como avaliar a técnica transvaginal mediante utilização de anel de látex no pedículo ovariano.

Material e Métodos

Foram selecionadas 62 novilhas, $\frac{3}{4}$ red angus e $\frac{1}{4}$ nelore entre 14 e 16 meses de uma fazenda localizada em Palmeira (PR). Todas as fêmeas foram submetidas a um regime alimentar à base de silagem de milho *ad libitum*, 1300 g de ração peletizada de engorda, 500 g de caroço de algodão e sal mineral *ad libitum*, em confinamento por 56 dias antes de serem abatidas. Dos 62 animais pesquisados, 23 foram ovariectomizados bilateralmente (Grupo Tratado) e os 39 animais restantes formaram o grupo controle. Todos os animais foram pesados nos dias 0, 4, 24, 47 e 56 após o procedimento da ovariectomia. Para o procedimento foi utilizada a via transvaginal com aplicação de um anel de látex no pedículo ovariano das novilhas. Tratamento estatístico segundo o teste T de Student.

Resultados e Discussão

O ganho de peso médio diário (GPMD) do grupo controle foi de 1,332 Kg contra 1,118 Kg do grupo ovariectomizado. A maior variação entre as médias ocorreu na pesagem do dia 4, na qual o grupo de animais ovariectomizados teve um GPMD negativo de -0,141 Kg, ao passo que o grupo controle apresentou crescimento médio de 3,388 Kg. Nas pesagens dos dias 24 e 47 o grupo tratado acusou média superior, porém a média final (dia 56^o) foi estatisticamente favorável ao grupo controle ($P < 0,05$). Este fato provavelmente está embasado em função das manifestações de dor que as novilhas tratadas apresentaram, em resposta a técnica e conseqüente diminuição da ingestão de alimentos, com posterior recuperação do peso, porém não suficiente para se igualar ao grupo controle. Outro fato a ser realçado é o pouco tempo (56 dias), ocorrido entre o tratamento e o abate dos animais. A técnica utilizada mostrou-se eficaz no processo da ovariectomia. Na parte econômica, o grupo tratado não teve ganho de peso pela ovariectomia, mas também não teve prejuízo econômico.

Conclusão

A utilização do anel de látex mostrou-se uma técnica de fácil e rápida execução para ovariectomia em bovinos, porém não foi observado ganho de peso. Além deste aspecto, não se recomenda a ovariectomia em novilhas, também em função da dificuldade de se introduzir a mão via transvaginal.

Referências bibliográficas

- Silval LAF, Pales AP, Fioravanti MCS, Pádua JT, Silva OC, Santos KJG. Anel de látex aplicado no pedículo ovariano de bezerras Nelore. *Acta Sci. Anim. Sci.*, v. 28, n. 1, p. 97-103, 2006.
- Zobell RD, Goonewardene LA, Ziegler CBK. The effects of spaying and anabolic implants on average daily weight gain of heifers on pasture. *Can. Vet. J.*, v. 34, p. 727-730, 1993.
- Crouse JD. Comparisons of *Bos indicus* and *Bos Taurus* inheritance on carcass beef characteristics and meat palatability. *J. Anim. Sci.*, Savoy, v. 67, p. 2661, 1989.
- Habermehl NL. Heifer ovariectomy using the Willis spay instrument: technique, morbidity and mortality. *Can Vet J.*, v.34, p.664-667, 1993.

Palavras-chave: Castração; novilhas; peso.

Keywords: Spayed Heifers; weight.



Riscos reprodutivos pelos níveis de metais pesados em suplementos minerais para bovinos

Reproductive risks for the heavy metals levels in mineral supplements for cattle

N. Parizotto Jr, P.H.S. Vieira, W.S. Marçal

Universidade Estadual de Londrina
E-mail: nelsonjunior@yahoo.com.br

Introdução

Os metais pesados, tais como chumbo e cádmio, quando presentes nos suplementos minerais dos animais, podem modificar funções orgânicas importantes, acarretando significativas alterações no sistema reprodutivo (McDowell, 1985; Maracek et al., 1998). O presente trabalho quantificou estes elementos químicos, considerados de maior risco a saúde dos bovinos (Brito, 1993).

Material e Métodos

Foram colhidas 68 amostras diretamente do estoque disponível em 36 estabelecimentos comerciais no Estado do Paraná. Os níveis de chumbo e cádmio foram determinados pela técnica de espectrofotometria de absorção atômica por plasma acoplado indutivamente. Este procedimento baseia-se no manual da American Society for Testing and Materials (1980).

Resultados e Discussão

Os níveis de chumbo inorgânico, nas 68 amostras, variaram de 2 ppm a 625 ppm, contudo 43 delas apresentaram valores do elemento acima do limite máximo aceitável, que é de 30 ppm, referenciado pela Association American of Feed Control Incorporated (2001). Os níveis de cádmio oscilaram de 2 ppm a 57 ppm, sendo que todas as amostras apresentavam valores superiores ao limite máximo permitido, que é de 0,5 ppm. É sabido que aspectos subclínicos, como anestro e interferências no ciclo reprodutivo, podem estar relacionados à deposição desses metais pesados no muco cervical e nos ovários (Maracek, 1998; Marçal et al., 1999). O aumento no intervalo entre partos e abortamentos podem ocorrer em fêmeas que consomem sal mineral com níveis de chumbo e cádmio considerados tóxicos (Stuart e Oehme, 1982). Nos machos, esse elementos podem causar disfunções testiculares como degenerações, proliferações neoplásicas e necrose (Marçal, 1999). Os resultados demonstram ser necessário o monitoramento junto aos fabricantes, pois algumas misturas minerais podem ser eminentemente perigosas aos ruminantes.

Referências Bibliográficas

- American Society for Testing and Materials.** Annual book of ASTM Standards. Philadelphia, 1980.
- Association of American Feed Control Officials Incorporated.** Official guidelines for contaminant levels permitted in mineral feed ingredients. Indiana, 2001.
- Brito J.** Fosfato bicálcico feed grade. Cajati: Serrana, 1993.
- Maracek I, Lazar L, Dietzova I, Korenekova B, Choma J, David V.** Residues of heavy metals in cow reproductive organs and morbidity of cattle in the fallout region of a metallurgical plant. *Vet Med*, v.43, n.9, p.283-287, 1998.
- Marçal WS, Gaste L, Liboni M, Pardo PE, Nascimento MR, Hisasi CS.** Lead concentration in mineral salt mixtures used in beef cattle food supplementation in Brazil. *Vet. Arhiv.*, v.69, p.349-355, 1999.
- McDowell LR.** Nutrition of grazing ruminants in warm climates. Orlando: Academic, 1985.
- Stuart LD, Oehme FV.** Environmental factors bovine and porcine abortion. *Vet. Hum. Toxicol.*, v.24, p.435- 441, 1982.

Palavras-chave: Chumbo, cádmio, suplementos minerais, reprodução, bovinos.

Keywords: Lead, cadmium, mineral supplements, reproductive, cattle.



Teores de chumbo em suplementos minerais como triagem para estudos dos índices reprodutivos

Lead level in mineral supplements as selection for studies of the reproductive index

P.H.S. Vieira, N. Parizotto Junior, W.S. Marçal

Universidade Estadual de Londrina
E-mail: pedrohsvieira@yahoo.com.br

Introdução

Os metais pesados, em particular o chumbo, quando presentes em suplementos alimentares, podem causar alterações orgânicas importantes nos bovinos (Maletto, 1986), refletindo negativamente na esfera reprodutiva (McDowell, 1985; Maracek et al., 1998). A proposta deste estudo foi avaliar a presença de contaminantes nos suplementos minerais comercializados no estado do Mato Grosso do Sul.

Material e Métodos

As amostras de sal mineral foram colhidas diretamente do estoque disponível em estabelecimentos comerciais (08 amostras) e de algumas fazendas colaboradoras (11 amostras). Os níveis de chumbo foram determinados pela técnica de espectrofotometria de absorção atômica por plasma acoplado indutivamente. Este procedimento baseia-se no manual da American Society for Testing and Materials (1980). A análise estatística foi feita com o SAS/BASIC Program (SAS Procedures Guide, 1996).

Resultados e Discussão

Os valores de chumbo inorgânico variaram de 1,7 ppm a 460 ppm, sendo que somente 8 das 19 amostras apresentaram níveis inferiores a 30 ppm, limite máximo aceitável pela National Research Council (1980). Machos que consomem misturas minerais com níveis de chumbo considerados tóxicos podem desenvolver alterações reprodutivas como degeneração testicular (Marçal, 1999). Fêmeas, devido ao acúmulo do elemento nos ovários, podem apresentar alterações no ciclo estral, anestro e aumento no intervalo entre partos (McDowell, 1985; Maracek et al., 1998). Os resultados demonstram ser necessário o monitoramento junto aos fabricantes, pois algumas misturas minerais podem ser eminentemente perigosas aos ruminantes.

Referências Bibliográficas

- American Society for Testing and Materials.** Annual book of ASTM Standards. Philadelphia, 1980. **McDowell LR.** Nutrition of grazing ruminants in warm climates. Orlando: Academic, 1985.
- Marçal WS, Gaste L, Liboni M, Pardo PE, Nascimento MR, Hisasi CS.** Lead concentration in mineral salt mixtures used in beef cattle food supplementation in Brazil. *Vet. Arh.*, v.69, p.349-355, 1999.
- Maracek I, Lazar L, Dietzova I, Korenekova B, Choma J, David V.** Residues of heavy metals in cow reproductive organs and morbidity of cattle in the fallout region of a metallurgical plant. *Vet Med*, v.43, n.9, p.283-287, 1998.
- Maletto S.** Correlação da nutrição mineral e a sanidade. In: Seminário Sobre Nutrição Mineral, 1986, São Paulo. *Anais...* São Paulo: Instituto Brasileiro do Fósforo, 1986. p.38.
- National Research Council.** Subcommittee on mineral toxicity in animals. Washington: National Academy of Science, 1980, p.256- 276.
- SAS.** Analyses System. Cary: SAS Institute, 1996. p. 705.

Palavras-chave: Chumbo, suplementos minerais, reprodução, bovinos.

Keywords: Lead, mineral supplements, reproductive, cattle.



Gestão de pessoal – visão dos técnicos envolvidos em gerência de programas de Inseminação artificial em bovinos - Resultados preliminares

Staff management – the view of technicians involved in supervision of cattle artificial insemination programs – preliminary results

L.S. Russi¹, E.V. Costa-e-Silva², L.S. Rosa³, C.E.S.N. Zúccari⁴

Departamento de Medicina Veterinária – FAMEZ/UFMS. Campo Grande – MS. ¹Bolsista CAPES, Programa de Mestrado em Ciência Animal, russi@nin.ufms.br, ²Orientadora, Dep. Medicina Veterinária, FAMEZ/UFMS licsilva@nin.ufms.br, ³Acadêmica em Medicina Veterinária, ⁴Dep. Zootecnia, FAMEZ/UFMS. Trabalho financiado pela FUNDECT.

Introdução

Embora os benefícios da gestão de recursos humanos já sejam bem conhecidos, a seleção de inseminadores atualmente não segue critérios bem definidos, o que pode comprometer o processo produtivo. O objetivo deste estudo foi caracterizar alguns aspectos associados à seleção e gerência de pessoal envolvido em programas de Inseminação artificial (IA) de bovinos de corte.

Materiais e métodos

Foram realizadas entrevistas com 15 profissionais envolvidos na seleção e treinamento de inseminadores, no Estado de Mato Grosso do Sul. O roteiro incluiu questões sobre: profissão, tempo de formação (tF), tempo de trabalho com IA (tIA), número de inseminadores/fazenda (INS), número de vacas trabalhadas por lote (VAC), número de cursos realizados por ano (CR), gestão de recursos humanos (GRH), critérios utilizados na seleção do inseminador (SEL), fatores supervisionados no processo de inseminação (SUP), motivos de demissão de inseminadores (DEM), fatores que podem interferir com o seu desempenho (DS) e incentivo a reciclagens (RCL). O tFR médio dos entrevistados foi $9,53 \pm 4,98$ anos e o tIA, $7,73 \pm 4,60$ anos. Em média eram utilizados $1,4 \pm 0,44$ INS por propriedade, trabalhadas $254 \pm 79,31$ VAC por lote, e freqüentados $1,8 \pm 0,65$ cursos/ano. Os dados foram analisados por freqüência das respostas, o tF foi agrupado em classes de (CtF). Foram realizadas correlações de Pearson e análises de variância considerando o efeito fixo de CtF sobre as variáveis dependentes: tF, tIA, INS, VAC, CR.

Resultados e Discussão

Foram encontradas correlações entre tF e CtF ($r=0,98$, $P<0,0001$), tIA e CtF ($r=0,93$, $P<0,0001$), VAC e CtF ($r=0,74$, $P=0,0017$), VAC e tIA ($r=0,79$, $P=0,0004$), e entre CR e CtF ($r=-0,78$, $P=0,0007$). Nas questões referentes à GRH, 80% dos entrevistados afirmaram ter dificuldades em definir o conceito, embora 67% utilizem algum tipo de técnica de gestão. Dentre estes, 60% associaram o conceito à orientação e/ou acompanhamento do trabalho, 33% à atualização/qualificação de mão-de-obra, gerenciamento de equipes e respeito à pessoa/cargo, 27% à melhoria nas condições de trabalho dos funcionários e apenas 13% acreditam ser papel da GRH trabalhar as habilidades de cada um para melhor aproveitar os funcionários dentro da propriedade. Com relação à SEL, os principais critérios foram: índices (80%), conhecimento técnico (80%), escolaridade (27%), experiência (20%), bom relacionamento interpessoal (20%), responsabilidade (13%), vontade, capacidade de observação e espírito de liderança (7%). Durante SUP observa-se: descongelamento do sêmen (100%), anotação dos dados (80%), higiene (70%) e rapidez (53%), enquanto que o manejo dos animais durante o procedimento só foi citado por 27% deles. Os principais motivos de DEM foram: problemas de relacionamento interpessoal (67%), seguidos por falta de higiene e de habilidade (27%), baixos índices e falta de responsabilidade (33%). Foram apontados como DS: problemas técnicos e na fazenda (60%), satisfação com a empresa (27%), relacionamento interpessoal (20%), escolaridade e vícios (13%). Com relação à RCL, embora 100% dos entrevistados afirmem estimular seus funcionários a fazer cursos de atualização, 73% não disponibilizam cursos nas propriedades onde atuam. Os resultados sugerem que os entrevistados com maior tF e tIA indicam um maior VAC e realizam menos CR, o que pode ser sugestivo de uma menor atualização por parte destes. Além disso, grande parte apresenta dificuldades em definir conceitos de GRH, que foram confundidos com questões ligadas à supervisão do trabalho. Os processos de SEL levaram em consideração mais fatores técnicos, embora poucos incluam fatores humanos como DS, eles foram apontados como principal motivo de DEM. Também houve pouca associação do manejo dos animais como fator de SUP. Outra abordagem interessante se refere aos cursos, que embora estimulados, não são oferecidos dentro das propriedades, o que pode dificultar a atualização dos inseminadores.

Palavras-chave: gado de corte, inseminadores, manejo reprodutivo, recursos humanos.

Keywords: beef cattle, inseminators, reproductive management, human resources.



Introdução de estação de monta em sistema de criação de gado de corte extensiva no Pantanal Matogrossense como uma ferramenta para incremento da produtividade

Introduction of breeding season in beef cattle extensive production system in Pantanal Matogrossense as a tool for increasing productivity

D.V. Alkmin¹, U.G.P. Abreu², H.M. Herrera²

¹Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro; ²Embrapa Pantanal-CPAP
E-mail: diego_vet@hotmail.com

Introdução

Nos rebanhos de cria de gado de corte, a avaliação da estrutura etária das vacas, determina a melhor idade de realizar o descarte. A pecuária de corte no Pantanal é desenvolvida em criatórios naturais extensivos com as características de manejo peculiares, com concentração dos produtores na atividade de cria, havendo recria apenas das novilhas de reposição. As taxas de natalidade e desmama encontram-se em torno de 45-60 % e 53-50 %, respectivamente. Os principais critérios para descarte de vacas são idade e habilidade materna. O presente trabalho teve como objetivo criar um modelo de estratégia de descarte das matrizes baseado na introdução da estação de monta (EM).

Material e Métodos

O presente trabalho foi desenvolvido em fazenda no Pantanal sul Mato-grossense. Durante o primeiro ano foi realizado um levantamento das idades das matrizes bem como da época de nascimento dos bezerros. As informações foram tabuladas e analisadas no sistema de análise estatístico SAS (Stokes et al., 2000). A partir desses resultados obtivemos um histograma informando tanto a época de maior nascimento de bezerros como a idade das matrizes no rebanho. Foi então implantado a EM, em um primeiro ano com 6 meses, e no segundo ano de 4 meses (outubro - janeiro). O descarte de matrizes obedeceu então a critérios de produtividade, fêmeas que passaram vazias ao término da EM e vacas com mais de 14 anos foram descartadas. O modelo simulou a expectativa de vida útil e idade média de descarte em rebanho comercial de cria, utilizando cadeia de Markov (Azzam, et al., 1990).

Resultados e Discussão

No cenário simulado a partir dos descartes devido à implantação de EM foi observado que as idades médias das matrizes no rebanho e de descarte diminuíram. A idade média do rebanho e a idade média de descarte para todas as invernações observadas foram de 8,5 e 13,21 anos, respectivamente, sendo menores que a preconizada por Abreu, et al., (2006) para matrizes no Pantanal. O descarte de vacas e novilhas devido principalmente a aspectos reprodutivos, é um ponto importante para a eficiência econômica da atividade de cria, conseqüentemente a estrutura etária do rebanho de cria em conjunto com o desempenho individual de cada matriz devem ser manejados de forma harmônica visando a sustentabilidade econômica da atividade.

Referências bibliográficas

Abreu UGP, Lopes PS, Torres RA. Avaliação da introdução de tecnologias no sistema de produção de gado de corte no Pantanal, desempenho e descarte de matrizes. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 35, n. 6, p. 2496-2503, 2006.
Azzam SM, Azzam AM, Nielsen MK, Kinder JE. Markov chains as shortcut method to estimate age distributions in herds of beef cattle under different culling strategies. *Journal of Animal Science*, v. 68, p. 5-14. 1990.
Stokes, M.E., Davis, C.S., Koch, G.G., 2000. *Categorical Data Analysis Using SAS System*. 2th ed., Cary, NC, SAS Institute Inc.

Palavras-chave: estação de monta, criação extensiva, gado de corte, descarte, Pantanal.

Keywords: breeding season, extensive production, beef cattle, culling, Pantanal.



Desenvolvimento ponderal e fertilidade de fêmeas resultantes do cruzamento das raças Chianina (sêmen) e Nelore (vacas)

Ponderal development and fertility in the heifers resulted of the Chianina (semen) and Nelore (cows) crossbreed

F.J. Moraes Jr¹, F.H.F. Bacelar¹, J.A.T. Souza², R. Martins Filho², N.A. Macedo², M.B. Salviano³

¹Médico Veterinário Autônomo; ²Prof. Adjunto/UFPI; ³Acadêmico de Medicina Veterinária/UFPI.

E-mail: adalmir@ufpi.br

Introdução

A raça Chianina é considerada uma das mais importantes raças para produção de carne na Itália. No Brasil, sua introdução deu-se pelo estado de São Paulo, de onde difundiu-se para outras regiões do país até chegar ao clima quente das regiões Norte e Nordeste (Matarazzo, 1988). Sua utilização como raça pura ou em cruzamentos industriais com raças indianas ou européias, de cedo despertou o interesse de criadores e pesquisadores (Vilares 1975). As características reprodutivas, tanto da raça como de fêmeas cruzadas ainda são pouco estudadas (Azevedo et al., 2006). Atualmente, duas típicas linhagens de Chianina estão caracterizadas: uma, alta, pernalta, membros robustos, adaptada a pastagens pobres (Tipo A) e outra, moderna, mais baixa, carnuda, adaptada à criação intensiva (Tipo B), podendo estas particularidades ser aproveitadas em programas de cruzamentos (Martini et al, 1996), dado às poucas informações da raça na região Meio-Norte do país, objetivou-se avaliar o desenvolvimento ponderal e algumas características reprodutivas de fêmeas resultantes do cruzamento Chianina x Nelore.

Material e Métodos

O estudo foi realizado na fazenda Amazônia, município de Bom Jardim, região leste do estado do Maranhão. Foram selecionadas 206 vacas Nelore, recém-aptadas, com idade média de 6 anos. Todas foram inseminadas após detecção de estro, em curta estação de 32 dias, com sêmen importado, de dois reprodutores Chianina. Das vacas inseminadas, 110 (53,40%) foram com sêmen tipo A (touro Giro) e 96 (46,60%) com sêmen Tipo B (touro Ettore). O diagnóstico de gestação foi feito por palpação retal, 60 após o final da estação. A partir do nascimento o controle do desenvolvimento ponderal foi realizado com pesagens aos 3, 6, 9, 12 e 18 meses de idade, a partir de quando as fêmeas foram monitoradas para estimar as idades ao primeiro estro, inseminação e parição. Para análise dos dados de desenvolvimento utilizou-se o teste “t” e para parâmetros reprodutivos o teste de Qui-Quadrado, ambos a 5%.

Resultados e Discussão

O índice geral de gestação (59,71%) se confirmou com o nascimento de 123 produtos: 62 machos (50,41%) e 61 fêmeas (49,59%). O período médio de gestação foi 290,68±7,76 dias, sendo 287,93±6,83 dias para gestações geradas por Giro e 293,39±7,71 dias para Ettore, com diferença significativa entre os dois tipos ($p>0,05$). Matrizes que geraram machos, filhos de Ettore, o período foi significativamente maior (288,50±6,70 x 293,58±6,91 dias), o mesmo se verificando em relação às matrizes que geraram fêmeas (287,12±7,08 x 293,25±8,34 dias). O peso médio ao nascer, independentemente do touro, foi 38,20±2,88kg, sendo 39,29±2,79kg para machos e 37,10±2,55kg para fêmeas, com significativa diferença os mesmos. Os machos, tanto de Giro como de Ettore diferiram significativamente no peso ao nascer (39,42±2,74 e 39,12±2,90kg), em comparação às fêmeas (36,72±1,65 e 37,36±3,03kg). O peso médio das fêmeas aos 3, 6, 9, 12 e 18 meses foram 134,28±12,01; 162,07±15,11; 196,77±12,38; 274,18±31,57; 290,15±25,51 kg, respectivamente. Aos 16 meses, seis das 61 fêmeas (9,84%) entraram em cio, mas, só foram inseminadas aos 22 meses junto às demais fêmeas contemporâneas. Das 37 (60,65%) que ficarem prenhes, 18 eram filhas de Giro e 19 de Ettore, cujo período de gestação foi de 281,65±5,62 dias, significativamente inferior ao período gestacional das mães (290,68±7,76).

Referências bibliográficas

- Azevedo, D.M.M.R., et al.** Parâmetros genéticos e fenotípicos do desempenho reprodutivo de fêmeas Chianina. R. Brás. Zootec., v.35, p.982-7, 2006 (supl.)
- Martini, et al.** Cruzamento de vacas de raça Nelore com sêmen de touros da raça Chianina de dois diferentes tipos genéticos. Resultados em vida. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 33, 1996, Fortaleza. Anais... Fortaleza: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1976. v.1, p.115-17.
- Matarazzo, G.** La situazione attuale della razza Chianina em Brasile. Rapporto Generale. In: CONGR. INTERNAZ. DELLA RAZZA CHIANINA, 5., 1988, Perugia. *Anais...* Perugia, 1988. p.44-51.
- Vilares, J.B.** Bovino Chianina no trópico. São Paulo: Associação Brasileira dos Criadores de Crianina. 1975. 205p.

Palavras-chave: Bovinos, crescimento, cruzamento, fertilidade.

Keywords: Bovine, increase, crossbreed, fertility.



Puberty in Australian Merino ram lambs submitted to nutritional programming during pregnancy and after birth

Puberdade em cordeiros Merino Australiano submetidos a programa nutricional

L.L. Santiago¹, A.B. Mâncio², E.T. Nogueira³

² Department of Animal Science, University Federal Viçosa, Minas Gerais, Brazil

³ Ajinomoto Biotina Ind. Com. Ltda

E-mail: ¹ s21luciene@hotmail.com

Introduction

Australian Merino sheep presents a poor reproductive performance. The feeding is one of the main responsible factors to advance the puberty. However, the mechanism by which the nutrition influences the secretion of LH has not been well elucidated. It seems to be related to metabolic status, like insulin and leptin concentrations, and these hormones can be a good evidence to appropriate state nutritional of the animals.

Material and Methods

This experiment aimed to evaluate whether the level of nutrition during pregnancy and during pre-pubertal development displayed a relationship between body weight (BW), body condition score (BCS), scrotal circumference (SC) and blood concentrations of insulin (INS) and leptin (LEP), at weaning, 244, 300 and 356 days of age, in male Merino lambs fed with pasture and supplemented during dry season. Puberty was detected using a standardised behavioural test with oestrous ewes. Lambs were considered pubertal if they displayed mounting in two successive weekly tests.

Table 1. Group's feed-intake during pregnancy and pre-puberty

Quality of pasture: mothers*		Quality of pasture (lambs)**	Groups of diet***
low (910 kgDM/ha); n=29 or high (2615 kgDM/ha); n=27	} Split from parturition	Low (1524 kgDM/ha)	Low-low (LL); n=15
		High (1487 kgDM/ha)	Low-high (LH); n=14
		Low (1524 kgDM/ha)	High-low (HL); n=15
		High (1487 kgDM/ha)	High-high (HH); n=12

* Ewes were kept during the last 55 days of pregnancy. During dry weather, pregnant were supplemented with hay and *ad libitum* lupin grain (*Lupinus angustifolius*).

** Ram lambs were kept during 1 year old. During dry weather, LL and HL were supplemented with hay and with 150 g/h/d of lupin grain) and HH and LH, with hay and with 300 g/h/d of lupin grain.

*** During: pregnancy - pre-puberty.

Results and Discussion

Only 62.5% of the all animals displayed puberty before end of this experiment. 71% of LH group, 67 % of HH e HL and 46 % of LL became pubertal animals. There was no difference among treatments in the age to puberty (average = 292 days). Diet during the pregnancy didn't affect the parameters assayed, however diet after the birth was important to all parameters measured at 244, 300 and 356 days of age. There was relationship ($p < 0.05$) between BW and BCS, BW and SC and, BCS and SC to four ages assayed. There was no relationship ($p > 0.05$) between insulin and leptin, these hormones and BCS or SC, but was observed the relationship ($p < 0.05$) between BW and insulin at weaning, 300 and 356 days and, BW and leptin at weaning and 300 days of age. The designed dietary was not enough to get difference among treatments. Long-term effects of fetal programming in offspring can either be amplified or attenuated by the postnatal programming (1).

Reference

(1) Wadell, B.J., Wyrwoll, C. S., Hewitt, D.P., Mark, P. J. Impact of glucocorticoids on fetal-placental growth and the postnatal phenotype. *Endocrine Journal*, v. 52, Suppl., 2005.

Keywords: leptin, insulin, body weigh, body condition score, scrotal circumference.

Palavras-chave: leptina, insulina, peso corporal, escore de condição corporal, circunferência escrotal.



Influência da restrição alimentar no desenvolvimento folicular pós-parto de ovinos

Influence of alimentar restriction in postpartum follicle development in sheep

¹L.S. Silva Jr, ²L.K.Hatamoto-Zervoudakis, ¹P.N.S. Cosentino, ¹D.S. Barros, ¹F.A.P.B Arguello

¹Mestrando PGCA-FAMEV-UFMT ² Docente FAMEV-UFMT

E-mail: jrmedvet@gmail.com

Introdução

Vários trabalhos evidenciam a influencia das modificações nutricionais sobre os parâmetros reprodutivos (Lozano et al., 2003). A retomada do desenvolvimento folicular no pós-parto é extremamente influenciada pelo balanço energético e pela dieta oferecida (Grazul-Bilska et al., 2006). O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da restrição energética e protéica no período pós-parto sobre o desenvolvimento folicular e qualidade oocitária de ovinos.

Material e Métodos

Foram distribuídas aleatoriamente em 3 tratamentos 21 fêmeas. O tratamento controle (GC) recebia dieta de manutenção. O tratamento de restrição calórica e protéica (RC) recebia metade do trato do GC. O tratamento de restrição protéica (RP) recebia 1/3 da proteína bruta do GC. Os ovários foram avaliados semanalmente por ultra-sonografia trans-retal (PIE-MEDICAL 100LC, probe linear de 6-8MHZ) para determinação das dimensões ovarianas e número e diâmetro folicular. As fêmeas foram abatidas 60 dias após o parto e os folículos ovarianos visíveis aspirados. Os oócitos foram quantificados, classificados (grau 1 a 4) e submetidos a maturação segundo a metodologia descrita por Hatamoto et al. (2006). Os resultados foram analisados através do SAS, $\alpha=5\%$, e expressos como média \pm erro padrão da média.

Resultados e Discussão

Durante a lactação o número e diâmetro folicular do GC (4.95 ± 0.34 e 0.61 ± 0.06 , respectivamente) foram maiores ($p<0,05$) que o do RC (3.42 ± 0.36 e 0.20 ± 0.02) e RP (2.56 ± 0.34 e 0.18 ± 0.04), porém RP e RC não diferiram entre si. Associado a isso o GC apresentou também presença de corpo lúteo obtendo um desenvolvimento folicular mais precoce em relação ao RC e RP. Indicando a interferência da nutrição com o retorno a ciclicidade pós-parto. Todavia Grazul-Bilska et al. (2006) não encontraram diferenças. Foram recuperados um total de 79 oócitos sendo destes 25, 31, 23 do tratamento GC, RP e RC, respectivamente, não ocorrendo diferença entre os tratamentos quanto ao número total de oócitos obtidos ($p>0,05$) indicando que o tratamento não interferiu neste parâmetro. Igualando ao resultado encontrado por Hatamoto et al. (2006). Houve efeito de tratamento sobre a qualidade oocitária. O RP ($2,5\pm 0,87$) e GC ($0,75\pm 0,25$) apresentaram uma maior número de oócitos classificados como grau 2 ($p=0,0384$) quando comparados ao RC ($0,25\pm 0,25$), mas GC e RC não diferiram entre si. Lozano et al. (2003) observaram em baixos níveis energéticos na dieta maior proporção de oócitos grau 1, já Hatamoto et al. (2006) menor proporção de grau 4. Conclui-se que a nutrição do período pós-parto influencia o número e diâmetro de folículos ovarianos e precocidade no desenvolvimento folicular durante a lactação e que a restrição protéica altera a qualidade dos oócitos recuperados.

Referências bibliográficas

- Hatamoto LK, Maciel WRS, Marinho WAS et al. 2006. Efeito da nutrição sobre a qualidade oocitária de ovinos. In 43ª Reunião Anual da SBZ, João Pessoa-PB
- Lozano JM, Lonergan P, Boland MP et al. 2003. Influence of nutrition on the effectiveness of superovulation programmes in ewes: effect on oocyte quality and post-fertilization development. *Reproduction* 125:543-553
- Grazul-Bilska AT, Borowczyk E, Arndt W et al. 2006. Effects of overnutrition and undernutrition on in vitro fertilization (IVF) and early embryonic development in sheep. *Sheep and Beef Day* 47:56-66

Palavras-chave: proteína, energia, oócito, ovelha.

Keywords: protein, energy, oocyte, ewe.



Perfil reprodutivo de ovelhas em rebanhos no Distrito Federal

Reproductive profile of ewes in flocks from Distrito Federal, Brazil

L.S. Seixas^{1,3}, S. Perecmanis¹, A.L. Ribeiro Filho³, A.P.P. Faria¹, L.M. Higawa¹, C.B. Ribeiral², V.O. Drummond¹, C.B. Melo^{1*}

¹Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília (UnB)
Campus Darcy Ribeiro, Asa Norte - ICC Sul / C.P. 4508 / Cep: 70.910-970. Brasília, DF.

*Autor para correspondência: cristianomelo@unb.br / cristus18@hotmail.com

²EMATER – Escritório do Núcleo Rural Taquara, Planaltina, DF

³Escola de Medicina Veterinária, Departamento de Patologia e Clínicas – UFBA, Salvador – BA.

Introdução

A ovinocultura é uma atividade em expansão na região centro oeste e o Distrito Federal possui atualmente um rebanho de cerca de 16.000 cabeças (IBGE, 2005). A ovinocultura também oferece perspectivas de negócios aos criadores do Distrito Federal. A atividade conta hoje com um mercado seguro para sua produção que representa um consumo *per capita* anual em torno de 0,150 kg. Também, Brasília e o entorno representam um mercado importante e se apresenta como um centro consumidor bastante atrativo, uma vez que grande parte da população residente se origina do Nordeste do Brasil, onde o consumo da carne ovina é uma tradição e em Brasília se concentra uma das mais elevadas rendas *per capita* do Brasil (EMATER-DF, 2004). Entretanto, apesar da ampla aceitação dessa nova atividade pecuária no Distrito Federal, vários problemas têm sido observados, incluindo o não conhecimento do correto manejo reprodutivo das ovelhas por parte dos criadores, que continuam com baixos índices produtivos, grandes intervalos de partos, abortamentos e toda a série de problemas reprodutivos. O objetivo deste trabalho consiste em avaliar a condição reprodutiva de ovelhas pertencentes a oito rebanhos ovinos localizados no Distrito Federal.

Material e Métodos

Foi avaliado o perfil reprodutivo de 1011 ovelhas de várias idades através de exame clínico, histórico reprodutivo no rebanho e durante a conversa com responsável por cada rebanho. As ovelhas pertenciam a oito rebanhos localizados em Planaltina (seis rebanhos), Recanto das Emas (um rebanho) e Vargem Bonita (um rebanho). Os rebanhos possuíam de 42 a 306 fêmeas e todas as ovelhas foram examinadas e avaliadas. A idade dos animais foi estimada em quantidade de mudas por cronologia dentária. As ovelhas estudadas eram das raças Santa Inês, Bergamásia, Dorper, Rabo Largo e mestiços.

Resultados e Discussão

Das 1011 ovelhas estudadas, foram relatados ou observados problemas reprodutivos em 74 (7,32%) ovelhas e entre estas foram relatados com maior frequência o intervalo de parto aumentado, aborto, anestro, corrimento vaginal, nascimento de crias fracas e morte conseqüente dos cordeiros, nascimento de prematuros. Outro ponto observado foi a idade avançada da maioria dos animais (quatro mudas) principalmente quando observava-se o intervalo de parto aumentado. Acredita-se que o fato da criação de ovelhas ser uma atividade recente na região estudada, os produtores pesquisados na sua grande maioria ainda não conhecem o manejo correto para as ovelhas. Uma série de equívocos foi observado iniciando-se pelo manejo da fêmea e estendendo-se para o manejo dos cordeiros, bem como o manejo do reprodutor, que permanecia todo o ano com as ovelhas, bem como não houve o relato de exames andrológicos nos reprodutores dos rebanhos estudados. Ainda, a ausência de um sistema de escrituração correto, completo e eficiente foi observada em todas as fazendas estudadas e isso pode indicar que os dados apresentados neste trabalho podem estar subestimados. Devido à falta de conhecimento da atividade em geral, os produtores adquirem animais pela aparência e isso tem significado animais velhos, de histórico reprodutivo negativo e com preços fora da realidade.

Referências bibliográficas

EMATER-DF. Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Distrito Federal. Portal Oficial do Governo do Distrito Federal, 2004. Disponível em http://www.emater.df.gov.br/005/00502001.asp?ttCD_CHAVE=4771. Acessado em 19/05/2006.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Banco de dados agregados. Disponível em <http://sidra.ibge.gov.br/bda/tabela>. Acesso em 13/12/2005.

Palavras-chave: Ovelha, Distrito Federal, reprodução.

Keywords: Sheep, Distrito Federal, Reproduction.



Características do manejo reprodutivo em rebanhos caprinos leiteiros no Cariri da Paraíba

Characteristics of the reproductive management in dairy goat herds from Cariri region, Paraíba State, Brazil

D.A. Bandeira^{1†}, R.S. Castro², E.O. Azevedo³, L.S. Seixas⁴, C.B. Melo^{4*}

¹Empresa de Pesquisa Agropecuária da Paraíba (EMEPA), João Pessoa, PB. † *in memoriam*.

²Departamento de Veterinária, UFRPE - Recife, PE

³Departamento de Veterinária, UFCG - Patos, PB

⁴Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília (UnB)
Campus Darcy Ribeiro, Asa Norte - ICC Sul / C.P. 4508 / Cep: 70.910-970. Brasília, DF.

*Autor para correspondência: cristianomelo@unb.br / cristus18@hotmail.com

Introdução

O Brasil possui um rebanho caprino de 11.460.735 animais distribuídos por todas as regiões do país, sendo 92,8% concentrado na Região Nordeste (INSTITUTO FNP, 2006) que apresenta 60% de sua área territorial dentro do polígono das secas, região semi-árida de baixa precipitação pluviométrica. Cerca de 40% da população nordestina habita a zona rural, onde predominam as pequenas propriedades (IBGE, 2005). Neste cenário, a caprinocultura leiteira destaca-se entre os outros tipos de exploração pecuária, sendo importante para a sobrevivência dos produtores. Apesar das dificuldades como a baixa aplicação de tecnologias, a caprinocultura leiteira nesta região tem mostrado avanços maiores do que os observados no resto da Paraíba e até do que o tipo de exploração que é exercido no próprio Nordeste. Sendo assim, este trabalho tem por objetivo realizar um levantamento das técnicas de manejo reprodutivo utilizadas em rebanhos caprinos leiteiros na região do Cariri da Paraíba.

Material e Métodos

Foram estudados através de visitas e a aplicação de um questionário 60 rebanhos caprinos leiteiros, que estavam localizados em 14 municípios do Cariri na Mesorregião da Borborema da Paraíba. As fazendas amostradas estão localizadas nos municípios de Amparo, Boqueirão, Cabaceiras, Caturité, Gurjão, Monteiro, Prata, Santo André, São João do Tigre, São Sebastião do Umbuzeiro, Serra Branca, Sumé, Taperoá e Zabelê. O efetivo de caprinos da Paraíba é composto basicamente por animais sem padrão racial definido para exploração, tipicamente animais para exploração de subsistência. Foram pesquisadas as técnicas de manejo reprodutivo implementadas nestes rebanhos, com base em informações de um questionário adaptado de Tinoco (1985). As principais características abordadas foram: uso de estação de monta, utilização de rufiões, adoção de biotécnicas da reprodução como indução do estro, inseminação artificial, diagnóstico de gestação e indução do parto.

Resultados e Discussão

Observa-se que 33,3% (20/60) dos produtores estabelecem a estação de monta em seus rebanhos, embora apenas 8,3% (5/60) utilizem rufiões, correspondendo a 25% (5/20). Observa-se ainda que técnicas de reprodução tais como indução e sincronização de estros, indução de parto e inseminação artificial não vêm sendo adotadas. Pela importância desta atividade, tanto econômica como social, a realização de trabalhos de melhoramento dos animais criados é uma necessidade. A implantação de biotécnicas adequadas de reprodução pode auxiliar no melhoramento genético destes rebanhos, melhorando a produtividade e zelando pelo manejo sanitário, já que o reprodutor circula bastante nas fazendas e isso se torna um problema no que se refere ao manejo sanitário. Com isso, conclui-se que se torna urgente a implantação de um manejo reprodutivo correto nestes rebanhos de forma que estes produtores tenham acesso às informações e às técnicas corretas de manejo reprodutivo nos rebanhos caprinos leiteiros estudados.

Referências bibliográficas

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Banco de dados agregados. Disponível em <http://sidra.ibge.gov.br/bda/tabela>. Acesso em 13/12/2005.

INSTITUTO FNP. *Anualpec. Anuário da Pecuária Brasileira 2006*. Agra FNP Pesquisas LTDA, 369 p, 2006.

TINOCO, A.L.A. Caracterização das formas de produção caprina da micro-região 138-Senhor do Bonfim. Bahia. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais. Medicina Veterinária, 1985. 86 p.

Palavras-chave: Cabra, reprodução, leite, Paraíba.

Keywords: She-goat, reproduction, milk, Paraíba.



Can soybean based diets affect growth and reproductive performance of farmed fish?

Dietas à base de soja podem afetar crescimento e desempenho reprodutivo de peixes cultivados?

L.C. Lima¹, J.A. Malison², A.A. Fernandes¹, R.C. Leite¹

1-UFMG Escola de Veterinária 2- University of Wisconsin-Madison

E-mail: lucolima@netscape.net

Introduction

In order to the aquaculture industry reach sustainability, plant protein sources are increasingly being evaluated as replacements for fish meal in the diets of farmed fish. Although soybean meal has high protein level and suitable amino acid complex, soy contains isoflavones such as genistein that mimic the effects of endogenous steroids, therefore having the potential for altering fish growth and reproductive physiology. This study evaluated effects of diets containing genistein on performance characteristics of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* reared in flow through tanks.

Material and Methods

A total of 400 rainbow trout of 4.5g average were reared in 220 L flow through tanks, at 10-15°C for 20 months. The fish were fed daily to satiation, one of the four diets: a commercial feed (Nelson & Sons, Inc., UT), which was incorporated with either 0, 500, 1000 or 3000ppm genistein (Steraloids, Inc., Newport, RI). In each treatment, run in triplicate, there were 24 pit tagged fish. All fish were collectively weighed monthly. Tagged fish, weighed individually, had blood collected for serum levels of vitellogenin (VTG), that was measured by an ELISA kit (Biosense, Bergen, Norway). Gonadal development was assessed by morphological and histological examinations. The Percentage of motile sperm and the amount of time the spermatozoa remained active was determined in triplicate by observation and only the ones showing progressive forward movement were considered motile.

Results and Discussion

Although females were heavier in 500ppm and 1000ppm treatments, no significant differences between the groups were found for final weight gain (583g average) or food conversion (0.89:1 to 0.97:1). By the end of the experiment, nearly 100% of fish had their gonads developed; however, genistein accelerated the maturation of males feeding 1000ppm diets since 90% of them started releasing sperm at 8 months old. At the same age 10% of female at 500ppm also had fully mature eggs and spawned. Semen concentration, cells activity and motility were better in fish at 1000ppm while fish at 3000ppm showed the poorest semen quality data with some individuals showing no cell activity at all. In fish only reproductive active females normally synthesize VTG (Pollack et al, 2003), while males neither make the protein nor synthesize its RNAm (Benneteau-Pelissero et al, 2001). In this study, dietary genistein had significantly increased serum VTG levels in males. However, despite the two-to-threefold difference, the serum VTG in males remained low (0.33 µg/mL) compared with VTG levels in females (2.3µg/mL). These results indicate that phytoestrogens in soybean based diets can improve growth but may negatively impact reproductive performance of farmed fish. Additional studies are needed to better establish the benefits as well the negative impacts of incorporating crescent amounts of soy in aquaculture feeds.

Referências bibliográficas

Benneteau-Pelissero/ Breton B, Bernard/ Benneteau, Bernard/ Corraze Genevieve et al. Effect of genistein-enriched diets on the endocrine process of gametogenesis and reproduction efficiency of the rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Gen and Comp. Endo., v 121, p.173-187, 2001.

Pollack, SJ., Ottinger, MA, Sullivan, CV, Woods, LC. The effects of the soy isoflavone genistein on the reproductive development of striped bass. North Am. J. Aquacult, 2003, 65, p.226-234.

Palavras-chave: aquacultura, fitoestrogenos, genisteina, truta arco-iris, soja.

Keywords: aquaculture, phytoestrogens, genistein, rainbow trout, soybean.



Características seminais de coelhos alimentados com farelo de canola (*Brassica sp.*)

Semen characteristics analysis of rabbits fed with canola meal (Brassica sp.)

V.A. Nascimento¹, L.V. Lage¹, C.A.A. Torres¹, J. Penitente-Filho¹, M. Drummond¹, F.G. Lopes¹, W.F. Motta¹,
M. Dias¹, E.A. Moraes¹, C.A.S. Bispo¹, F.F. e Silva¹, L.S. Amorim¹

¹Universidade Federal de Viçosa-UFV
E-mail: inicioaraujon@yahoo.com.br

Introdução

A Canola (*Brassica napus* ou *B. campestris*) é uma variedade da colza que contém menos de 2% de ácido erúico no óleo e menos de 30 µmol/g de glicosinolatos no farelo (National C. Agri-Food Research. Med., 2004). Glicosinolatos, compostos sulfurados hidrossolúveis, apresentam propriedades goitrogênicas comprovada (Etienne e Dourmad, 1994). Seus efeitos sobre o desempenho reprodutivo dos animais é inconclusivo. Como os hormônios tireoidianos atuam sobre as células testiculares (Janini et al., 1990), este estudo avaliou as características seminais de coelhos alimentados com farelo de canola.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no setor de Cunicultura do DZO-UFV/MG. Foram utilizadas duas dietas formuladas para 18% de PB oriunda do farelo de soja ou de canola. Foram analisados cinco tratamentos: tratamento soja (TS-controle), tratamento canola interrompido ao parto (TCanIPa), ao desmame (TCanID), à puberdade (TCanIPu) e contínuo (TCanC) até 180 dias de idade. A partir dos 120 dias, o sêmen dos machos foi coletado pela vagina artificial, a intervalos de 10 dias, até completarem 180 dias. O sêmen foi avaliado, a fresco, para volume, aspecto, motilidade e vigor espermáticos. Uma alíquota (20 µL) do ejaculado foi fixada em formol salino, para determinação da concentração e patologias.

Resultados e Discussão

O vigor diferiu ($P < 0,05$) aos 140 dias, com o menor valor para animais do TCanIPa, porém os demais não diferiram entre si. Verificaram-se interações ($P < 0,05$) idade x tratamento para motilidade, volume, concentração e patologias. O volume do ejaculado foi maior para os animais do TS e menor para TCanIPu ($P < 0,05$). Para concentração, houve interação quadrática ($P < 0,05$), e os animais do TCanID e TCanC foram superiores aos do TS e TCanIPa. Houve interação quadrática para patologias maiores ($P < 0,05$) em função da idade para os animais de todos os tratamentos, exceto para os do TCanIPa; mas os do TCanC não diferiram dos de TS, TCanIPa e TCanIPu. Para patologias totais, os animais do TCanIPu tiveram maior percentual de patologias totais que os de TCanIPa e TCanID, sendo as do TS maiores que de TCanIPa e TCanID ($P < 0,05$). Houve variações entre os diferentes tratamentos e em função do tempo. A motilidade, volume e concentração tenderam a aumentar com o avançar da idade dos animais, enquanto as patologias espermáticas tenderam a diminuir, variações normalmente observadas nos animais sexualmente imaturos, quando ainda não estabilizaram o seu processo androgênico e gametogênico (Miros et al., 1980). Diante dos resultados, os animais alimentados com canola sofreram algumas alterações seminais que justificam a realização de estudos de desempenho reprodutivo para que se possa recomendar a utilização do farelo de canola para machos reprodutores.

Referências bibliográficas

- Etienne, M.; DourmaD, J.Y. Effects of zearalenone or glucosinolates in the diet on reproduction in sows: a review. *Livest. Prod. Sci.*, v.40, n.2, p.99-113; 1994.
- Jannini, E.A.; Olivieri, M.; Fracavilla, S. et al. Ontogenesis of nuclear 3,5,3'-triiodothyronine receptor in the rat testis. *Endocrinol.*, v.126, p.2521-2526, 1990.
- Miros, V.; Shulimov, A.G.; Voskresenskaya, N.S. et al. Age at sexual maturity of rabbits (1980). In: ALVARIÑO, M.R. Control de la reproducción en el conejo. Ed. Mundi Prensa, Madrid, 1993.
- National Centre for Agri-Food Research in Medicine. www.sbrca.ncarm/ acesso em 21/04/2004.

Palavras-chave: sêmen, coelhos, canola.

Keywords: semen, rabbit, rapessed.



Polimorfismos dos genes do LHR e do FSHR sobre a precocidade sexual em novilhas de corte compostas¹

Polymorphism of LHR and FSHR genes on the sexual precocity in Composite beef heifers

E.P. Marson², J.B.S. Ferraz³, F.V. Meirelles⁴, J.C.C. Balieiro, J.P. Eler³

¹Apoio financeiro: Fapesp; ²Profa. Dra. Departamento de Zootecnia – CASCGO/UFSC; ³Prof. Dr. Departamento de Ciências Básicas, Grupo de Melhoramento Animal – FZEA/USP; ⁴Prof. Dr. Departamento de Ciências Básicas, Laboratório de Morfofisiologia Molecular e Desenvolvimento, FZEA/USP.

E-mail: epmarson@gmail.com

Introdução

A obtenção de bovinos de corte compostos envolvendo raças de diferentes aptidões encontra-se em expansão no Brasil e visa maximizar os efeitos da heterose e complementaridade de raças. A precocidade sexual é indicada como critério de seleção de novilhas de corte, considerando seu impacto na avaliação da eficiência reprodutiva aliada à moderada herdabilidade relatada para esta característica (0,40; Martin *et al*, 1992). Os hormônios gonadotróficos luteinizantes (LH) e folículo estimulante (FSH), cuja ação é mediada via receptores de membrana estão presentes no desencadeamento da puberdade em novilhas (Aittomaki *et al*, 1995). Objetivou-se neste trabalho avaliar os efeitos dos polimorfismos nos genes do LHR e do FSHR, por análise PCR-RFLP, na precocidade sexual de novilhas de corte compostas.

Material e Métodos

Amostras de sangue para extração de DNA foram obtidas de 370 novilhas compostas de diferentes composições raciais Europeu-Zebu. Com base nos resultados de polimorfismos por SSCP nos genes do LHR (Milazzotto, 2001) e do FSHR (Campagnari, 2002), elegeram-se fragmentos de interesse que foram submetidos à análise PCR-RFLP. Os genótipos foram posteriormente identificados por eletroforese em gel de agarose a 1,5% pela ausência ou presença do sítio de restrição reconhecido pelas endonucleases de restrição específicas HhaI e AluI, respectivamente, para os genes do LHR e do FSHR. A análise dos resultados envolveu a estimação das frequências genotípicas para os dois locos estudados e a avaliação dos efeitos dos marcadores foi sobre a ocorrência (1) ou não (0) de prenhez (probabilidade de prenhez) na primeira estação de monta. O procedimento adotado foi o PROC GENMOD do programa Statistical Analysis System (SAS, 2000), admitindo-se distribuição binomial com função de ligação logística.

Resultados e Discussão

Análise PCR-RFLP identificou três genótipos para cada gene estudado: TT, CT e CC para o LHR/HhaI e GG, CG e CC para o FSHR/AluI tal como relatado, respectivamente por Milazzotto (2001) e Campagnari (2002). Para ambos os genes estudados registraram-se maior frequência de heterozigose, que variou de 37 a 85% para o LHR e de 45 a 79% para o FSHR, nas diferentes composições raciais. A taxa de prenhez observada foi de 63,5%, com idade média de entrada em reprodução de 13,5 meses. As novilhas heterozigotas foram as que apresentaram as melhores taxas de prenhez (67 e 66%, respectivamente, para os genes do LHR e FSHR). Entretanto, não se constatou efeito dos polimorfismos nos genes do LHR ($P > 0,9188$) e do FSHR ($P > 0,8831$) sobre a precocidade sexual de novilhas compostas, resultado este ratificado por Milazzotto (2001) e Campagnari (2002) em novilhas da raça Nelore. Estes resultados não justificam a inclusão destes marcadores RFLP na seleção assistida por marcadores em programas de melhoramento genético de novilhas de corte.

Referências bibliográficas

- Aittomaki, K.; Dieguez, J.L.L.; Pakarinen, P. *et al.* (1995). *Cell*, 82:959-968.
CAMPAGNARI, F. (2002). *Dissertação de Mestrado*. Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista (UNESP). Botucatu, Brasil.
Martin, L. C.; Brinks, J. S.; Bourdon, R. M. *et al.* (1922). *J. Anim. Sci.*, 70:4006-4017.
Milazzotto, M.P. (2001) *Dissertação de Mestrado*. Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista. Botucatu, Brasil.
SAS (2000). *User's Guide, Version 8*. Cary, NC: SAS Institute Inc.

Palavras-chave: LHR, FSHR, precocidade sexual, RFLP, novilhas de corte compostas.

Keywords: LHR, FSHR, sexual precocity, RFLP, beef heifers.



Correlações de Pearson para parâmetros andrológicos e zootécnicos em touros Nelore elite

Pearson's correlations among andrological and zootechnical parameters in Nelore bulls

M.R. Moura¹, F.P.C. Lima¹, A.P. Marques Jr¹, J.A.G. Bergmann¹

¹Escola de Veterinária da UFMG – Belo Horizonte, MG, Brasil.

E-mail: fabrizialima@terra.com.br

Introdução

Existem poucos relatos sobre associações genéticas entre características ponderais, medidas testiculares e características seminais para touros de raças zebuínas no Brasil. As estimativas de parâmetros genéticos em zebus têm apresentado grande variabilidade, indicando boa resposta à seleção ou melhoramento a ser alcançado. Estes parâmetros são necessários para estimar as respostas diretas e correlacionadas à seleção, para elaborar índices de seleção e prever o valor genético dos animais (Gunski et al., 2001). O estudo utilizou a Correlação de Pearson com o objetivo de relacionar parâmetros andrológicos e zootécnicos para que essas características possam ser utilizadas como critérios de seleção.

Material e Métodos

Um grupo de 24 tourinhos Nelore (*Bos taurus indicus*) com idade entre 12 e 18 meses, peso entre 307,0 e 536,0 Kg e circunferência escrotal entre 19,3 e 36,0cm foram avaliados. Um total de 96 amostras de sêmen foram coletadas em 4 diferentes idades (12, 14, 16 e 18 meses) com auxílio de eletroejaculador e avaliadas para parâmetros físicos e morfológicos. A análise foi feita de acordo com o SAEG (2001).

Resultados e Discussão

A correlação de Pearson foi usada em diferentes parâmetros andrológicos e zootécnicos de touros Nelore elite como mostra a Tabela 1. Foi observada alta correlação da idade com peso, CE, motilidade e vigor seminal e uma correlação média entre a idade e espermatozóides totais, concentração e volume espermáticos. Os resultados assemelham-se aos encontrados por Ferreira et al. (2006) em touros Gir. Correlações entre peso, CE e características seminais, com exceção de defeitos espermáticos maiores e menores também foram elevadas. Pode-se concluir que a utilização da CE e de parâmetros seminais na seleção de animais precoces está relacionada com a idade e o peso dos animais e que esses parâmetros podem ser utilizados como critérios na seleção genética para precocidade sexual.

Tabela 1 – Correlações para parâmetros andrológicos e zootécnicos de touros Nelore

Parâmetros	MES NASC	IDADE (meses)	PESO (Kg)	CE (cm)	VOL (ml)	SPZ TOT	CONC (x10 ⁶)	MOT (%)	VIG (1-5)	MSD (%)
IDADE	- 0,30*									
PESO	- 0,29*	0,89*								
CE	- 0,28*	0,70*	0,74*							
VOL	- 0,04	0,28*	0,12	0,26*						
SPZTOT	0,07	0,50*	0,37*	0,44*	0,59*					
CONC	0,01	0,48*	0,45*	0,55*	0,04	0,66*				
MOT (%)	- 0,28*	0,60*	0,58*	0,75*	0,17*	0,49*	0,71*			
VIG (1-5)	- 0,23*	0,59*	0,55*	0,71*	0,26*	0,52*	0,70*	0,94*		
MSD (%)	0,28*	- 0,21*	- 0,18	- 0,50*	0,07	- 0,06	- 0,25*	- 0,40*	- 0,38*	
mSD (%)	- 0,05	- 0,52*	- 0,51*	- 0,36*	0,04	- 0,32*	- 0,33*	- 0,30*	- 0,30*	0,17

MESNASC = mês de nascimento, CE = circunferência escrotal, VOL = volume seminal, SPZTOT = espermatozóides totais, CONC = concentração espermática, MOT = motilidade espermática, VIG = vigor espermático, MSD = defeitos maiores, mSD = defeitos menores. * P<0,05

Referências bibliográficas

- Ferreira, M.B.D., et al. Pearson's Correlations among andrological and zootechnical parameters in dairy Gyr breed (*Bos taurus indicus*). *Animal Reproduction*, V.3, n.2, p. 260, 2006.
- Gunski, R. J., et al. Estimativas de parâmetros genéticos para características incluídas em critérios de seleção em gado Nelore. *Ciência Rural*, v. 31, n. 4, p. 603-607, 2001.
- SAEG – Sistema de análises estatísticas e genéticas – Viçosa (UFV), MG:2001. 331p.

Palavras-chave: Touros, Nelore, correlações de Pearson.

Keywords: Bulls, Nelore, Pearson's correlations.



Utilização do Canter OF[®] em doadoras de embrião bovinos

Use of Canter OF[®] on bovine embryo donors

B.M. Pereira¹, C.A.C. Fernandes^{2,3}, M.M. Gioso², T.D. Vasconcelos³, E.R. Oliveira³, B.F.L. Alves³

¹Mestrando Ciência Animal-Unifenas, ²Prof. Unifenas, ³Biotran LTDA. E-mail: cacf@biotran.com.br

Introdução

Maiores conhecimentos sobre o mecanismo do recrutamento, desenvolvimento, seleção e dominância dos folículos, parecem ser o ponto-chave para explicar variações superovulação em bovinos. Fernandes (2000) relata que um dos fatores de sucesso desta técnica seria iniciar o tratamento quando existir uma boa população de folículos sensíveis. Segundo Wiltbank (2001) alguns componentes da dieta podem levar a uma maior sensibilidade dos folículos ao FSH, o que pode alterar o resultado do processo superovulatório. Os objetivos foram verificar os efeitos do tratamento da suplementação com CANTER OF[®] sobre a resposta a superovulação e produção embrionária em vacas zebuínas.

Material e Métodos

Foram utilizadas 21 fêmeas zebuínas, manejados em regime de semiconfinamento com a mesma alimentação durante todo o período, composta de capim *Brachiaria* e suplementação mineral *ad libitum*. Todos os animais foram utilizados uma vez no grupo tratado e no grupo controle, num delineamento “Cross-over”. Para o tratamento superovulatório de um mesmo animal foi usado o mesmo hormônio (Folltropin[®]), mesma partida e doses. Também foi utilizado o mesmo sêmen. No grupo Tratado, os animais receberam via oral, 20ml do produto CANTER OF[®], diariamente, de forma individual, iniciando o tratamento 30 dias antes da colheita dos embriões. Para a comparação das variáveis entre os grupos foi utilizado o teste de “t”.

Resultados e Discussão

Quando se analisam todos os animais utilizados não se observaram diferenças ($P > 0,05$) entre o total de corpos lúteos ($10,74 \pm 7,65^a$ e $10,45 \pm 7,94^a$), total de embriões ($6,53 \pm 7,21^a$ e $7,41 \pm 8,03^a$) e embriões viáveis ($3,95 \pm 4,24^a$ e $4,82 \pm 5,46^a$) entre o grupo Controle e o Tratado com CANTER[®], respectivamente. Quando se estratificam as doadoras em animais de diferentes categorias, relacionadas a resposta a superovulação e produção embrionária os resultados do tratamento são diferentes. Quando se avaliam as vacas cujo histórico foi de resposta superovulatória < 4 corpos lúteos/estimulação e produção embrionária < 3 embriões viáveis por coleta, os resultados do tratamento com CANTER[®] são diferentes. Para estes animais, todas as variáveis foram superiores no grupo tratado com CANTER[®] (Tabela 1). Neste grupo o tratamento com CANTER[®] aumentou sobremaneira a resposta superovulatória, o total de embriões por coleta e o número de embriões viáveis ($P < 0,05$). Estes resultados mostram que os componentes do produto podem ser efetivos em aumentar o número de folículos sensíveis ao FSH e/ou a sensibilidade daqueles existentes.

Tabela 1: Resultados gerais de superovulação e produção embrionária em vacas com histórico de resposta superovulatória e produção embrionária ruim, tratadas ou não com CANTER[®].

Grupo	N	Média de Ovulações	Total de Embriões	Embriões Viáveis
Controle	21	$4,25 \pm 1,30^a$	$1,38 \pm 1,39^a$	$1,25 \pm 0,46^a$
CANTER [®]	21	$7,80 \pm 8,28^b$	$7,60 \pm 5,76^b$	$5,30 \pm 3,46^b$

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem a 5% de probabilidade

Conclusões

O Produto, no protocolo utilizado é eficiente em estimular um maior número de ovulações, produção total de embriões e número de embriões viáveis, principalmente em doadoras com histórico de produção embrionária ruim.

Referências Bibliográficas

Fernandes, C.A.C. Alterações na fisiologia reprodutiva e nos resultados de superovulação em vacas e novilhas ... Botucatu- SP FMVZ-Unesp, 2000, 119p. (tese Doutorado)

Wiltbank, M. relação entre reprodução e nutrição em varas de leite. IN: novos enfoques na reprodução e reprodução de bovinos. UBERABA MG, P 15 – 26, 2001.

Palavras Chave: Bovino, nutrição, superovulação.

Key Words: Bovine, nutrition, superovulation.



Sincronização do estro de novilhas caprinas mestiças com PGF_{2α}: dose e sub-dose em duas vias de aplicação

Estrus synchronization of crossbred goat with PGF_{2α}: dose and sub-dose in two ways of application

J.P.A. Rego¹, D.O. Santos², J.L.S. Farias², L.S. Oliveira²

¹Bolsista do PIBIC-UVA Zootecnia/Embrapa Caprinos, ²Médico Veterinário, Embrapa Caprinos
E-mail: zootecnistajp@hotmail.com

Introdução

Atualmente avalia-se a viabilidade de diferentes protocolos de sincronização do estro com PGF_{2α} isolada, na redução de custos; buscando dose e via de aplicação eficazes, ampliando sua utilização na reprodução animal (FRAZÃO et al, 2006). O emprego de sub-doses de PGF_{2α} aplicadas intravulvarmente tem sido uma alternativa para reduzir custos. MGONGO (1988) verificou que, a redução nos níveis de progesterona sanguíneos, em cabras após aplicação de 125 mg de cloprostenol, via intramuscular, era semelhante àquela verificadas em fêmeas que receberam sub-dose (62,5 mg) por via submucosa vulvar. HEAP et al. (1985) demonstraram que a rapidez de difusão da PGF_{2α} produzida no útero em direção aos ovários era devido, principalmente, aos sistemas linfático e sanguíneo locais, o que justifica a aplicação vulvar de drogas luteolíticas. O trabalho objetivou avaliar a eficiência da PGF_{2α} na indução do estro constatada pela taxa de prenhez de novilhas caprinas após inseminação artificial utilizando duas doses de cloprostenol, aplicadas via intramuscular (IM) ou intramuscular vulvar (IMV).

Material e Métodos

O experimento foi realizado na Embrapa Caprinos em Sobral-CE, utilizando 14 novilhas caprinas mestiças das raças Anglo-nubiana e Saanen. Os animais eram mantidos em sistema de manejo semi-extensivo, permanecendo no campo parte do dia, sendo suplementado com silagem de milho e sorgo, e sal mineral.

As fêmeas foram distribuídas em dois grupos, com base na dose e via de aplicação da PGF_{2α}. O Grupo 1 (G-1) recebeu 0,3 mL (75 µg) de PGF_{2α}, por via intramuscular (IM), e o Grupo 2 (G-2), dose menor, de 0,2 mL (50 µg), via intramuscular vulvar (IMV). Foram realizadas duas inseminações com tempo fixo (IATF), com base no horário da aplicação da PGF_{2α} (D-0: às 16:00 h), sendo a primeira IA realizada 40 horas após, e a segunda, oito horas após a primeira IA, usando sêmen fresco e resfriado, respectivamente. Foi utilizado na IATF aplicador de 0,25 mL, espéculo vaginal e fonte luminosa. Após 45 dias da IA foi realizado o diagnóstico de prenhez com uso do Detector de Prenhez para Pequenos Ruminantes (DPPR-80), sendo repetido após 64 dias da I.A, naquelas cuja prenhez não foi confirmada. Os dados foram analisados pelo teste do Qui-quadrado (χ^2).

Resultados e Discussão

O emprego de doses e sub-doses de PGF_{2α} por via intramuscular e intramuscular vulvar mostrou-se eficaz na sincronização do estro e resposta em fertilidade em novilhas caprinas, não diferindo significativamente ($P>0,05$). Estes achados estão de acordo com MELLADO et al. (1994) e HEAP et al. (1985). O diagnóstico de prenhez realizado aos 45 dias apresentou índices de 71,4% de prenhez confirmada contra 28,6% de não confirmado, para G-1. No G-2, 42,8% foram de prenhez confirmada, 28,6% de não confirmada e 28,6 % de não prenhas. O segundo diagnóstico realizado aos 64 dias após a I.A, confirmou a gestação em 100% dos animais do G-1. No G-2, foi confirmado 71,4% de gestação versus 28,6% de fêmeas não prenhas. Os elevados índices de gestação observados nas novilhas foi devido, provavelmente, ao franqueamento cervical para o aplicador de calibre reduzido (0,25 mL), permitindo a deposição da dose inseminante no ambiente intrauterino.

Referências bibliográficas

- Frazão, T.N., Maldonado, A.R., Mazieiro, F., Alves, P.A.M.** Avaliação da eficiência do uso de dose e meia dose de cloprostenol sódico para a sincronização de cio em vacas mestiças leiteiras. *Vet News*. v.13, n.82, p.5-7, 2006.
- Heap, R.B., Fleet, I.R., Hamon, M.** Prostaglandin F_{2α} is transferred from the uterus to the ovary in the sheep by lymphatic and blood vascular pathways. *Journal of Reproduction and Fertility*. V. 74, n.2, p. 645-656, 1985.
- Mgongo, F.O.K.** The effects of buck teasing on synchronization of estrus in goats after intravulvo-sumucosal administration of cloprostenol. *Theriogenology*. V. 30, p. 987-995, 1988.
- Mellado, M., Alemán, R., Orozo, F.J., Uribe, G.** Effect of prostaglandin F_{2α} dosage and route of administration on estrus response in Criollo goats under range conditions. *Small Ruminant Research*, v. 14, p. 205-208, 1994.

Palavras-chave: Caprinos, prenhez, diagnóstico, inseminação.

Keywords: goats, prenhez, diagnostic, insemination.



Influência do Flunixin Meglumine na taxa de prenhez de vacas leiteiras submetidas a protocolo de inseminação artificial em tempo fixo – nota prévia

Influence of Flunixin Meglumine on pregnancy rate of dairy cows submitted to artificial insemination protocol at fixed time - previous note

G.O. Negreiros¹, O. Resende Filho², E.E.A. Bezerra¹, A.L.B.B. Mineiro¹, J.M. Silva¹, R.J. Vieira^{1b}

¹Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Piauí; ^{1b}
End. para correspondência: Rua Sen. Joaquim Pires, 1616, Fátima, Teresina, Piauí.
E-mail: rvieira@ufpi.br, e rvieirasb@yahoo.com.br; ²Médico Veterinário Autônomo

Introdução

O desenvolvimento de tecnologias que possam contribuir para o incremento da produtividade dos rebanhos é de fundamental importância. Destaca-se entre elas a Inseminação Artificial em Tempo Fixo – IATF (Vieira et al, 2004). Segundo BATTY et al (1988) a liberação das prostaglandinas promove a regressão do corpo lúteo e estratégias que visem minimizar a redução precoce do corpo lúteo têm sido idealizadas (BINNELLI, et al., 2001). Dentre as estratégias, ressalta-se a utilização do Flunixin Meglumine (FM). Seu mecanismo consiste na inibição da enzima ciclo-oxigenase, que resulta na reduzida síntese de prostaglandina e substâncias correlatas (ODENSVIK et al., 1989, 1998). Sendo assim, o presente trabalho teve como objetivo estudar a eficiência do FM para aumentar as taxas de prenhez em vacas leiteiras Girolandas submetidas a protocolos de Inseminação Artificial em Tempo Fixo.

Metodologia

O trabalho foi desenvolvido em uma fazenda da bacia leiteira do município de Parnaíba - PI. Utilizou-se trinta novilhas da raça Girolando, divididas ao acaso em três grupos. GRUPO CONTROLE = G1: composto por 10 nulíparas – submetidas a Inseminação Artificial (IA) 12h após o final do estro natural; GRUPO 2 = G2: composto por 10 nulíparas que foram submetidas ao seguinte protocolo: dia 0 (D0) aplicação de CIDR + GnRH (Fertargyl, 50 mg, IM); seis dias (D6) após retirou-se o CIDR e aplicou-se a PGF2 α (Lutalyse, 25 mg, IM); 24 horas após (D7) foi aplicado ECP (ECP 3, 1mg, IM); 48 horas após realizou-se a IATF (D9). GRUPO 3 = G3: idem ao G2 mais administração de Banamine (Flunixin Meglumine- 996mg) no 14^o dia após Inseminação Artificial. O diagnóstico de gestação foi realizado 30-35 dias após a Inseminação Artificial, utilizando-se equipamento Scanner 100 Lc Vet com transdutor, transretal, linear de 6/8 MHz.

Resultados e Discussão

No G1, dos dez animais, apenas sete apresentaram estro no período experimental, 40% ficaram prenhes (4 de 10). Este índice de fertilidade pode ser atribuído à dificuldade da observação de estro, que limita o uso, bem como a realização da IA em tempo adequado. Com relação às novilhas do G2, a taxa de prenhez foi de 70%, concordando com o observado por Vieira et al. (2004) que obtiveram em fêmeas mestiças de zebu a taxa de 75% de prenhez. No grupo G3 a taxa de prenhez foi de 80%. Dos resultados observa-se uma indicação do uso do FM, considerando-se as estratégias propostas por Binelli et al (2001) e os resultados apresentados por Odensvik et al. (1989, 1998) que estudaram a inibição da biosíntese de prostaglandina, indicando que a administração de FM é de grande valor na farmacoterapia que vise a manutenção do corpo lúteo. Além dos índices de prenhez satisfatórios salienta-se a importância da realização da IA em todos os animais dos Grupos 2 e 3, não carecendo, no entanto, de observações de estro.

Referências Bibliográficas

- Binelli, M.; Thatcher, W.W.; Mattos, R.; Baruselli, P.S.:** Antiluteolytic strategies to improve fertility in cattle. *Theriogenology*. v. 56: p.145–1463, 2001.
- Vieira, R.J.; Chow, L.A. Sousa, A.O. et al.** Sincronização no ciclo estral em vacas mestiças pela administração do fator liberador das gonadotropinas (GnRH) em associação com a prostaglandina F2 α (PGF2 α). *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, v.28, n.4 p. 215-220, 2004.

Palavras chave: Flunixin Meglumine; Inseminação Artificial; prenhez; corpo lúteo.

Key Words: Flunixin Meglumine; Artificial Insemination; pregnancy; corpus luteum.



Taxa de gestação de fêmeas bovinas primíparas inseminadas em tempo fixo

Gestation rates in primiparous bovine females inseminated in a fix time protocol

J.E.J. Murta¹, E.S. Oliveira², V.J. Andrade³, V.R. Vale Filho³, S.R. Reis, L.L. Emerick

¹Professor UNIMONTES, ²Graduando da UNIMONTES, ³Professor UFMG
E-mail: jose.eduardo@unimontes.br

Introdução

A Inseminação Artificial (IA) é a técnica mais importante para o melhoramento genético dos bovinos, no entanto é pouco utilizada pelos produtores devido a fatores que influem negativamente e entre estes se destaca as falhas na observação do cio dos animais. Vários fatores têm contribuído para o insucesso dos resultados da IA, como: falhas na detecção do cio, ocorrência de cios silenciosos e nível de instrução do inseminador, podem ser citados. Medidas têm sido adotadas, com o intuito de incrementar a utilização da técnica. Entre as medidas adotadas se encontram os protocolos de sincronização do cio e IA a horário fixo, que dispensa a observação do estro. Protocolos de sincronização do ciclo estral que possibilite a IA das fêmeas sem a necessidade do acompanhamento dos sinais de cio têm apresentado resultados satisfatórios (MARES, 1977; MURTA, 2001; RIBEIRO FILHO, 2001).

Material e Métodos

Foram utilizadas 134 fêmeas Nelore, primíparas, paridas, com bezerro ao pé, criadas nas mesmas condições de manejo e alimentação. Os animais fazem parte do rebanho da fazenda Lagoa Verde, propriedade da Colonial Agropecuária Ltda. localizada no município de Matias Cardoso-MG. As vacas foram distribuídas em dois lotes (Ovsynch e CIDR[®]) aleatórios após avaliação de escore corporal individual, que foi em média igual a 2 (escala de 1 a 5) e receberam os medicamentos à medida que foram avaliadas. Os medicamentos utilizados foram análogo do GnRH (injetável), análogo da Prostaglandina (injetável), análogo do Estradiol e análogo da Progesterona (implante intravaginal). Promoveu-se o desmame temporário dos bezerros por 24 horas, após a retirada dos implantes e aplicação da última dose de GnRH e de Estradiol, sendo as inseminações realizadas ao final deste período. O lote I (n= 65) e II (n= 69) pertence respectivamente aos protocolos Ovsynch e CIDR[®], que foram mantidos nas mesmas condições de manejo e alimentação. Decorridos 30 dias das inseminações, realizou-se diagnóstico de gestação com auxílio de ultra-som modelo Aloka SSD 550 e procedeu-se a análise estatística dos resultados.

Resultados e Discussão

O resultado de gestação foi 35,38% (n=23) e 5,79% (n=4), respectivamente para os lotes I e II, (p< 0,05). Apesar do baixo escore corporal apresentado pelos animais, o resultado de gestação do Lote I (Ovsynch) mostrou-se superior e corrobora com os resultados apresentados por Wiltbank (2000). Conclui-se que, nas condições deste experimento, a utilização do protocolo Ovsynch apresentou resultados satisfatórios de prenhez para sincronização do cio e inseminação artificial em tempo fixo.

Referências bibliográficas

- Mares, S.E., Peterson, L.A., Henderson, E.A., Davenport, M.E. Fertility of beef herds inseminated by estrus or by time following Sincro-mate B[®] (SMB) treatment. *Journal Animal Science*, n.45(suppl 1), p.185, 1977
- Murta, J.E.J., Pereira, J.C.C., Andrade, V.J., Vale Filho, V.R. Taxas de prenhez em vacas Nelore com utilização do protocolo Crestar para sincronização do cio. *Revista Brasileira De Reprodução Animal*. v.25, n.1, p.30-35, Belo Horizonte, CBRA, , 2001
- Ribeiro Filho, A.L. Diferentes aspectos do controle folicular e luteínico em vacas zebus. Tese (Dissertação de Doutorado). Belo Horizonte, UFMG, 2001
- Wiltbank, M.C. Uso eficaz de hormônios de reprodução IN: Novos enfoques na produção reprodução de bovinos 3. *Anais... Passos, CONAPEC Jr. & CBRA*, 2000

Palavras-chave: Gestação, inseminação artificial, bovino.

Keywords: Gestation, insemination, bovine.



Eficácia luteolítica do cloprostenol sódico em novilhas Nelore (*Bos indicus*) tratadas em diferentes fases do ciclo estral

*Luteolytic efficacy of sodium cloprostenol in Nelore heifers (*Bos indicus*) treated in different phases of the estrous cycle*

**J.N.S. Sales¹, R.M. Junqueira², J.R.G. Maio³, S.S. Carreiro³, L.C.T. Bertolini³, E.D.F. Souza³,
P.S. Baruselli¹, G.P. Nogueira²**

¹Departamento de Reprodução Animal, FMVZ-USP; ²Laboratório de Endocrinologia UNESP-Araçatuba; ³Ouro Fino Saúde Animal, Ribeirão Preto, SP. Email: gpn@fmva.unesp.br; barusell@usp.br

Introdução

Recentemente, vários trabalhos de sincronização do ciclo estral e da ovulação foram publicados, nos quais a prostaglandina é combinada com outros hormônios para permitir melhor eficiência reprodutiva em vacas e em novilhas (Baruselli et al., 2006). No entanto, existe ainda poucos trabalhos que analisam a resposta luteolítica em novilhas *Bos indicus*. O objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito do tratamento i.m. de Cloprostenol sódico (Sincrocio[®]) na regressão luteínica e na queda da concentração plasmática de progesterona em novilhas Nelore.

Material e Métodos

No experimento, 10 novilhas Nelore com escore de condição corporal acima 3 foram pré-sincronizadas para formação de corpo lúteo funcional. Uma vez detectada a ovulação, os animais foram aleatoriamente alocados para um de dois tratamentos: Sincro D7, que consistiu na aplicação i.m. de 500µg de cloprostenol sódico (Sincrocio[®]) no 7º dia após a ovulação (n=5) e o Sincro D12 que consistiu na aplicação i.m. de 500µg de cloprostenol sódico (Sincrocio[®]) no 12º dia após a ovulação (n=5). Todos os animais do experimento foram submetidos a exames ultrassonográficos para determinar a regressão do corpo lúteo e a ovulação. Colheitas de sangue para análise da concentração plasmática de progesterona foram realizadas de 8 em 8 horas do momento do tratamento por um período de 120 horas. Os dados foram analisados pelo programa GraphPad InStat version 3.00, usando o teste de Repeated Measures ANOVA com Tukey-Kramer Multiple Comparisons Test como pos teste.

Resultados e Discussão

A luteólise estrutural e funcional ocorreu em todos os animais do experimento, tanto nos que receberam a aplicação de cloprostenol sódico no dia 7 quanto no dia 12. Achados semelhantes foram observados por Kastelic et al. (1990), na qual a aplicação de DL-cloprostenol promoveu luteólise em diferentes dias do diestro. Esses resultados satisfatórios explicam-se pelo fato da luteólise ocorrer entre os dias 6 e 17 do ciclo estral em bovinos (Wiltbank et al., 1995), período no qual os tratamentos foram realizados. O intervalo tratamento/estro foi menor nos animais tratados no 7º do que no 12º dia do ciclo estral (81,6±4,7 vs 98,0±3,8h; P<0,05). Resultados semelhantes foram encontrados por outros pesquisadores, que verificaram intervalos reduzidos entre a administração de prostaglandina e a manifestação do estro em animais tratados na fase inicial do ciclo estral. Parte da variação observada nesse intervalo é devido à presença de um folículo dominante no momento da luteólise (Kastelic et al., 1990). No entanto, apesar de numericamente inferior, não houve diferença significativa no intervalo tratamento/ovulação (106,0±9,6 vs 118,0±3,8h; P>0,05). Concluímos que o cloprostenol utilizado no experimento (Sincrocio[®]) foi efetivo em promover a luteólise funcional e morfológica do corpo lúteo, tanto no 7º quanto 12º dia do ciclo estral.

Referências bibliográficas

- Baruselli PS, Ayres H, Souza AH, Martins CM, Gimenes LU, Torres-Júnior JRS.** 2006. Impacto da IATF na eficiência reprodutiva em bovinos de corte. *Anais do 2º Simp Int Reprod Anim Apl*, 1:113-132.
- Kastelic JP, Knopf L, Ginther OJ.** 1990. Effect of day of prostaglandin treatment on selection and development of the ovulatory follicle in heifers. *Anim Reprod Sci*, 23:169-180.
- Wiltbank MC, Shiao TF, Bergfelt DR, Ginther OJ.** 1995. Prostaglandin F_{2a} receptors in the early bovine corpus luteum. *Biol Reprod*, 52:74-78.

Palavras-chave: (Cloprostenol sódico, luteólise, corpo lúteo, progesterona).

Keywords: (Sodium cloprostenol, luteolysis, corpus luteum, progesterone).



Comparação de diferentes protocolos hormonais para inovação de embriões em vacas holandesas repeat-breeders em lactação

Comparison of different hormonal synchronization protocols for embryo transfer in dairy repeat-breeders cows

C.A. Rodrigues^a, A.A. Teixeira^{ab}, R.F. Mancilha^a, A.H. Souza^b, P.S. Baruselli^b

^aClínica Veterinária SAMVET de São Carlos Ltda, CEP 13.570-390 São Carlos, Brasil

^bDepartamento de Reprodução Animal, FMVZ-USP, CEP 05508-000 São Paulo, Brasil

E-mail: carlos.samvet@terra.com.br; barusell@usp.br

Introdução

O objetivo do presente estudo foi comparar a administração de uma única dose de prostaglandina (PGF) associada à detecção de estro com um protocolo de sincronização da ovulação para inovação de embriões em tempo fixo. Outro objetivo foi avaliar a taxa de prenhez de embriões fresco ou congelado em receptoras holandesas de alta produção.

Material e Métodos

Vacas holandesas em lactação com número de inseminações ≥ 3 ou dias em lactação (DEL) ≥ 200 foram destinadas a um dos três tratamentos de acordo com a presença de CL: G-PGF+Estro) vacas com presença de CL, receberam 150 μ g de d-cloprostenol i.m no Dia 0 e detecção de estro do segundo ao quinto dia após a administração de PGF. Os embriões foram transferidos sete dias após o estro (n=234). As fêmeas do G-Nor+CL (n=221, com presença de CL) e G-Nor-CL (n=221, ausência de CL) receberam implante auricular de norgestomet juntamente com 2 mg de Benzoato de estradiol (BE) e 50 mg de progesterona i.m no Dia 0. No Dia 8, o implante foi retirado e foi administrado 400 UI de eCG i.m, 150 μ g de d-cloprostenol i.m e 0,5 mg de cipionato de estradiol i.m. Não houve detecção de estro, e o dia do estro foi considerado arbitrariamente o Dia 10. Os embriões foram transferidos no Dia 17. Todas as receptoras foram avaliadas por exame ultrassonográfico e somente as que apresentavam > 1CL ou um CL simples de diâmetro ≥ 15 mm receberam um embrião por método não-cirúrgico. O diagnóstico de prenhez foi efetuado por ultra-sonografia 23 dias após a inovação dos embriões. Os dados foram analisados por regressão logística com PROC GENMOD do SAS.

Resultados e Discussão

A proporção de receptoras transferidas/tratadas diferiu significativamente ($P < 0,05$) entre os três grupos sendo que, o G-Nor+CL obteve a maior taxa de aproveitamento (76.5%) contra 35.9% do G-PGF+Estro e 62.4% do G-Nor-CL. A taxa de prenhez (prenhes/tratadas) para cada grupo foi de 18.3% para o G-PGF+Estro, 31.7% para o G-Nor+CL e de 23.4% para o G-Nor-CL, sendo significativamente maior ($P < 0,05$) no G-Nor+CL que nos outros dois grupos. As fêmeas do G-PGF+Estro apresentaram número médio de CL significativamente maior ($1.19 \pm 0,06$) que as dos G-Nor+CL ($0.98 \pm 0,06$) e G-Nor-CL ($0.92 \pm 0,07$). A área média do CL também foi maior para o G-PGF+Estro ($4.2 \pm 0.10 \text{mm}^2$) que para o G-Nor+CL ($3.7 \pm 0.08 \text{mm}^2$) e G-Nor-CL ($3.6 \pm 0.08 \text{mm}^2$). Não houve efeito significativo do tipo de embrião (fresco ou congelado) na taxa de concepção, sendo que o grupo que recebeu embrião congelado apresentou taxa de concepção de 39.2% e o fresco de 44.7%. Em conclusão, o protocolo hormonal utilizando BE, implante auricular de norgestomet e eCG aumentou a proporção de receptoras aproveitadas para inovação e aumentou a taxa de prenhez em vacas de leite repeat breeder de alta produção (≥ 3 inseminações). Além disso, os protocolos permitem a inovação em tempo fixo, sem necessidade de detecção do estro, facilitando o manejo reprodutivo das receptoras de embrião.

Agradecimento: Fazenda Agrindus e Intervet

Palavras-chave: Vacas leiteiras, transferência de embrião, receptora de embrião, eCG, sincronização.

Keywords: Dairy cattle, embryo transfer, embryo recipient, eCG, synchronization.



Efeito do benzoato ou do valerato de estradiol associados a implantes de norgestomet novos ou previamente utilizados em protocolos de IATF para vacas Holandesas de alta produção

Effect of oestradiol benzoate or valerate associated with either new or previously used norgestomet implants in FTAI protocols for high producing Holstein cows

L.U. Gimenes¹, A.H. Souza¹, C.L. Adam², P.S. Baruselli¹

¹Departamento de Reprodução Animal-FMVZ-USP-SP, ²Agropecuária Randon-Vacaria-RS
E-mail: barusell@usp.br

Introdução

Diversos protocolos hormonais têm sido desenvolvidos a fim de aumentar a eficiência reprodutiva em rebanhos leiteiros. Desta maneira, o objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito do benzoato ou do valerato de estradiol associados a implantes de norgestomet novos ou previamente utilizados, na dinâmica folicular de vacas Holandesas de alta produção.

Material e Métodos

Foram utilizadas 32 vacas da raça Holandesa, com $187,2 \pm 23,4$ dias em lactação, produção de leite de $30,1 \pm 1,9$ litros/dia e condição corporal $3,0 \pm 0,1$, mantidas em free stall na Agropecuária Randon, localizada em Vacaria – RS. Em dia aleatório do ciclo estral (D0), os animais foram divididos em quatro grupos (n=8/ grupo) de acordo com o número de utilizações do implante auricular de norgestomet (novo vs. usado; Crestar®, Intervet, Brasil) e com a fonte de estradiol empregada no início do tratamento (benzoato de estradiol - BE - vs. valerato de estradiol - VE). A permanência dos implantes nos grupos que receberam BE (Estrogin®, Farmavet, Brasil) no D0 foi de 8 dias, e nos grupos VE, de 9 dias. No momento da remoção dos implantes, foram administrados 400UI de eCG (Folligon®, Intervet, Brasil) além de 150µg de d-cloprostenol (Preloban®, Intervet, Brasil) em todos os grupos. 48 horas após a retirada foram administrados 200µg de gonadorelina (Fertagyl®, Intervet, Brasil) e, concomitantemente, os animais foram inseminados. Foram realizados exames ultra-sonográficos a cada 24 horas durante a vigência dos implantes, e a cada 12 horas a partir da administração de GnRH até a detecção da ovulação. Foram também verificadas as concepções resultantes de cada tratamento 30 dias após a inseminação. Para a análise estatística utilizou-se regressão logística (PROC GENMOD do SAS), e para a determinação da dispersão dos momentos de emergência folicular e ovulação, empregou-se o Teste de Bartlett. Para avaliação de prenhez, utilizou-se o Teste Exato de Fisher.

Resultados e Discussão

Não se verificaram interações ($P > 0,05$), sendo os efeitos principais para os tratamentos com Crestar novo vs. utilizado e BE vs. VE, respectivamente: momento da emergência folicular ($3,6 \pm 0,3$ d vs. $3,9 \pm 0,5$ d; $3,2 \pm 0,4^A$ d vs. $4,3 \pm 0,3^B$ d), diâmetro do folículo ovulatório 48 h após a remoção dos implantes ($17,1 \pm 0,8$ mm vs. $14,8 \pm 0,9$ mm; $16,5 \pm 1,0$ mm vs. $15,7 \pm 0,8$ mm), momento da ovulação ($64,8 \pm 3,1^a$ h vs. $74,5 \pm 2,4^b$ h; $70,2 \pm 2,5$ h vs. $68,1 \pm 3,6$ h), taxa de ovulação [93,8% (15/16) vs. 75,0% (12/16); 81,3% (13/16) vs. 87,5% (14/16)] e concepção ao tratamento [50,0% (8/16) vs. 25,0% (4/16); 37,5% (6/16) vs. 31,3% (5/16)]. Conclui-se que, em vacas Holandesas de alta produção, o uso de valerato de estradiol tendeu ($P=0,1$) a atrasar o dia da emergência folicular. Além disso, verificou-se efeito do número de usos do implante auricular de norgestomet no momento de ovulação, o qual ocorreu mais tardiamente quando se empregou implante previamente utilizado. Estudos com maior número de animais precisam ser conduzidos a campo para avaliar a eficiência dos protocolos propostos sobre as taxas de prenhez.

Agradecimentos: Intervet e Agropecuária Randon.

Palavras-chave: IATF, sincronização da ovulação, progestágenos, estradiol, Holandesa.

Keywords: FTAI, synchronization of ovulation, progestins, oestradiol, Holstein.



Efeito do cipionato de estradiol e da reutilização do CIDR na taxa de prenhez à IATF em vacas Holandesas de alta produção durante o verão

Effect of oestradiol cypionate and previously used CIDR devices on pregnancy rates after FTAI protocols in high producing Holstein cows during the summer

A.H. Souza¹, A.A. Teixeira¹, C.A. Rodrigues², L.U. Gimenes¹, H. Ayres¹, P.S. Baruselli¹

¹Departamento de Reprodução Animal-FMVZ-USP-SP, ²SAMVET-São Carlos - SP
E-mail: barusell@usp.br

Introdução

Vacas de leite de alta produção apresentam baixas concentrações de hormônios esteróides. Menores níveis de estradiol periovulatório podem diminuir a eficiência do transporte espermático ou afetar o ambiente uterino. Portanto, este experimento foi delineado para avaliar o efeito da adição do cipionato de estradiol (ECP®) no momento da retirada dos dispositivos intravaginais de progesterona (CIDR®) novos ou previamente utilizados por 8 dias, na taxa de prenhez de vacas Holandesas de alta produção.

Material e Métodos

Foram utilizadas 181 vacas em lactação da raça Holandesa, com $196,1 \pm 10,8$ dias em lactação, mantidas em *free-stalls* na Agropecuária Agrindus, Descalvado-SP. O período experimental foi de Janeiro a Fevereiro de 2007. Em dia aleatório do ciclo estral (D0), os animais foram divididos em quatro grupos em um delineamento 2x2 fatorial (CIDR novo vs. usado X com vs. sem ECP na retirada do CIDR). No D0, todos animais recebem 2mg de benzoato de estradiol (BE, Estrogin®, Farmavet, Brasil); metade dos animais receberam um dispositivo intravaginal de progesterona (CIDR, Pfizer, Brasil) novo e a outra metade dos animais um CIDR previamente utilizado por 8 dias. No momento da remoção dos dispositivos intravaginais (D8), foram administrados 400UI de eCG (Novormon®, Intervet, Brasil) e 25mg de PGF2 α (Lutalyse®, Pfizer, Brasil) em todas as vacas. Ainda, no D8, metade dos animais recebeu 1mg de cipionato de estradiol (ECP®, Pfizer, Brasil) e 48 horas após a retirada do dispositivo intravaginal foram administrados 200 μ g de gonadotelina (Fertagyl®, Intervet, Brasil). A inseminação artificial foi realizada 54 horas após a retirada do dispositivo. As taxas de concepção foram verificadas por meio de exames ultra-sonográficos 30 dias após a inseminação. Para a análise estatística utilizou-se regressão logística (PROC GLIMMIX do SAS), e vaca foi tratada no modelo estatístico como variável aleatória. Informações de dias em lactação, número de IAs, número de lactações de cada animal foram utilizadas como covariáveis no modelo.

Resultados e Discussão

Não se verificaram interações ($P > 0,05$), sendo os efeitos principais para os tratamentos com CIDR e ECP os seguintes: [CIDR novo=12,9% (12/93)^A vs. CIDR usado=22,7% (20/88)^B; Com ECP=18,5% (17/92) vs. Sem ECP=16,9% (15/89)]. Em geral as taxas de concepção foram baixas, provavelmente, devido ao estresse calórico verificado no verão. A tendência de melhora nas taxas de concepção no Grupo CIDR re-utilizado foi inesperada; mas, provavelmente, esses resultados podem ser devido às menores concentrações de P4 circulante nas vacas tratadas com CIDR re-utilizado, o que pode ter aumentado o a frequência dos pulsos de LH e o crescimento folicular em vacas de leite sob estresse térmico. Conclui-se que, em vacas Holandesas de alta produção sincronizadas no verão, o uso de cipionato de estradiol no final do protocolo não melhorou as taxas de concepção. Além disso, verificou-se que o CIDR utilizado por 8 dias pode ser uma boa opção em protocolos de IATF para vacas de leite de alta produção. Mais experimentos são necessários para se verificar a repetibilidade destes achados.

Agradecimentos: Pfizer e Agropecuária Agrindus.

Palavras-chave: dispositivos intravaginais, estradiol, Holandesa, IATF.

Keywords: intravaginal devices, estradiol, Holstein, FTAI.



Efeito do tratamento com Acetato de Melengestrol associado ao Cipionato de Estradiol nas taxas de prenhez ao longo de 70 dias de estação de monta em vacas Nelore pós-parto

Effect of treatment with Melengestrol Acetate combined with Estradiol Cypionate on pregnancy rates along a 70 days breeding season in postpartum Nelore cows

O.G. Sá Filho¹, R.L. Valarelli², R.F.G. Peres¹, J.L.M. Vasconcelos¹

¹FMVZ/UNESP, Botucatu, Brasil; ²Pfizer Saúde Animal, Brasil.
E-mail: vasconcelos@fca.unesp.br

Introdução

O acetato de melengestrol (MGA) é um progestágeno oral utilizado com eficácia na manipulação do ciclo estral em vacas e novilhas (Kojima et al., 2000; Patterson & Corah, 1992). O objetivo desse experimento foi avaliar o efeito do tratamento com acetato de melengestrol (MGA; MGA Premix[®], Pfizer Saúde Animal, Brasil) associado ao cipionato de estradiol (ECP[®], Pfizer Saúde Animal, Brasil) nas taxas de prenhez (TP) à monta natural em 10, 40 e 70 dias de estação de monta (EM) em vacas Nelore pós-parto.

Material e Métodos

Duzentas e quatro vacas Nelore pós-parto foram aleatoriamente divididas em dois tratamentos: Controle (nenhum tratamento; n=102) ou MGA+ECP (adição de MGA no suplemento mineral entre os dias -14 e -1, e injeção i.m. de 2,0 mg de ECP no dia -9; n=102). No dia 0, as vacas do tratamento MGA+ECP foram submetidas a remoção de bezerras por 48 horas e as vacas de ambos os experimentos foram alocadas com touros Nelore (proporção 1/15) durante 70 dias. Os diagnósticos de gestação foram realizados por ultrassonografia nos dias 40, 70 e 100 da EM para determinar as TP em 10, 40 e 70 dias de EM. Os dados foram analisados pelo teste do Qui-quadrado.

Resultados e Discussão

O tratamento MGA+ECP aumentou a TP em 10 dias (12,7% vs. 4,9%; P<0,05) e tendeu a aumentar a TP em 40 dias de EM (47,1% vs. 35,3%; P<0,1). Não houve efeito de tratamento na TP em 70 dias de EM (55,4% vs. 54,7%; P>0,1). Conclui-se que o tratamento MGA+ECP permite antecipar a concepção em vacas pós-parto, resultando em maior proporção de vacas prenhes no início da estação de monta.

Referências Bibliográficas

- Kojima, F.N. et al.** Development of an estrus synchronization protocol for beef cattle with short-term feeding of melengestrol acetate: 7-11 synch. **J. Anim. Sci.**, v.78, p.2186-2191, 2000.
- Patterson, D.J., Corah, L.R.** Evaluation of a melengestrol acetate and prostaglandin F_{2α} system for the synchronization of estrus in beef heifers. **Theriogenology**, v.38, p.441-447, 1992.

Palavras-chave: Acetato de melengestrol, cipionato de estradiol, monta natural.

Keywords: Melengestrol acetate, estradiol cypionate, natural service.



Sincronização de estro com Acetato de Melengestrol e Cipionato de Estradiol em novilhas Nelore e vacas Angus solteiras

Synchronization of estrous with Melengestrol Acetate and Estradiol Cypionate in Nelore heifers and Angus dry cows

R.F.G. Peres¹, O.G. Sá Filho¹, R.L. Valarelli², J.L.M. Vasconcelos¹

¹FMVZ/UNESP, Botucatu, Brasil; ²Pfizer Saúde Animal, Brasil.
E-mail: vasconcelos@fca.unesp.br

Introdução

O acetato de melengestrol (MGA) é um progestágeno oral utilizado com eficácia na manipulação do ciclo estral em vacas e novilhas (Kojima et al., 2000; Patterson & Corah, 1992). Dois experimentos foram realizados para avaliar o desempenho reprodutivo de vacas Angus solteiras e novilhas Nelore tratadas com MGA (MGA Premix[®], Pfizer Saúde Animal, Brasil) associado a cipionato de estradiol (ECP[®], Pfizer Saúde Animal, Brasil).

Material e Métodos

Experimento 1: avaliaram-se as taxas de detecção de estro (TDE), concepção (TC) e prenhez (TP) em estação de monta (EM) de 10 dias de duração em vacas Angus solteiras tratadas com MGA. Experimento 2: avaliaram-se TDE, TC e TP nos primeiros 10 dias da EM e a TP em 30 dias de EM em novilhas Nelore. Em ambos os experimentos, os animais foram aleatoriamente divididos em dois tratamentos: Controle (nenhum tratamento; Exp.1: n=60; Exp.2: n=180) ou MGA+ECP (adição de MGA no suplemento mineral entre os dias -14 e -1, e injeção i.m. de 2,0 mg de ECP no dia -9; Exp.1: n=67; Exp.2: n=321). A observação de estro iniciou-se no dia 0 e os animais detectados em cio foram inseminados 12 horas após o estro. Os dados foram analisados pelo teste do Qui-quadrado.

Resultados e Discussão

Experimento 1: o tratamento MGA+ECP aumentou a TDE (62,7% vs. 36,7%; P<0,01) e tendeu a aumentar a TP (37,3% vs. 21,7%; P<0,1). O efeito do tratamento MGA+ECP na TP foi principalmente devido ao aumento na TDE, uma vez que não se observou efeito na TC (59,1% vs. 59,5% para os tratamentos Controle e MGA+ECP, respectivamente). Experimento 2: o tratamento MGA+ECP aumentou a TDE (64,2% vs. 30,6%; P<0,01) e a TP nos primeiros 10 dias da EM (29,3% vs. 15,0%; P<0,01). O efeito do tratamento MGA+ECP na TP foi principalmente devido ao aumento na TDE, uma vez que não se observou efeito na TC (49,1% vs. 45,6% para os tratamentos Controle e MGA+ECP, respectivamente). A TP em 30 dias de EM foi maior nas novilhas tratadas com MGA+ECP em relação às novilhas do tratamento Controle (55,4% vs. 35,6%; P<0,01). Conclui-se que o tratamento MGA+ECP não alterou a TC, mas melhorou a TDE e a TP, permitindo maior quantidade de animais prenhes em menor período.

Referências Bibliográficas

- Kojima, F.N. et al.** Development of an estrus synchronization protocol for beef cattle with short-term feeding of melengestrol acetate: 7-11 synch. **J. Anim. Sci.**, v.78, p.2186-2191, 2000.
Patterson, D.J., Corah, L.R. Evaluation of a melengestrol acetate and prostaglandin F_{2α} system for the synchronization of estrus in beef heifers. **Theriogenology**, v.38, p.441-447, 1992.

Palavras-chave: Acetato de melengestrol, cipionato de estradiol, vacas solteiras, novilhas.

Keywords: Melengestrol acetate, estradiol cypionate, dry cows, heifers.



Utilização do protocolo Crestar® e avaliação ovariana em novilhas azebuadas criadas a pasto no sul do Estado do Pará

Use of the protocol CRESTAR® and ovarian evaluation in crossbred Zebu heifers created in pasture in the south of the state of Pará

C.M. Oliveira¹, A.B. Oliveira², T.V. Cavalcante¹, E.M. Ramos¹, M. Arrivabene¹

¹Esc. Med. Vet. e Zootec. /UFT-Universidade Federal do Tocantins, Campus Araguaína

²Médico Veterinário, Autônomo, Redenção - PA.

E-mail: claumarinovic@yahoo.com.br

Introdução

A inseminação artificial (IA) é uma biotecnologia fundamental para o melhoramento genético do rebanho bovino. Entretanto um dos maiores fatores que limitam o desempenho reprodutivo de rebanhos inseminados artificialmente é a falha na detecção do cio, a qual requer tempo e pessoal adequadamente treinado. Outro fator a ser analisado é a maturidade sexual da fêmea bovina que está diretamente relacionada com a puberdade, que é definida como a idade quando ocorre a primeira ovulação e a fase luteal. O objetivo deste trabalho foi apresentar resultados obtidos com a inseminação artificial em tempo fixo e prévia avaliação ovariana, utilizando o protocolo Crestar® em novilhas criadas no sul do Pará.

Material e Métodos

O experimento foi realizado no período de dezembro 2006, utilizando 251 novilhas azebuadas com idade entre 18 a 24 meses, com condição corporal homogênea, que foram divididas em dois grupos. Aplicou-se ANOVA seguida do teste de Tukey ($p > 0,05$). No Grupo 1 ($n=166$) não se realizou a avaliação ovariana antes de entrar no programa. No Grupo 2 ($n=85$), as novilhas foram submetidas a uma prévia avaliação ovariana através da utilização do ultrassom (Modelo Falcom 100®, Pie medical) e todas apresentavam corpo lúteo. Ambos os lotes foram submetidos ao protocolo CRESTAR®. No Dia 0 as fêmeas receberam o implante P4 auricular (Crestar®, Intervet, Brasil) mais 2 ml, IM, de Benzoato de estradiol (Ric Be®, Syntex, Brasil). No Dia 8 foram retirados os implantes e receberam 1,5 ml, IM, de eCG (Folligon®, Intervet, Brasil) e 2,0 mL de PGF2 α (Preloban®, Intervet, Brasil) e, no Dia 9, 24 horas após a retirada do implante, mais 1 ml, IM, de Benzoato de Estradiol (Ric Be®, Syntex, Brasil). A inseminação artificial foi realizada no Dia 10, 56 h após a retirada do implante auricular. O diagnóstico de gestação foi realizado com auxílio de ultrassom 30 dias após a inseminação artificial em tempo fixo.

Resultados e Discussão

A taxa de prenhez do Grupo 1 foi de 36% ($n=60/106$) e do Grupo 2, de 50% ($n=43/85$). Assim, a utilização de protocolos em novilhas, que não necessitem de identificação de cios, mostrou-se uma boa alternativa para o incremento da utilização da inseminação artificial nos rebanhos, principalmente devido à sua facilidade de execução, dispensando a observação de cio. Além disso, observou-se que as novilhas sincronizadas com Crestar e que apresentavam CL (G2), apresentaram uma tendência para melhor taxa de gestação, indicando que avaliação prévia do ovário contribuiu para obtenção de melhores resultados, já que zebuínos são mais tardios e com o auxílio da terapia hormonal e avaliação ovariana reduzimos a taxa de prenhez para 18 a 24 meses.

Referências bibliográficas

- Barros, C.M.; Ereno, R.L. Avanços em tratamentos hormonais para a inseminação artificial com tempo fixo (IATF) em bovinos de corte. *Acta Scientiae Veterinariae*, v.32, p.23-24, 2004. Suplem.
Murta, J.E.J.; Andrade, V.J.; Pereira, J.C.C.; Vale Filho, V.R. Taxas de prenhez em vacas Nelore com utilização do protocolo crestar® para sincronização do cio. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, v.25, n.1, p.30-35, jan./mar. 2001.

Palavras-chave: IATF, sincronização de cio, novilhas.

Keywords: Timed artificial insemination, estrous synchronization, heifers.



Clonagem e expressão dos hormônios ovarianos GDF-9 e BMP-5 de bovino em sistema procariótico (*E. coli*)

Cloning and expression of cattle GDF-9 and BMP-15 hormones in prokaryotic (E. coli) system

M.S. Duarte¹, E.A. Castro^{1,3}, M.M. Franco^{1,2}, E.O. Melo^{1,2}

¹Embrapa Cenargen, ²Pós-grad. Ciência Animais da UnB, ³UNICEUB.
E-mail: eom@cenargen.embrapa.br

Introdução

O desenvolvimento folicular e a taxa de ovulação são determinados por uma complexa troca de sinais endócrinos, parácrinos e autócrinos envolvendo o ovócito e as células somáticas adjacentes (Moore et al., 2004). Dentre os fatores secretados pelo ovócito, com efeito parácrino sobre as células do folículo, podemos destacar os hormônios GDF-9 ("Growth Differentiation Factor-9") e BMP-15 ("Bone Morphogenetic Protein-15"). Esses hormônios participam do controle da proliferação das células da granulosa e da teca em mamíferos (Shimasaki et al., 2004). A inativação do GDF-9 ("Knockout") em camundongos leva a uma infertilidade relacionada à perda da capacidade de ativação do crescimento dos folículos primordiais (Dong et al., 1996). Foi observada a ocorrência de mutações naturais na sequência do GDF-9 e BMP-15, relacionadas com aumento da taxa de ovulação em ovinos (Hanrahan et al., 2004). O GDF-9 e BMP-15 são expressos em todos os estágios do crescimento folicular em humanos, roedores, ovinos e bovinos (Juengel e McNatty, 2005). Apesar dos estudos realizados, ainda pouco se conhece sobre as atividades do GDF-9 e BMP-15 durante a foliculogênese e ovulação. Esse trabalho tem como objetivo gerar ferramentas para se estudar a expressão e as funções desses hormônios secretados pelos ovócitos.

Material e Métodos

Para clonagem das sequências que codificam o pré-peptídeo e o peptídeo maduro do GDF-9 e BMP-15 de bovino, ovócitos de ovários obtidos em abatedouros foram submetidos à extração de RNA total com o reagente Trizol (Invitrogen). A partir dos RNAs foram sintetizados os cDNAs por meio da enzima transcriptase reversa (Superscript II – Invitrogen). Os cDNAs foram usados como molde para amplificação, por PCR, das sequências dos pré-peptídeos e peptídeos-maduro do GDF-9 e BMP-15. Os fragmentos amplificados foram clonados no vetor pGEM-Teasy (Promega) e posteriormente no vetor pET21 (Novagen) para expressão em bactérias *E. coli* BL21. Todas as construções foram confirmadas quanto a sua integridade, e fase de leitura das fusões por sequenciamento. A expressão das proteínas foi induzida em culturas em fase de crescimento com 0,5mM de IPTG (Sigma) por 1, 2, 3 e 4 horas a 37°C, sob agitação vigorosa, e analisadas por eletroforese em géis de poliacrilamida 12%. As culturas com bons índices de indução foram usadas para produzir extratos dos quais foram purificadas as proteínas de interesse por meio de cromatografia de afinidade, usando colunas de Níquel (Amersham). As proteínas purificadas foram usadas para imunização de coelhos com inoculação subcutânea >100µg de PTN/dose e três doses mensais.

Resultados e Discussão

Os fragmentos dos genes GDF-9 e BMP-15 foram clonados no vetor pGEM-Teasy e posteriormente transferidos para o vetor pET21 que possui um promotor de bacteriófago T7 regulado pelo operon *LacI* induzido por IPTG. Foram obtidas colônias da cepa BL21 contendo as sequências que codificam as regiões do pré-peptídeo e do peptídeo-maduro dos genes GDF-9 e BMP-15 fusionados em fase com uma cauda de 6 histidinas. A cauda de histidina possibilita a purificação das proteínas desejadas a partir do extrato de proteínas bacterianas usando uma coluna de cromatografia por afinidade com níquel. As células em crescimento exponencial (~10⁸ células/ml) foram induzidas com IPTG obtendo-se uma indução ótima a partir de 3h. As proteínas induzidas, com peso molecular esperado, foram purificadas dos extratos bacterianos por cromatografia de afinidade ou diretamente de géis preparativos de poliacrilamida. As proteínas purificadas foram então usadas para imunizar coelhos em três doses mensais. Os anticorpos gerados serão utilizados no estudo da expressão dos hormônios GDF-9 e BMP-15 em folículos ovarianos e em sistema *in vitro* de expressão.

Referências Bibliográficas

- Dong J, Albertini DF, Nishimori K, Kumar TR, Lu N, Matzuk MM. *Nature* v.383, p.531-535, 1996.
Hanrahan JP, Gregan SM, Mulsant P, Mullen M, Davis GH, Powell R, Galloway SM. *Biol Reprod* v.70, p.900-9, 2004.
Juengel JL, McNatty KP. *Hum Reprod Update* v.11, p.143-60, 2005.
Shimasaki S, Moore RK, Otsuka F, Erickson GF. *Endocr Rev* 25(1):72-101, 2004.

Palavras-chave: desenvolvimento folicular, bovino, GDF-9, BMP-15.

Keywords: follicle development, cattle, GDF-9, BMP-15.



Testes funcionais de membrana espermática em sêmen criopreservado de tourinhos Tabapuã aos dois anos de idade selecionados pela CAP e índice de prenhez

Sperm membrane functional tests in frozen semen of two years old Tabapuã bulls selected by BSE-Z and pregnancy rates

L.L. Emerick¹, V.R.Vale Filho², J.A.M. Martins¹, T.G. Leite³, P.E.M. Gonçalves³, V.J. Andrade², L.S.A. Camargo², J.C.Dias¹, G.S.S. Corrêa², L.A.G. Nogueira², I.M. Folhadella¹, A.S. Felipe-Silva³

¹Mestre em Méd.Vet. - EV-UFGM, MSZoot. - UFC - bolsista do CNPq; e-mail: vejoan@terra.com.br; ²Professor da EV-UFGM, Pesquisador EMBRAPA - Gado de Leite; ³ Aluno de pós-graduação EV-UFGM.

Introdução

Variabilidade para índices de prenhez (IP) em sêmen criopreservado, mesmo com valores satisfatórios para motilidade e vigor pós-descongelamento (Mot-pós), tem sido observada na inseminação artificial (IA), mas essencialmente em transferência de embriões (TE) ou fertilização in vitro (FIV). Apesar do avanço nos meios crioprotetores de sêmen bovino, um melhor conhecimento quanto à integridade (estrutural e funcional) das membranas espermáticas pós-congelamento faz-se necessário (Feliciano Silva, 1998). O objetivo desse estudo foi verificar a relação entre a Mot-pós do sêmen de tourinhos Tabapuã, aos dois anos de idade, com testes funcionais de membranas espermáticas e com o IP na primeira IA.

Material e Métodos

O sêmen criopreservado (CBRA, 1998) de 12 tourinhos Tabapuã, criados a pasto, selecionados pela CAP > 60 pontos (Vale Filho, 1989) foi descongelado (38°C/30") e submetido a testes funcionais para qualidade de membranas espermáticas e ao IP. Para o teste de termorresistência lento e rápido (TTRr e TTRI) procedeu-se a incubação do sêmen (45°C/30min e 38°C/4h). No teste hiposmótico (Thos), o sêmen pós-descongelamento foi incubado (citrato de sódio e frutose a 100 mOsm/ml) por uma hora. As alterações na região da cauda, pós-incubação, foram subtraídas daquelas presentes no sêmen antes da incubação (microscopia de contraste de fase) (Ferreira, 2001). Para a reação acrossômica induzida pela heparina, procedeu-se a incubação do sêmen em dois tratamentos (T1 = sêmen+Talp hepes+Heparina; T2 = T1+Lisofosfatidilcolina - LPC). Usou-se o azul de tripan e giemsa (Feliciano Silva, 1998) para a interpretação da reação acrossômica. Para o IP realizou-se a IA de quatro novilhas Nelore por touro, com sincronização (PGF_{2α} 2x/5 dias) e observação de cio. A divisão dos grupos foi realizada conforme a média da Mot-pós, sendo separados em superior e inferior a 40% de espermatozoides móveis. A comparação entre os grupos foi realizada pelo teste de Fisher, segundo Sampaio (2002).

Resultados e Discussão

A tab. 1 mostra que não houve diferença (p > 0,05) entre T1, T2, e IP nos grupos avaliados. Para o Thos e TTR (rápido e lento), houve diferença (p < 0,05), mostrando que para tais avaliações houve dependência da Mot-pós. A reação acrossômica no T1 e T2, e o IP não foram relacionados com a Mot-pós, utilizando as recomendações do CBRA (1998). O Thos, o TTRr e o TTRI foram relacionados positivamente com a Mot-pós.

Tabela 1 – Viabilidade espermática de tourinhos Tabapuã aos dois anos de idade com motilidade pós-descongelamento (Mot-pós) superior ou inferior a 40% (vigor 5), nos testes funcionais e no IP

Grupos	TTRr (%)	TTRI (%)	Thos (%)	T1 (%)	T2 (%)	IP (%)
Mot Pós > 40	21,0 ^a	30,0 ^a	28,1 ^a	10,7 ^a	27,8 ^a	42,5 ^a
Mot Pós < 40	2,6 ^b	5,7 ^b	18,8 ^b	19,1 ^a	20,1 ^a	50,0 ^a

Letras diferentes nas colunas (p < 0,05). Mot -pós: motilidade pós-descongelamento; TTRr/TTRI: testes de termorresistência rápido e lento; T1: reação acrossômica induzida pela heparina; T2: T1+LPC; Thos: teste hiposmótico; IP: índice de prenhez na primeira inseminação artificial.

Concluiu-se que os testes hiposmótico e de termoresistência (rápido e lento) são adequados preditores da Mot-pós em tourinhos Tabapuã, aos dois anos de idade.

Referências Bibliográficas

- CBRA. *Procedimentos para exame andrológico e avaliação do sêmen animal*. BH: CBRA, 1998. 49 f.
Feliciano Silva, A.E.D. *RAI e fertilidade de touros*. Brasília: Embrapa Rec. Gen. e Biotec., 1998. 38p. (Doc. 35).
Ferreira, A.D.S. *Características reprodutivas e congelamento do sêmen de reprodutores das raças Alpina e Saanen submetidos ao manejo do fotoperíodo*. 2001. 51 f. (MS em Zootec). UFV. Viçosa..
Sampaio, I.B.M. *Estatística aplicada à experimentação animal*. Belo Horizonte: FEP-MVZ, 2002.
Vale Filho, V.R. Padrões de sêmen bovino para o Brasil. In: VIII CBRA, BH, v. 1, p. 94-118, 1989.

Palavras-chave: avaliação espermática, CAP, criopreservação do sêmen, acrosoma, touros Tabapuã.

Keywords: sperm evaluation, BSE-Z, semen cryopreservation, acrosome, Tabapuã bulls.

Avaliação da integridade das membranas espermáticas por três métodos, em sêmen criopreservado de tourinhos Tabapuã aos dois anos de idade, selecionados pela CAP

Evaluation of sperm membrane integrity by three methods in frozen semen in two years old Tabapuã bulls selected by BSE-Z

V.R. Vale Filho², L.L. Emerick¹, L.S.A. Camargo², M.A. Silva², V.J. Andrade², P.E.M. Gonçalves³, J.A.M. Martins¹, T.G. Leite³, J.C. Dias¹, I.M. Folhadella¹, A. Ramos², S.R. Reis²

¹Mestre em Méd.Vet. - EV-UFGM, MSZoot.. UFC- bolsista do CNPq; e-mail: vejoan@terra.com.br;
²Professor da EV-UFGM, Pesquisador EMBRAPA - Gado de Leite; ³ Aluno de pós-graduação EV-UFGM

Introdução

O espermatozóide é uma célula complexa de alta especialização, podendo tornar-se incapaz para a fecundação, quando um ou mais aspectos bioquímicos ou morfológicos forem alterados. A avaliação de somente um destes parâmetros não dá garantia da condição de normalidade dos outros. Assim, o mais indicado é proceder-se uma análise multifatorial, para um diagnóstico com maior acuidade, quanto a real funcionalidade pós-congelação dos espermatozóides (JEYENDRAN et al., 1984). O objetivo desse trabalho foi avaliar a integridade funcional e estrutural da membrana plasmática do espermatozóide bovino, bem como a capacidade de reação do acrossoma "in vitro" e compará-los entre si, em tourinhos Tabapuã aos dois anos de idade criados, a pasto e selecionados pela CAP > 60 pontos.

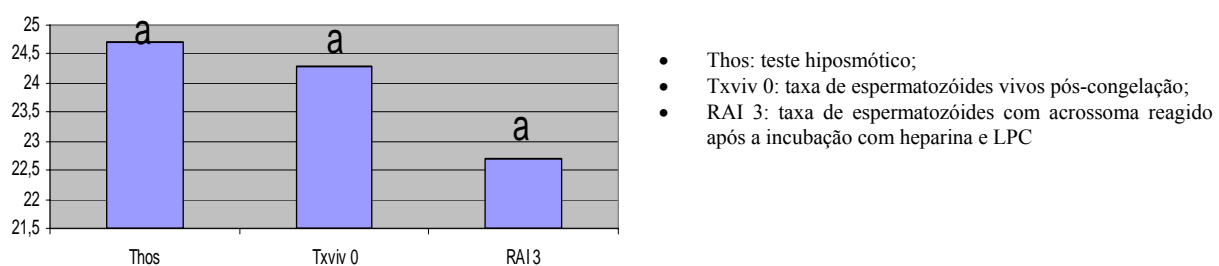
Material e Métodos

Foram usadas amostras de sêmen criopreservado de 12 tourinhos Tabapuã aos dois anos de idade selecionados pela CAP > 60 pontos (80,8 ± 13,0) (VALE FILHO; 1989), que obtiveram boa taxa de recuperação pós-descongelamento (Mot-pós ≥ 30%). Para o teste hiposmótico (Thos), que avalia a integridade funcional da membrana espermática, procedeu-se a incubação do sêmen, em solução de citrato de sódio e frutose, a 100 mOsm/mL, durante uma hora (JEYENDRAN et al., 1984). Para a reação acrossômica induzida (RAI), procedeu-se a incubação do sêmen com Talp-hepes + heparina + lisofosfatidilcolina (LPC), durante 4:15h (RAI 3). Os corantes azul de tripan e giemsa foram utilizados para interpretar a RAI 3 e avaliar a porcentagem de espermatozóides vivos no sêmen após a criopreservação (Txviv 0), verificando a integridade estrutural da membrana espermática (FELICIANO SILVA, 1998).

Resultados e Discussão

Os resultados da Fig. 1, mostram que, apesar dos três testes avaliarem parâmetros diferentes da membrana espermática, não houve diferença ($p > 0,05$) entre os mesmos.

Figura 1: Testes funcionais para avaliação da integridade das membranas espermáticas, do sêmen criopreservado de tourinhos Tabapuã aos dois anos de idade e selecionados pela CAP > 60 pontos



Conclui-se, então, que qualquer um dos testes avaliados pode ser utilizado em detrimento do outro.

Referências Bibliográficas

- Feliciano Silva, A.E.D. *RAI: método indicador de fertilidade de touros*. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 1998. 38p, (Embrapa Recursos Genéticos, Documentos, 35).
- Jeyendran, R.S., et al. Development of an assay to assess the human sperm membrane and its relationship to other semen characteristics. *J. Reprod. Fert.*, v. 70, p. 219-228, 1984.
- Vale Filho, V.R. Padrões de sêmen bovino, para o Brasil. In: VIII CBRA, BH, v.1, p. 94-118, 1989.

Palavras-chave: CAP, criopreservação do sêmen, reação acrossômica, teste hiposmótico, azul de tripan, Tabapuã.

Keywords: BSE-Z, Cryopreservation of semen, acrosome reaction, swelling test, Tabapuã bulls, trypan blue.



Efeitos da criopreservação sobre a motilidade e defeitos espermáticos no sêmen de tourinhos Tabapuã aos dois anos de idade criados a pasto e pré-selecionados pela CAP>60 pontos

Cryopreservation effects on sperm motility and defects of two years old Tabapuã bulls raised on pasture and pre-selected by Breeding Soundness Evaluation (BSE-Z>60 points)

V.J. Andrade², L.L. Emerick¹, V.R. Vale Filho², P.E.M. Gonçalves¹, J.A.M. Martins¹, G.L. Emerick³, J.E.J. Murta¹, G.S.S. Correa³, M.A. Silva², L.A.G. Nogueira², M.C. Anchieta³, T.G. Leite³

¹Mestre em Medicina Veterinária - EV-UFMG, bolsista do CNPq; e-mail: vejoan@terra.com.br ;

²Professor da EV-UFMG, UFF;

³ Alunos de pós-graduação.

Introdução

A demanda de sêmen criopreservado vem aumentando no Brasil na última década, tanto no uso da inseminação artificial, como na transferência de embriões e na fertilização “in vitro”. A utilização de sêmen criopreservado nem sempre traz índices satisfatórios de fecundação, devido às injúrias ocorridas nos espermatozoides durante os processos de congelamento e descongelamento do sêmen (RASUL et al., 2001). O objetivo deste trabalho foi avaliar as perdas na viabilidade dos espermatozoides de tourinhos Tabapuã aos dois anos de idade, durante o processo de criopreservação do sêmen, pela avaliação da motilidade retilínea progressiva e pelos defeitos espermáticos.

Material e Métodos

O sêmen de 12 tourinhos Tabapuã selecionados pelo CAP>60 pontos (80,8 ± 13,0) Vale Filho et al. (1989). O sêmen foi congelado em palhetas de 0,5 mL, utilizando-se o diluidor Nagase e Niwa (1964), com concentração de 20 x 10⁶ de espermatozoides viáveis pós-descongelamento. Avaliou-se a motilidade e o vigor espermático, tomando-se alíquotas em formol salino para o registro de defeitos morfológicos em microscopia de contraste de fase (CBRA, 1998).

Resultados e Discussão

Na Tab 1 observa-se que a criopreservação afetou a motilidade espermática e aumentou (P<0,05) os defeitos de acrossoma, de caudas dobradas, e defeitos menores, mesmo com sêmen de alto padrão de recuperação pós-congelamento (CBRA, 1998).

Tabela 1. Efeitos da criopreservação do sêmen sobre a motilidade e os defeitos espermáticos em tourinhos Tabapuã com dois anos de idade, criados a pasto e selecionados pelo CAP>60 pontos.

	Mot (%)	Dacros (%)	Cdob (%)	DM (%)	Dm (%)	DT (%)
Pré-cong	65,4(a)	1,0(a)	0,5(a)	10,6(a)	5,3(a)	16,0 (a)
Pós-cong	38,1(b)	6,0(b)	9,2(b)	11,5(b)	10,6(b)	22,1 (a)

CAP: classificação andrológica por pontos; Pré e Pós-cong: pré e pós-congelamento; Dacros: do acrossoma; Cdob: cauda dobrada; Mot: motilidade; DM: defeitos maiores; Dm: defeitos menores; DT: defeitos totais; Vigor (1-5) =5; Letras diferentes nas colunas (p<0,01).

Concluiu-se que as membranas plasmática (na porção da cauda) e acrossomais dos espermatozoides, foram danificadas no processo de criopreservação (P<0,01), refletindo na redução da motilidade espermática.

Referências Bibliográficas

CBRA. *Procedimentos para exame andrológico e avaliação do sêmen animal*. BH: CBRA, 1998. 49 f.

Rasul, Z., Ahmad, N.; Anzar, M. Changes in motion characteristics, plasma membrane integrity, and acrosome morphology during cryopreservation of buffalo spermatozoa. *American Society of Andrology*. V. 22, n. 2, p. 278-284, 2001.

Nagase, H.; Niwa, T. Deep freezing of bull semen. Factors affecting survival of spermatozoa. 5th ICAR, Trento, v.4, p.410-415, 1964.

Vale Filho, V.R. Padrões de semen bovino para o Brasil. In: VIII CBRA, BH, v. 1, p. 94-118, 1989.

Palavras-chave: avaliação espermática, CAP, criopreservação do sêmen, acrossoma, touros Tabapuã.

Keywords: BSE-Z, Cryopreservation of semen, defects of acrosome, sperm evaluation, Tabapuã bulls.



Influência da demecolcina durante a maturação *in vitro* de oócitos bovinos sobre a progressão meiótica nuclear

Influence of demecolcine during in vitro maturation of bovine oocytes on meiotic nuclear progression

N.Z. Saraiva, C.S. Oliveira, T.A.D. Tetzner, R. B. da Silva, E.G. Oliveira Júnior, F. Perecin, J.M. Garcia

DMVPRA-FCAV-UNESP, Jaboticabal - SP, Brasil.

E-mail: naiaravet@hotmail.com

Introdução

A maturação nuclear do oócito não é suficiente para resultar em subsequente desenvolvimento embrionário. Tentativas de sincronização entre maturação nuclear e citoplasmática têm sido feitas empregando-se agentes químicos que inibem a retomada da meiose. Foi verificado previamente que a demecolcina, agente anti-mitótico desestruturador de microtúbulos, é eficaz no bloqueio meiótico por até 16 horas de tratamento (SARAIVA et al., 2006). O objetivo deste trabalho foi avaliar a reversibilidade do bloqueio meiótico causado pela demecolcina, com retomada meiótica e progressão até metáfase II e a influência desse agente no momento de fecundação.

Material e Métodos

Oócitos bovinos foram maturados *in vitro* por 16 horas em meio TCM 199 suplementado com 10% SFB, 1,0µg/mL de FSH, 50µg/mL de hCG, 1,0µg/mL de estradiol, 0,20mM de piruvato, 83,4µg/mL de amicacina e demecolcina nas seguintes concentrações: 0 (controle); 0,025 e 0,05µg/mL. Em seguida, os oócitos foram removidos do meio contendo demecolcina e submetidos ao meio de maturação livre da droga, até os seguintes momentos: 22, 24, 26 e 28 horas, quando amostras de oócitos foram retiradas e esses foram desnudados em hialuronidase (2mg/mL), corados com 10µg/mL de Hoechst 33342 durante 15 minutos e avaliados quanto à progressão nuclear. Foram avaliados 99 a 143 oócitos por tratamento em cada momento, em três repetições, sendo os resultados submetidos à ANOVA e teste χ^2 , no programa SAS v.8.2 (P=0,05).

Resultados e Discussão

Os resultados obtidos quanto à média de oócitos em metáfase II (MII) nos diferentes tratamentos e momentos de avaliação são mostrados na tabela a seguir (Os dados são apresentados na forma de porcentagem).

Tempo (horas)	CATEGORIAS		
	Controle	0,025 µg/mL de demecolcina	0,05 µg/mL de demecolcina
22	83,1 (119/143)	79,0 (83/105)	79,8 (95/119)
24	75,0 (75/100)	79,8 (79/99)	81,7 (98/120)
26	84,0 (110/131)	82,5 (99/120)	82,0 (105/128)
28	81,4 (83/102)	82,8 (101/122)	79,2 (99/125)

Não se verificou diferença significativa entre os tratamentos e os diferentes momentos. Assim, concluímos que a despeito do bloqueio meiótico promovido pela demecolcina, não houve retardo na retomada da meiose e os oócitos progrediram normalmente até metáfase II, de forma semelhante ao grupo controle. Verificou-se a reversibilidade da ação desse agente na maturação oocitária e que a fecundação *in vitro* de oócitos expostos à demecolcina pode ser realizada de acordo com o procedimento padrão, ou seja, a partir de 22 horas de maturação *in vitro*. Mais estudos devem ser concentrados nessa área, para avaliação do desenvolvimento embrionário após a sincronização entre maturação nuclear e citoplasmática com o uso da demecolcina.

Referências bibliográficas

Saraiva, N.Z. et al. Efeitos da Demecolcina na Maturação Nuclear e Citoplasmática de Oócitos Bovinos. In: XX Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões (SBTE), 2006, Araxá. Acta Scientiae Veterinariae, 2006. v. 34. p. 298.

Palavras-chave: demecolcina, maturação *in vitro*, maturação nuclear.

Keywords: demecolcine, *in vitro* maturation, nuclear maturation.



Comparação entre a fertilidade do sêmen sexado e sêmen convencional

Evaluation between the fertility of the sexed semen and conventional semen

A. Bastos¹, C. Meirelles², M. S. Segui³, R. R. Weiss², L. E. Kozicki²

1. Empresa de Consultoria em Pecuária de Corte – VetMaxi. abastossouza@uol.com.br

2. Curso de Pós-graduação em Ciências veterinárias – Universidade Federal do Paraná
ciromeirelles@bol.com.br, rrweiss@bol.com.br, kozicki@ufpr.br

3. Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba. msegu@uol.com.br

Introdução

A técnica de citometria de fluxo tem sido utilizada com sucesso para sexagem de espermatozoides, porém, na inseminação artificial de novilhas, esse sêmen tem apresentado taxas de fertilidade menores em comparação com o sêmen convencional (Bodmer *et al.*, 2005). O objetivo desse experimento é avaliar a taxa de prenhez de um sêmen comercial sexado em comparação com um sêmen convencional.

Material e métodos

Para o experimento foram selecionadas 245 vacas Nelore com média de 24 meses de idade. A inseminação seguiu o método convencional sendo realizada 12 horas após a observação do cio com uso de rufiões. Em 126 vacas foi utilizado o sêmen sexado para fêmeas (lote S); nas demais 119 vacas, sêmen comum (lote C), ambos sêmen comercial proveniente de touros diferentes. A concentração do sêmen sexado era de 2 milhões de células viáveis contra mínimo de 6 milhões no sêmen convencional. O diagnóstico de prenhez foi obtido por palpação retal e a análise dos dados feita segundo o método do Qui-quadrado ($p < 0,05$).

Resultados e discussão

No lote S foram obtidas 43 vacas prenhes (34,1%) contra 77 (64,7%) do lote C; uma diferença de 30,6% entre as taxas de prenhez. Portanto, o sêmen convencional obteve resultado significativamente superior quanto ao número de prenhez em comparação com o sêmen sexado ($p < 0,05$). Segundo Bodmer *et al.* (2005), o sêmen convencional, usado na mesma concentração que o sêmen sexado, também apresenta melhores taxas de prenhez em novilhas, diferença de 26%. Para Seidel (2003) a menor eficiência do sêmen é causada por lesões no espermatozóide adquiridas no processo de sexagem. A variação na fertilidade do sêmen também pode ser influenciada por diferenças individuais na fertilidade dos touros (Bodmer *et al.*, 2005) e na concentração da dose do sêmen (Seidel *et al.*, 1999), o que não foi mantido constante nesse experimento.

Conclusões

De acordo com os dados obtidos concluímos que o sêmen sexado comercial apresentou menor fertilidade em comparação com o sêmen comercial convencional, porém, variáveis como: fertilidade dos touros utilizados e diferentes concentrações no sêmen, são citadas por outros autores como fatores que influenciam nas taxas de prenhez. Mesmo assim, devido ao maior custo do sêmen sexado e sua tendência a ser menos fértil, é sugerido que seja feita uma análise econômica prévia ao uso dessa tecnologia.

Referências bibliográfica

- Bodmer M, Janett F, Hassig M, Daas N, Reichert P, Thun R. Fertility in heifers and cows after low dose insemination with sex-sorted and non-sorted sperm under field conditions. *Theriogenology* v.64 p.1647–1655, 2005
- Seidel Jr GE. Economics of selecting for sex: the most important genetic trait. *Theriogenology* v.59, p.585-598, 2003.
- Seidel Jr GE, Schenk JL, Herickhoff LA, Doyle SP, Brink Z, Green RD, et al. Insemination of heifers with sexed sperm. *Theriogenology* v.52:1407–20, 1999.

Palavras chave: Sêmen sexado; taxa de prenhez, bovino.

Keywords: Sexed semen: pregnancy rate, bovine.



Comparação das taxas de aproveitamento de receptoras de embrião sincronizadas com CIDR® de segunda ou terceira utilização

Comparison of embryo recipient's heifers after estrus synchronization with CIDR used for two or three times

L.A. Lisboa¹, T.R.R. Barreiros^{1,2}, W. Blaschi¹, A.G. Wünsche Jr¹, G.A. Bezerra³, J.R. Azevedo³, M.M. Seneda¹

¹Departamento de Clínicas Veterinárias, UEL, 86051-990, Londrina/PR, Brasil;

²Departamento de Produção Animal, FALM/UENP, 86360-000, Bandeirantes/PR, Brasil;

³Departamento de Zootecnia, UEM, Maringá/PR, Brasil;

E mail: thalesrigo@gmail.com

Introdução

A obtenção de receptoras aptas à transferência de embriões bovinos é um fator crítico para a eficiência reprodutiva desta biotécnica. O estabelecimento de protocolos de sincronização de ovulação e transferência de embriões em tempo fixo tem colaborado sobremaneira para aumentar a taxa de aproveitamento dos animais tratados (Baruselli et al., 2000). O objetivo do presente experimento foi comparar as taxas de aproveitamento de receptoras sincronizadas com dispositivos intravaginais de progesterona previamente utilizados por uma ou duas vezes.

Material e métodos

Foram utilizadas 104 novilhas *Bos taurus x Bos indicus* (½ sangue Simental x ½ sangue Nelore), cíclicas, com escore de condição corporal entre 3,5 a 4,0, mantidas a pasto na região de Mamborê, Estado do Paraná. Estes animais foram divididos, de forma equiparada quanto à condição corporal em dois grupos. No grupo I (n=50), as novilhas receberam, em momento aleatório do ciclo estral, um dispositivo intravaginal de 1,9 g de progesterona (CIDR, Pfizer, Brasil) previamente utilizado por uma vez, simultaneamente à aplicação IM de 2 mg de benzoato de estradiol (Estrogin, Farmavet, Brasil). No oitavo dia, os dispositivos foram retirados e os animais receberam 25 mg de Dinaprost (Lutalyse, Pfizer, Brasil) por via IM. Vinte e quatro horas depois, todos os animais receberam uma aplicação de 1 mg de benzoato de estradiol, por via IM. No grupo II (n=54), os animais receberam tratamento semelhante, com o uso de um dispositivo intravaginal previamente utilizado por duas vezes. A identificação ultra-sonográfica do corpo lúteo foi realizada dezessete dias após o início dos tratamentos em ambos os grupos. Os resultados foram analisados pelo teste Qui-quadrado corrigido de Yates com significância de 5%.

Resultados e Discussão

As taxas de aproveitamento foram estabelecidas pela presença de corpo lúteo, sem a observação prévia de cio. O aproveitamento das receptoras no grupo I foi de 66% (33/50) enquanto que no grupo II foi de 70,3% (38/54), não diferindo estatisticamente ($p > 0,05$). Os resultados obtidos demonstraram que as segunda e terceira utilizações de dispositivos intravaginais permitiram taxas de aproveitamento aceitáveis, constituindo-se alternativas viáveis para redução dos custos com preparação de receptoras de embrião.

Referências bibliográficas

Baruselli, P.S.; Marques, M.O.; Hoffmann, E.M.; Costa Neto, W.P.; Grandinetti, R.R.; BO, G.A. Increase pregnancy rates in embryo recipients treated with CIDR-B devices. *Theriogenology*. v.55, p. 355, 2001(abstract).

Palavras-chave: Transferência de embriões, receptoras, sincronização.

Keywords: embryo transfer, recipients, synchronization.



Citologia vaginal de fêmeas Nelore (*Bos indicus indicus*) submetidas à sincronização da ovulação

*Vaginal cytology of females Nelore (*Bos indicus indicus*) submitted to synchronization of ovulation*

H.T. Ferraz, B.D. Oliveira Filho, M.L. Gambarini, M.A.O. Viu, D.T. Lopes, F.C. Santos

Escola de Veterinária - Universidade Federal de Goiás
E-mail: htferraz@gmail.com

Introdução

A inseminação artificial em tempo fixo (IATF) é uma das biotecnologias de maior aplicabilidade nos sistemas de produção bovinos de corte do Brasil. A maioria do rebanho bovino comercial brasileiro é composta por zebuínos, em que pesquisas sobre a fisiologia reprodutiva de fêmeas Nelore submetidas a protocolos hormonais para sincronização da ovulação (PSO) são escassos. O objetivo foi caracterizar as alterações na citologia vaginal de novilhas e vacas Nelore submetidas a protocolo hormonal para realização da IATF.

Material e Métodos

O estudo foi desenvolvido na Fazenda Santa Rosa - Caçu/GO e utilizou 5 novilhas de idade média e peso mínimo respectivamente, 27 meses e 300 Kg, e 5 vacas entre a 2^o e a 5^o ordem de parição e pelo menos 60 dias pós-parto sendo todas mantidas em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandú. As fêmeas foram submetidas a um PSO composto de aplicação intramuscular (IM) de 2,0 mg de benzoato de estradiol (BE) no momento da colocação de um implante auricular de norgestomet (D0). Após 8 dias, fez-se a remoção do implante e aplicação IM de 0,5 mg de cloprostenol sódico (D8). Depois de 24 horas, fez-se aplicação IM de 1,0 mg de BE (D9). O material celular vaginal foi colhido através de zaragatoa com auxílio de um espéculo vaginal, posteriormente depositado em lâminas e corados pelo método rápido. Na leitura, as células foram classificadas em basais, parabasais, intermediárias jovens, intermediárias velhas, superficiais nucleadas e superficiais anucleadas (Miround & Noakes, 1990). Para análise das alterações citológicas vaginais, o PSO foi dividido em: Período 1 (P1) - do D0 ao D2; Período 2 (P2)- do D3 ao D5; período 3 (P3) - do D6 ao D8 e período 4 (P4) - do D9 ao D11.

Resultados e Discussão

As células basais foram encontradas com maior frequência ($P > 0,05$) no P1 do PSO nas novilhas (P1-5,40±1,20; P2-1,80±0,34; P3-2,07±0,37; P4-1,53±0,35) e nas vacas (P1-5,58±1,13; P2-1,25±0,33; P3-1,42±0,34; P4-2,67±0,87), devido à variação no estágio do ciclo estral dos animais no início do tratamento. Já as células parabasais predominaram durante todo o período nas duas categorias, com tendência a apresentarem maior frequência no período 2 e 3 ($P < 0,05$), momento do implante de norgestomet mimetizando a fase progesterônica do ciclo estral, dados esses, compatíveis com os de Rezende, 2006. As células intermediárias jovens e as superficiais anucleadas foram observadas no período 1 e 4 ($P < 0,05$), ou seja, após as aplicações de BE, na fase de domínio estrogênico, concordando com Rezende, 2006. O número de células intermediárias velhas e superficiais nucleadas variou pouco durante o período observado. Portanto, a citologia vaginal não fornece elementos que permitam avaliar as condições ovarianas de fêmeas bovinas submetidas à sincronização da ovulação.

Referências bibliográficas

- Miround K, Noakes DE.** 1990. Exfoliative vaginal cytology during the oestrus cycle of the cow, after ovariectomy, and after exogenous progesterone and oestradiol-17 β . *Br Vet J.* 5:387-397.
- Rezende LC.** 2006. Perfil citológico vaginal e dinâmica folicular durante o ciclo estral em novilhas Nelore. Goiânia, Brasil: Universidade Federal de Goiás. Mestrado. Dissertação.

Palavras-chave: bovinos, endocrinologia, IATF, reprodução.

Keywords: bovine, endocrinology, TAI, reproduction.



Produção *in vitro* de embriões da raça Nelore: relato de cinco anos de um programa comercial

In vitro embryo production of Nelore cows: a five-year report of a commercial program

**R. Verburg^{1a}, A.C.S. Oliveira¹, K.C.P. Rubin¹, J.H.F. Pontes², I. Nonato Jr², B.V. Sanches²,
J.C. Ereno Jr², S. Uvo², M.M. Seneda¹,**

¹Departamento de clínicas veterinárias CCA UEL, Londrina-PR 86051-890

²In vitro Brasil Ltda., Mogi Mirim, SP

E-mail: richard_vet@yahoo.com.br

Introdução

O Brasil possui o maior rebanho comercial do mundo, é também o maior produtor mundial de embriões produzidos *in vitro*. Apesar da excelência da produção *in vivo* de embriões também verificada no Brasil, verificou-se, nos últimos anos, uma forte tendência a substituir a produção *in vivo* pela *in vitro*. Tal condição é digna de nota, pois apenas no Brasil verifica-se tal fato (Thibier, 2004). Um aspecto pertinente à esta condição refere-se à predominância ampla da raça Nelore no rebanho nacional. As particularidades desta raça na produção *in vitro* de embriões têm sido relatadas por profissionais do campo, mas pouco se sabe sobre essas possíveis características diferentes das vacas Nelore. Para tentar melhor compreender a razão deste elevado desempenho da raça Nelore na produção *in vitro* de embriões, este trabalho analisou dados de uma central comercial, como uma primeira etapa para direcionar trabalhos posteriores.

Material e Métodos

O estudo baseou-se numa análise de dados obtidos da Central de Biotecnologia *In vitro* Brasil Ltda., localizada em Mogi Mirim, Estado de São Paulo, no período de janeiro de 2001 a maio de 2006. Os dados são oriundos de um programa comercial de 420 doadoras da raça Nelore, de alto valor genético, com idades variando de 2 a 8 anos (média de 5 anos). A obtenção dos oócitos foi realizada por aspiração folicular guiada por ultra-sonografia, sendo a produção *in vitro* dos embriões realizada conforme Seneda et al., (2001). Utilizou-se sêmen de 74 touros provenientes de centrais comerciais.

Resultados e Discussão

Em 1504 aspirações foliculares, obtêve-se 27.966 oócitos, sendo 22.809 (81,6%) viáveis e 5.157 (18,4%) inviáveis. A média de oócitos viáveis por aspiração folicular foi de 15,2. Obtêve-se 7.725 embriões e 2.585 prenhez (1,7 prenhez/aspiração). Do total de prenhez obtido, subtraindo-se as mortes embrionárias, a eficiência foi de 29,9% (2.312/7.725), ou seja, 1,5 prenhez/aspiração. Os números obtidos contrastam com os da literatura para gado europeu, demonstrando uma eficiência no processo de produção de embriões *in vitro* muito superior para a raça Nelore – cerca de quatro vezes mais embriões (Bousquet et al., 1999). Tal aspecto deve-se a características fisiológicas pouco conhecidas desta raça. A partir desta constatação, serão propostas estratégias experimentais para elucidar os mecanismos envolvidos com a maior produção folicular e o melhor rendimento da raça Nelore no processo de produção *in vitro* de embriões.

Referências bibliográficas

Seneda MM, Esper CR, Garcia JM, Oliveira JA, Vantini R. Relationship between follicle size and ultrasound-guided transvaginal recovery. *Animal Reproduction Science* 2001; 67: 37-43.

Thibier M. Stabilization of numbers of *in vivo* collected embryos in cattle but significant increases of *in vitro* bovine produced embryos in some parts of the world: a report from the IETS data retrieval committee. *International Embryo Transfer Society Newsletter* 2004:12-19.

Bousquet D, Twagiramungu H, Morin N, Brisson C, Carboneau G, Durocher J. In vitro embryo production in the cow: an effective alternative to the conventional embryo production approach. *Theriogenology*, v. 51, p. 59-70, 1999.

Palavras-chave: embriões, oócitos, aspiração folicular.

Keywords: FIV, embryos, oocytes, ovum pick-up.



Efeito do tempo de estabilização sobre os parâmetros espermáticos do sêmen bovino criopreservado com tris-glicerina-gema.

Effect of the stability time on sperms parameter of bovine semen freezing with tri-glycerol-yolk.

G.O. Solano¹, R.F. Solano², J.M.D. Bezerra², S.T. Rolim Filho³, B.L.F. Rodrigues³

¹Aluno de Pós-graduação Ciência Animal-UFGA; ²Laboratório de Genética Molecular e Biotecnologia da Reprodução, Universidade Estadual do Maranhão; ³Universidade Federal Rural da Amazônia.
E-mail: onelsolano@yahoo.com.br

Introdução

A criopreservação do sêmen bovino representa importante instrumento no melhoramento genético da espécie, pela maximização do uso de bons reprodutores. Porém, os índices de fertilidade obtidos com bovino são muito superiores aos obtidos com sêmen congelado em outras espécies. Segundo WOLF et al. (1999), a menor taxa de fertilidade do sêmen congelado, comparada à do sêmen fresco, constitui uma maior difusão dessa biotecnologia. Os crioprotetores são de importância vital para o sucesso da criopreservação, uma vez que protegem e mantêm as células viáveis durante o processo de congelamento. Desde 1952, o glicerol vem sendo usado com a finalidade de proteger os espermatozoides durante o congelamento. Entretanto segundo FARY (1986) o glicerol também pode provocar efeitos indesejáveis aos espermatozoides por ser tóxico para as células. As principais variáveis na criopreservação de espermatozoides têm sido submetidas a muitos estudos. Pesquisas revelam que a melhor temperatura de glicerilização é de aproximadamente + 5 °C, entretanto, o tempo de exposição ao glicerol em temperaturas altas pode ser um fator importante para o sucesso da criopreservação (ZAR, 1996). O tempo de estabilização a + 5 °C recomendado, varia muito com a literatura, desde 10 segundos a 18 horas. O objetivo do presente estudo foi avaliar a Motilidade Individual Progressiva (MIP) e vigor do sêmen bovino *in vitro* e *in vivo*, pós-Teste de Termo-Resistência Rápida (TTR) e taxa de prenhez, utilizando os seguintes tempos de estabilização ao glicerol 3, 10 e 18 horas a + 5 °C.

Material e Métodos

Utilizaram-se 25 ejaculados de cinco touros da raça Pardo suíço (*Bos taurus-taurus*) para avaliar três protocolos de estabilização ao glicerol antes do congelamento. Em ambos os tratamentos, resfriaram-se o sêmen até 5°C (curva de resfriamento (CR) e estabilizados em glicerol (curva de glicerilização (EG) durante 3 horas (GI), 10 horas (GII) e 18 horas (GIII). Os protocolos foram avaliados pelo teste de termo resistência (TTR-motilidade total e vigor) durante 0, 30 e 60 minutos e pela funcionalidade da membrana plasmática (teste hiposmótico e eosina nigrosina). Em 512 fêmeas entre 0-4 partos que apresentaram estro natural o sincronizado foram Inseminadas Artificialmente (IA) utilizando doses de 100 x10⁶ spz/ml. O diagnóstico de gestação se realizou por palpação retal, entre 50-60 dias após IA. Na análise estatística utilizaram-se o teste de comparação qui-quadrado (X²) para as taxas de prenhez, e entre grupos o teste segundo ZAR (1996).

Resultados e Discussão

A motilidade e vigor total no tempo zero e 30 min do TTR foi melhor (P< 0,05) para o sêmen estabilizado nos GI e GII (40,0% e 35,0%) e (3,5 e 3,0), quando comparado com o GIII (30,0%) e (2,5) respectivamente. Na mesma ordem, o número de espermatozoides vivos foi maior (P< 0,05) no tratamento GI e GII, 71,0% e 64,6% do que o GIII (45%). O sêmen estabilizado nos GI e GII apresentou maior reação (P< 0,05) ao teste hiposmótico e maior vigor (P< 0,05) quando comparado com o GIII. Na mesma ordem a taxa de prenhez foi significativa (P< 0,05) nos GI e GII (62,5% e 60%), mas diferença significativa (P< 0,05) foi observada quando comparado ao GIII (42%). WOLF et al. (1999) observaram resultados similares em sêmen bovino estabilizado durante quatro horas a 5 °C. Os resultados mostraram, *in vitro* o efeito benéfico da estabilização do sêmen ao glicerol, antes do congelamento, reduzindo e facilitando o tempo operacional no laboratório ou a campo.

Referências Bibliográficas

- Fary, G.M. The relevance of crioprotectant toxicity to Cryobiology. v.23, p.1-13, 1986.
Wolf, A.; Gabaldi, S.H.; Papa, F.O. Viabilidade espermática pós-descongelamento de sêmen bovino criopreservados com meio diluente glicina-gema em quatro diferentes tempos de estabilização. Rev. Bras. Reprod. Anim. v.23, 262-264, 1999.
Zar, I.H. Biostatistics Analysis. Prentice-Hall Upper Saddle River. New Jersey, p.718, 1996.

Palavras chaves: Congelamento. Sêmen. Bovino

Key words: Freezing. Sêmen. Bovine.



Criopreservação do sêmen de tourinhos Gir Leiteiro, aos dois anos de idade, pré-selecionados pela CAP.

Semen cryopreservation of two-years-old Dairy Gir bulls (B. taurus indicus), pre-selected by Zebu-BSE.

A.S. Felipe-Silva¹, M.B.D. Ferreira², V.R. Vale-Filho¹, B.C. Lopes³, L.L. Emerick¹, T.G. Leite¹, J.A.M. Martins¹, P.E.M. Gonçalves¹, G.S.S. Corrêa¹, M.C. Anchieta⁴, M.M. Veras⁴, V.J. Andrade¹

¹Escola de Veterinária da UFMG ²EPAMIG, Uberaba ³FAZU, Uberaba ⁴Profissional Liberal
E-mail: anibalfelipe@yahoo.com

Introdução

A raça Gir Leiteiro (Gir-L) responde por 21% das doses de sêmen comercializadas no Brasil para a pecuária leiteira e esse valor supera 537 mil doses (43%) quando apenas se consideram touros zebrus nacionais de aptidão leiteira [1]. O objetivo deste trabalho foi avaliar a congelabilidade do sêmen de tourinhos Gir-L, aos dois anos de idade, pré-selecionados pelo CAP > 60 pontos.

Material e Métodos

Foram utilizados oito tourinhos Gir-L, com idade próxima aos dois anos, pré-selecionados pela normalidade dos órgãos genitais e pela CAP > 60 pontos [2]. O sêmen foi coletado por eletro-ejaculação e avaliado de acordo com [3]. Foi utilizado o diluidor Nagaze & Niwa [4], com concentração final de 15×10^6 de espermatozoides viáveis por dose inseminante. As palhetas (0,5 ml) foram envasadas logo após a diluição (37°C) e imediatamente acondicionadas a 5°C, para um período de estabilização mínimo de quatro e máximo de seis horas. Em seguida foram transferidas para a máquina CRYOGEN[®] onde foram submetidas a protocolo de congelação padronizado.

Resultados e Discussão

Na tab. 1 observa-se que a seleção de tourinhos com CAP > 60 ($84,4 \pm 15,6$) foi eficiente na obtenção de sêmen com alto nível de recuperação pós-congelação (Mot = $37,5\% \pm 7,6$ / Vig = $3,6 \pm 0,5$) [3], quando associada a um processo eficiente e padronizado de criopreservação.

Tab.1. Características andrológicas e do sêmen de tourinhos Gir-L.

TOURO	Idade meses	CAP (1-100)	MOT (%)		VIG (1-5)	
			pré cong.	pós cong.	pré cong.	pós cong.
A	26,8	100	70,0	40,0	5,0	3,0
B	26,2	100	70,0	40,0	5,0	3,0
C	26,3	92	65,0	50,0	4,0	4,0
D	25,8	92	65,0	35,0	4,0	3,5
E	24,9	85	70,0	30,0	5,0	3,5
F	24,7	84	80,0	30,0	5,0	3,5
G	24,7	61	60,0	45,0	5,0	4,5
H	26,1	61	60,0	30,0	5,0	3,5
Médias \pm dp	$25,7 \pm 0,8$	$84,4 \pm 15,6$	$67,5 \pm 6,5$	$37,5 \pm 7,6$	$4,7 \pm 0,5$	$3,6 \pm 0,5$

CAP = Classificação Andrológica por Pontos; MOT = motilidade espermática; VIG = vigor espermático

Conclui-se que a raça Gir-L possui animais precoces e de muito boa congelabilidade seminal, que devem ser identificados, intensificando-se o melhoramento genético da raça pela utilização na IA.

Referências Bibliográficas

- [1] **Asbia 2004**. Evolução da Inseminação Artificial no Brasil e perspectiva para o mercado de trabalho no setor. In: Semana de Inseminação Artificial da ASBIA, 1, 2004. Belo Horizonte. *Anais...* Belo Horizonte: ASBIA, 2004, Cd-Rom.
- [2] **Vale Filho, V. R.** Padrões de sêmen bovino, para o Brasil. Análise e sugestões. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 8, 1989, Belo Horizonte. *Anais...* Belo Horizonte: CBRA, 1989. p.94-118.
- [3] **CBRA 1998**. *Procedimentos para exame andrológico e avaliação de sêmen animal*, 2ed.. Belo Horizonte: CBRA, 1998. 49p.:il
- [4] **Nagaze, H; Niwa, T.** Deep freezing of bull sêmen... 5th ICAR. Trento, v.4, p. 410-415, 1964.

Palavras-chave: Touros; Gir-Leiteiro; *Bos taurus indicus*; Congelabilidade seminal.

Keywords: Bulls; Dairy-Gir; *Bos taurus indicus*; Seminal freezability.

* CRYOGEN[®] - www.neovet.com.br.



Influência da concentração de ovalbumina na maturação nuclear e na migração de grânulos corticais em oócitos bovinos

Influence of the ovalbumin concentration in the nuclear maturation and in the cortical granules migration of bovine oocytes

T.A.D. Tetzner, N.Z. Saraiva, F. Perecin, C.R. Ferreira, S.C. M. Niciura, C.S. Oliveira, D.S. Melo, R. Vantini, J.M. Garcia

¹DMVPRA-FCAV-UNESP, Jaboticabal-SP, Brasil, ²ZAB-FZEA-USP, Pirassununga-SP, Brasil, ³CPDGRA-IZ-APTA/SAA, Nova Odessa-SP, Brasil. tatiane_tetzner@yahoo.com.br

Introdução

A PIV é considerada como a terceira geração de biotecnologias (THIBIER et al., 1992). A etapa de MIV possui grande influência no êxito da PIV. Durante este período devem ocorrer a maturação nuclear e citoplasmática do oócito, tornando-o apto a suportar o desenvolvimento embrionário. Historicamente, o meio de cultivo contém SFB ou BSA (BAVISTER et al., 1992), e são preparados e purificados a partir de produtos derivados sanguíneos e apresentam altos riscos de contaminação por patógenos, como vírus: BHV-1 e BVDV (GUERIN et al., 1988), e príons: BSE (KRISHER et al., 1999). De acordo com Barlian et al. (1993), a OVA é um suplemento protéico não aparentado ao BSA, mas que possui a capacidade de manter a proliferação celular. Além disso, por ser de origem heteróloga, os riscos de transmissão de doenças são menores. O presente estudo objetivou estabelecer e definir qual a concentração adequada de OVA a ser utilizada na etapa de MIV.

Material e Métodos

Os oócitos selecionados foram MIV em meio TCM 199 com sais de Earle (Gibco 31.100, NY, EUA) suplementado de acordo com os tratamentos: Controle (Crypion®; 10% SFB) ou OVA (Inlab® Cód.1860; nas concentrações: 2, 4 e 6mg/mL), e 1,0µg/mL de FSH (Pluset®, Calier), 50UI/mL de hCG (Profasi®, Serono), 1,0µg/mL de estradiol (Sigma E-2758), 0,2mM de piruvato de sódio (Biochemical 44094) e 83,4µg/mL de amicacina (Biochimico), cultivo em incubadora à 38,5°C com 5% de CO₂ em ar durante 24h. A maturação oocitária foi avaliada pelo estágio da progressão nuclear (maturação nuclear, estágio de MII), e pela migração dos grânulos corticais (GC) para a periferia da membrana citoplasmática.

Resultados e Discussão

Foram utilizados 676 oócitos, distribuídos nos quatro grupos em três repetições (159-180 oócitos por tratamento). No total dos oócitos avaliados, 503 (74,40%) atingiram o estágio de metáfase II e 301 (44,55%) apresentaram GC dispostos na periferia. Observamos que os grupos tratados com 4mg/mL (82,66%) e 6 mg/mL OVA (77,05%) foram semelhantes ($p>0,05$) ao grupo controle tratado com 10% SFB (85,37%). Por outro lado, a taxa de maturação nuclear, avaliada pelo estágio de progressão nuclear, no grupo tratado com 2mg/mL OVA (50,83%) foi inferior ($p<0,05$) aos demais grupos. A partir desses resultados de maturação nuclear e migração de grânulos corticais, constatamos que a OVA nas concentrações 4 e 6 mg/mL promoveram taxas similares entre si, e ao grupo controle (10% SFB), tanto na maturação nuclear, como na migração dos grânulos corticais para a periferia. Portanto, sob as condições desse estudo, a melhor concentração de ovalbumina a ser utilizada na etapa de MIV foi a de 4mg/mL.

Referências Bibliográficas

- Barlian A., Ganassin R.C., Tom D., Bols N.C.A comparison of bovine serum albumin and chicken ovalbumin as supplements for the serum-free growth of Chinook salmon embryo cells, CHSE-214. *Cell Biology International*, v. 17, p. 677-684, 1993.
- Bavister B.D., Rose-Hellekant T.A., Pinyopummintr T. Development of *in vitro* matured/*in vitro* fertilized bovine embryos into morula and blastocysts in defined culture media. *Theriogenology*, v. 37, p. 124-46, 1992.
- Guerin, B.; LE Guienne, B.; Thibier, M. Absence de contamination microbiologique des embryons bovine fécondés *in vitro*. *Bull Academic Veterinarian France*, v. 61, p. 513-520, 1988.
- Krisher, R. L.; Lane, M.; Bavister, B. D. Developmental competence and metabolism of bovine embryos cultured in semi-defined and defined culture media. *Biology of Rep.*, v. 60, p. 1345-1352, 1999.
- Thibier C., Denoulet P., Jesus C., Ozon R.A. Predominant basic alpha-tubulin present in prophase *Xenopus* oocyte decreases during meiotic maturation. *Biology of the Cell*, v. 75, p. 173-180, 1992.

Palavras-chave: maturação *in vitro*, oócitos, bovino.

Keywords: *in vitro* maturation, oocytes, bovine.



Recoleta como estratégia para aumentar a taxa de recuperação embrionária em fêmeas bovinas superovuladas

Double flushing as strategy to increase embryo recovery in cattle

I. Ortigari, F.B. Cruz, S. Gaudêncio Neto, J. Mezzalira, A.L.G. Dias, M.C. Gonçalves, A.D. Vieira

Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC / Centro de Ciências Agroveterinárias – CAV, Lages SC/
E-mail: mezzalira@cav.udesc.br

Introdução

A biotécnica de coleta e transferência de embriões (TE) está bem consolidada, entretanto, o número médio de estruturas recuperadas por coleta demonstram que a técnica ainda é relativamente ineficiente (Hasler, 2003). A metodologia de coleta, a experiência do técnico e o protocolo superovulatório podem influenciar na recuperação das estruturas. Modificações nestes procedimentos, como a recoleta (Castro Neto et al., 2005), podem aumentar a eficiência na TE. O objetivo deste estudo foi avaliar a influência de duas raças, bem como do operador sobre as taxas de recuperação embrionária com a utilização da recoleta.

Material e Métodos

Vacas e novilhas das raças Nelore (n = 38) e Jersey (n = 14) foram submetidas ao protocolo P36 de superovulação (Nogueira et al., 2007) utilizando de 200 a 450UI de FSH (Pluset®, Serono). A coleta foi realizada por dois técnicos experientes, no sétimo dia após a primeira inseminação, empregando o sistema de lavagens sucessivas, de todo o lúmen uterino, com um litro de DPBS (Cultilab). Ao final da coleta, o útero era mantido cheio com DPBS, mediante o fechamento da sonda com um “clipe”. Logo após, o animal era solto por um período de 30 a 50 minutos, quando se procedia a uma segunda lavagem do útero (recoleta), com um volume de aproximadamente 0,5 litros de DPBS. As estruturas da coleta e recoleta foram contadas separadamente.

Resultados e Discussão

Foram realizadas 52 coletas, obtendo-se 533 estruturas. Destas, 392 foram recuperadas de fêmeas da raça Nelore, com média de 10,3 estruturas por coleta. Nas fêmeas da raça Jersey foram recuperadas 141 estruturas, com média de 10,1. O operador A obteve médias de 9,7 estruturas para a raça Nelore e 11 para raça Jersey, enquanto o operador B obteve 10,5 e 8,4 respectivamente. Do total de estruturas recuperadas, 68,4% foram obtidas na coleta e 31,6% na recoleta. Estes resultados são similares aos obtidos anteriormente com fêmeas zebuínas e taurinas de corte (Castro Neto et al., 2005, Molo et al. 2006). Não foi observada diferença significativa entre operadores e entre raças, na taxa de recuperação da coleta ou recoleta. Dos 52 procedimentos de recoleta realizados, em 39 (75,0%) foram obtidas estruturas. Em um animal não foi recuperado estrutura alguma na coleta obtendo-se, no entanto, cinco estruturas na recoleta. Em oito procedimentos obteve-se maior quantidade de estruturas recuperadas na recoleta, do que na coleta. Considerando o número de estruturas obtidos na coleta, houve um significativo incremento na quantidade de estruturas com a recoleta (46,0%). O fato de não ter ocorrido efeito do operador ou da raça, demonstra que a recoleta proporciona aumento da eficiência na TE.

Referências bibliográficas

- Castro Neto, A.S., et al. Improvement in embryo recovery using double uterine flushing. *Theriogenology*, v.63, p.1249-1255, 2005.
- Hasler, J.F. The current status and future of commercial embryo transfer in cattle. *Animal Reproduction Science*, v.79, p.245-264, 2003.
- Mollo, M.R., et al. Aumento de recuperação embrionária usando lavagem uterine dupla em bovinos, corroborando dados de um estudo anterior. *Acta Scientiae Veterinariae*, v.34, p.517.
- Nogueira, M.F.G., et al. The effect of type of vaginal insert and dose of pLH on embryo production, following fixed-time AI in a progestin-based superstimulatory protocol in Nelore cattle. *Theriogenology*, v.67, p.655-660, 2007.
- Sartori, R., et al. Improvement in recovery of embryos/ova using a shallow uterine horn flushing technique in superovulated Holstein heifers. *Theriogenology*, v.60, p.1319-1330, 2003.

Palavras-chave: TE, bovinos, recoleta.

Keywords: MOET, cattle, double flushing.



Indução e sincronização de estro em novilhas *Bos taurus* utilizando implante de norgestomet associado a eCG

Induction and synchronization of estrus in Bos taurus heifers using norgestomet implants associated to eCG

A.C.P. Cottorello¹, A.P.R. Styne¹, M. Henry², A.P. Lage², A.M. Borges²

¹Aluna de doutorado da Escola de Veterinária – UFMG

²Professor adjunto – Escola de Veterinária - UFMG

E-mail: alage@vet.ufmg.br

Introdução

O início da atividade cíclica ovariana, em novilhas de raças européias, ocorre por volta dos 12 meses de idade (Kinder et al., 1995). No entanto, para que isto aconteça, é necessário que estes animais estejam em boa condição corporal e recebendo alimentação adequada, o que nem sempre ocorre. As terapias hormonais, utilizando diferentes protocolos, podem ser aplicadas para auxiliar na indução da ovulação quando o animal, mesmo estando na idade adequada, ainda não iniciou a atividade reprodutiva (Martinez et al., 2000). Neste estudo foi utilizado um protocolo de sincronização de estro que incluiu a de implante de progesterona e aplicações de prostaglandina e eCG, para a tentativa de indução e sincronização do estro em novilhas.

Material e Métodos

Foram utilizadas 35 novilhas mestiças européias com idades variando entre 15 e 18 meses e apresentando escore corporal médio de 3 (escala 1 a 5) e peso médio de 328,5kg. Destas, apenas seis já apresentavam atividade luteal confirmada pela palpação transretal e ultrasonografia. As 29 restantes apresentavam-se acíclicas. Os animais receberam um implante auricular de progestógeno, durante nove dias, para liberar 200 mg de norgestomet/dia. Dois dias antes da retirada do implante (dia 7) foram aplicados 500 mg de PGF_{2α} (cloprostenol sódico) e no dia da retirada do mesmo os animais receberam 500 UI de gonadotrofina coriônica equina (eCG) por via intramuscular. Decorridas 12 horas da retirada do implante, os animais foram acompanhados duas vezes ao dia (3 horas pela manhã e 3 horas à tarde), por 2 dias consecutivos até a detecção do estro. Após 12 horas da observação do estro, os animais foram submetidos à inseminação artificial (IA). Para atender a demanda de outro experimento, estes animais foram sacrificados em intervalos irregulares: 1, 9, 18 e 28 dias após a IA. Foram realizadas coletas de sangue para dosagem de progesterona por metodologia de radioimunoensaio, em todos os dias de sacrifício.

Resultados e Discussão

Todos os animais apresentaram estro após a retirada do implante e foram inseminados e destes, 33 (94,2%) ovularam. Dos 29 animais que não apresentavam corpo lúteo antes do tratamento hormonal, apenas dois não ovularam (6,8%). Os outros 27 animais (93,1%) tiveram a ovulação induzida e apresentaram corpo lúteo ativo após o tratamento, como foi constatado pela observação do ovário em abatedouro e pela dosagem de progesterona. Os seis animais que já apresentavam atividade luteal cíclica, antes do tratamento hormonal, também tiveram o estro sincronizado e apresentaram corpo lúteo. A produção de P4 média foi de 5,824 ng/mL nos animais que ciclaram após o tratamento e 0,185 ng/mL nos animais acíclicos. A confirmação da prenhez não pôde ser constatada nos três primeiros grupos de animais sacrificados (dias 1, 9 e 18 pós IA), já que o embrião não foi detectado a olho nu. Nos animais sacrificados no dia 28 pós IA, 63,6% (7/11) dos animais estavam prenhes. Estes resultados demonstram a eficácia do protocolo utilizado na indução e sincronização do cio em novilhas.

Referências bibliográficas

Kinder J.E., Bergfeld E.G., Wehrman M.E., Peters K.E., Kojima F.N. Endocrine basis for puberty in heifers and ewes. *J. Reprod. Fertil., Suppl.* 49, p.393 – 407, 1995.

Martinez M.F., Adams G.P., Kastelic J.P., Bergfel D.R., Mapletoft R.J. Induction of follicular wave emergence for estrus synchronization and artificial insemination in heifers. *Theriogenology*, v. 54, p. 757 – 769, 2000.

Palavras-chave: indução de estro, novilhas, progestógeno.

Keywords: induction of estrus, heifers, progestogen.



Associação de medroxiprogesterona ao protocolo Ovsynch para sincronização do estro em búfalas criadas na Amazônia Oriental – resultados parciais

Association of medroxyprogesterone to Ovsynch protocol for estrus synchronization in buffaloes raised on Eastern Amazon – preliminary results

**A.R. Garcia¹, B.S. Nahúm¹, K.S. Gonçalves², J.B. Lourenço Jr¹, M.Y.A. Miyasaki²,
A.F.C. Andrade³, R.P. Arruda³¹**

¹Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA. ²UFRA, Belém-PA. ³USP, Pirassununga-SP.
E-mail: argarcia@cpatu.embrapa.br

Introdução

Protocolos de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) vêm sendo usados com sucesso em búfalos (Baruselli e Carvalho, 2005) e a associação de progesterona ao Ovsynch tem sido eficiente na elevação das taxas de concepção (De Rensis et al., 2005). Porém, os eventos ovarianos decorrentes dessa associação não foram amplamente estudados. Assim, objetivou-se avaliar a associação da medroxiprogesterona (MAP) ao Ovsynch e seus efeitos no número e no crescimento folicular.

Material e Métodos

Foram utilizadas 19 búfalas adultas ($4,27 \pm 2,28$ anos), cíclicas e sem bezerras, criadas em Tracuateua-PA. Seu peso médio foi de $537 \pm 95,6$ Kg e ECC de 3,5 (1-5). As búfalas do G1 (n = 10) e do G2 (n = 9) foram sincronizadas por Ovsynch (50 µg I.M GnRH no d0 / 0,150mg I.M de cloprostenol no d7 / 25µg I.M GnRH no d9). Os animais do G2 receberam implante intravaginal de MAP entre o d0 e o d7. A IATF foi feita de 16 a 20 hs após a segunda administração do GnRH. As estruturas ovarianas foram avaliadas conforme De Rensis et al. (2005) no d0, d7, d9 e d10. Os folículos foram classificados conforme seu diâmetro (pequenos: $\leq 5,0$ mm, médios: entre 5,0 e 8,0mm ou grandes: $\geq 8,0$ mm). A taxa de crescimento diário do folículo dominante foi avaliada por Anova. O número de folículos e o diâmetro folicular foram analisados por Anova + medidas repetidas no tempo. O nível de significância foi $P < 0,05$.

Resultados e Discussão

O número de folículos foi significativamente diferente apenas no d7 (fols pequenos: G1: $3,60 \pm 1,71$ X G2: $6,77 \pm 2,58$, $P < 0,01$; fols médios: G1: $1,10 \pm 1,10$ X G2: $0,22 \pm 0,44$, $P < 0,05$; fols grandes: $0,40 \pm 0,69$ X $0,11 \pm 0,33$, $P > 0,05$). No d9, os animais do G1 tenderam a igualar o número de folículos aos animais do G2. O diâmetro dos folículos dominantes no d7 foi maior nos animais que não receberam MAP (G1: $6,41 \pm 2,86$ mm X G2: $3,85 \pm 0,82$ mm; $P < 0,05$), mas no d9 essa situação se inverteu (G1: $9,22 \pm 2,51$ mm X G2: $11,72 \pm 2,73$ mm, $P < 0,05$). Tão logo a MAP foi retirada, os animais do G2 apresentaram taxa de crescimento dos folículos dominantes 3,1 vezes maior que no G1. Possivelmente, a MAP diminuiu a expressão de receptores para LH nos folículos e retardou seu crescimento do d0 ao d7, o que foi compensado após a retirada do implante. A maior taxa de crescimento folicular propiciada pela MAP pode ter um efeito positivo adicional ao Ovsynch, pois contribui para a ovulação de folículos maiores e, em teoria, para a formação de corpos lúteos com mais tecido luteínico e mais eficientes na manutenção da gestação. Resultados futuros de concepção são esperados para verificação dessa hipótese.

Referências Bibliográficas

Baruselli, PS; Carvalho, NAT. 2005. Biotecnologias da reprodução em bubalinos (*Bubalus bubalis*). Rev Bras Reprod Anim, 29:4-17.
De Rensis, F; Ronci, G; Guarneri, P; Nguyen, BX; Presicce, GA; Huszenicza, G; Scaramuzzi, RJ. 2005. Conception rate after fixed time insemination following Ovsynch protocol with and without progesterone supplementation in cyclic and non-cyclic Mediterranean Italian buffaloes (*Bubalus bubalis*). *Theriogenology*, 63:1824-1831.

Palavras-chave: inseminação artificial, Ovsynch, medroxiprogesterona, búfalo.

Keywords: artificial insemination, Ovsynch, medroxyprogesterone, buffalo.

Apoio Financeiro: Projeto Basa Pecuária (02.05.0.19.04).



Uso de dispositivos intravaginais de progesterona por nove ou oito dias para sincronização da ovulação em búfalas na estação reprodutiva desfavorável

Use of intravaginal progesterone device for eight or nine days to synchronization of ovulation in buffaloes during the off breeding season

N.A.T. Carvalho¹, E.M. Nagasaku¹, F.S. Vannucci¹, R.H. Alvarez², J.R. Valim³,
E.H. Madureira³, P.S. Baruselli³

¹Unidade de Pesquisa e Desenvolvimento de Registro, Rod. BR116 – Km435, APTA – Vale do Ribeira, Registro– SP; ²Instituto de Zootecnia, APTA – Nova Odessa – SP; ³Departamento de Reprodução Animal, FMVZ-USP, São Paulo –SP
E-mail: nelcio@aptaregional.sp.gov.br

Introdução

Protocolos hormonais para a desestacionalização de búfalas leiteiras são empregados com resultados satisfatórios (1), permitindo a IATF na estação reprodutiva desfavorável (primavera e verão) e tornando a produção leiteira mais homogênea durante o ano. O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito de dispositivos intravaginais de progesterona (DIB e Progestar), mantidos por nove ou oito dias, na taxa de ovulação de búfala na estação reprodutiva desfavorável.

Material and métodos

Foram utilizadas 37 búfalas divididas aleatoriamente em 4 grupos (G1, G2, G3 e G4). Todas as fêmeas receberam um dispositivo intravaginal de progesterona (P4; G1 e G2, DIB[®], Syntex; G3 e G4, Progestar[®], Innovare) associado a 2mg de benzoato de estradiol intramuscular (IM – Benzoato de Estradiol[®], Innovare) em estágio aleatório do ciclo estral (Dia 0 = D0 – G1 e G3; D1 – G2 e G4). Os dispositivos foram removidos e 0,15mg de PGF_{2α} (d-cloprostenol, Prolise[®], Arsa) mais 400UI de eCG (Novormon[®], Syntex) foram administrados via IM no D9. No D11 as búfalas receberam 10µg de GnRH IM (Acetato de buserilina[®], Innovare). Foi realizado exame ultrasonográfico (Pie Medical 200, transdutor linear de 7,5MHz) no D9 para mensurar o diâmetro folicular e do D11 ao D14 (12/12 hs) para estabelecer o momento da ovulação. O delineamento experimental utilizado foi o fatorial 2x2 (dois dispositivos intravaginais de progesterona e dois períodos de permanência dos dispositivos). Os dados foram analisados pelo programa SAS/STAT e os resultados estão apresentados como média ± EPM (Tabela1).

Resultados e discussão

Tabela 1 – Resposta folicular de acordo com o dispositivo intravaginal de P4 (DIB[®]/Progestar[®]) mantido por nove ou oito dias em búfalas na estação reprodutiva desfavorável. Pariquera-açu – SP, 2007

Grupos	Diâmetro do folículo dominante no D9 (cm)	Diâmetro do folículo ovulatório	Taxa de ovulação%(n)	Remoção do P4/ovulação (h)
1 (DIB [®] – 9 dias)	0,91 ± 0,05	1,29 ± 0,08	66,7% (6/9)	84,00 ± 6,20
2 (DIB [®] – 8 dias)	0,87 ± 0,07	1,38 ± 0,06	45,4% (5/11)	86,40 ± 5,88
3 (Progestar [®] –9dias)	1,17 ± 0,13	1,23 ± 0,08	75,0% (6/8)	80,00 ± 5,06
4 (Progestar [®] –8dias)	1,02 ± 0,14	1,53 ± 0,11	66,7% (6/9)	84,00 ± 3,10
Efeitos principais				
DIB [®]	0,84 ± 0,06	1,32 ± 0,05	55,0%(11/20)	85,09 ± 4,11
Progestar [®]	1,08 ± 0,11	1,38 ± 0,08	70,6%(12/17)	82,00 ± 2,89
9 dias	1,02 ± 0,07 ^a	1,25 ± 0,06 ^b	70,6% 12/17)	82,00 ± 3,86
8 dias	0,89 ± 0,09 ^b	1,47 ± 0,07 ^a	55,0%(11/20)	85,09 ± 3,01

Como não foi verificado efeito de interação, foram analisando os efeitos principais. Verificou-se que o diâmetro do folículo dominante no D9 foi maior quando o dispositivo intravaginal de P4 foi mantido por 9 que por 8 dias ($P < 0,05$) e o diâmetro do folículo ovulatório foi maior nos animais que receberam o dispositivo por 8 que por 9 dias ($P < 0,05$). A presença do dispositivo intravaginal de P4 por mais tempo, provavelmente, causou bloqueio no crescimento folicular durante sua permanência e após sua retirada. Os resultados indicam que os dispositivos intravaginais de P4 (DIB[®] e Progestar[®]) mantidos por 9 ou 8 dias apresentam eficiência para sincronizar e induzir a ovulação em búfalas fora da estação reprodutiva. Esse dado indica que é possível reduzir o tempo de permanência dos dispositivos intravaginais de P4, reduzindo a duração do protocolo hormonal sem prejuízos à eficácia do tratamento.

Referências bibliográficas

Baruselli, P.S.; Carvalho, N.A.T.; Nichi, M.; Reichert, R.H. Reduction of hCG dosage in a protocol for synchronization of ovulation for timed artificial insemination during the off breeding season in buffalo. **Proc. 2nd Congresso Nazionale Sull'Allevamento Del Buffalo**, Roma, v.1, p.261-264, 2003.

Palavras-chave: Desestacionalização, estação reprodutiva, bubalinos, progesterona, ovulação.

Keywords: desestacionalization, breeding season, buffaloes, progesterone, ovulation.



Influência da $PGF_{2\alpha}$ (D-Cloprostenol) em protocolo para inseminação artificial de em tempo fixo de ovelhas

Influence of the $PGF_{2\alpha}$ (D-Cloprostenol) in the timed artificial insemination protocol in ewes

I.W. Santos*, L.C. Binsfeld, R.R. Weiss, L.E. Kozichi, J.C. Souza, J.A. Freitas

*Universidade Federal do Paraná – Rua Pioneiro, 2153 CEP 85950-000 – Palotina, PR
E-mail: iwalterdossantos@yahoo.com.br

Introdução

Segundo Cline et al. (2001), a aplicação de $PGF_{2\alpha}$ 6 dias após a colocação da esponja induz a luteólise, ajustando o intervalo entre retirada da esponja e ovulação que variou de 60 a 96 horas. Conforme Ramsey & Satterfield (2003), a inseminação em tempo fixo (IATF) em ovelhas é baseada na curva de ovulação, a qual inicia com o surgimento da onda de LH, 4 a 16 horas do início do cio. A ovulação ocorre entre 21 e 26 horas após a onda de LH, portanto, é grande a variabilidade individual concernente ao tempo de ovulação. Isto é problemático quando do uso de sêmen congelado, visto que a vida do espermatozóide no genital feminino é curta, porém quando utilizado sêmen fresco ou resfriado este fator é amenizado pela longevidade dos espermatozoides.

Material e Métodos

O experimento foi desenvolvido no município de Palotina durante o mês de fevereiro de 2006. Sessenta ovelhas sem raça definida (SRD) com histórico reprodutivo conhecido, e, submetidas a exame ginecológico, foram selecionados para o experimento. Após a identificação com brinco numerado, as ovelhas foram divididas em dois lotes (L) de 30 animais cada um. No L I foram usadas esponjas vaginais impregnadas com 60 mg de medroxiprogesterona (MAP) por 12 dias e na retirada destas foi aplicado 500 UI de Gonodotropina coriônica equina (eCG). No L II aplicou-se o mesmo protocolo MAP – ECG, porém, no quinto dia após a colocação das esponjas foi aplicado por via intramuscular, 2 mL de $PGF_{2\alpha}$ (D-Cloprostenol). As ovelhas do L I e L II foram inseminadas pelo método cervical profundo 42 e 56 horas após a retirada da esponja com sêmen fresco sem detecção de estro. Os animais foram submetidos a diagnóstico de gestação por ultra-sonografia, 50 dias após a IA.

Resultados e Discussão

Os resultados obtidos com L I e L II são apresentados na tabela 1.

Tabela 1. Taxas de fertilidade de ovelhas SRD submetidas a IATF sincronizadas com MAP – ECG ou $PGF_{2\alpha}$ (D-Cloprostenol) e inseminadas pelo método cervical profundo com sêmen fresco, durante a estação reprodutiva.

Lotes	Nº ovelhas inseminadas	Nº ovelhas prenhes	Prenhez (%)
I	30	25	83,33 ^{ns}
II	30	26	86,66 ^{ns}

^{ns}: não indica diferença significativa pelo Teste t

Não foi observado diferença significativa entre os lotes I e II. Os resultados obtidos na IA assemelham-se com achados de Cline et al. (2001). A tabela 1 mostra que o protocolo II ($PGF_{2\alpha}$) não melhorou o resultado em relação ao protocolo I. Acreditamos que este fato ocorreu devido à individualidade em relação ao tempo de ovulação, corroborando com a descrição de Ramsey & Satterfield (2003). Este estudo indica que o uso de $PGF_{2\alpha}$ em protocolos MAP – eCG para sincronizar estro e ovulação de ovelhas não obteve êxito, porém, outros trabalhos devem ser conduzidos no sentido de pesquisar outros análogos de $PGF_{2\alpha}$ bem como suas doses.

Referências

- Cline, M.A.; Ralston, J.N.; Seals, R.C.; Lewis, G.S. Intervals from norgestomet withdrawal and injection of equine chorionic gonadotropin or P.G. 600 to estrus and ovulation in ewes. *J. Anim. Sci.* 580-594, 2001.
Ramsey, W.S.; Satterfield, M.C. Texas food and fibers commission 2003 annual project report executive summary. Disponível em: <http://www.tffc.state.tx.us/TAMUSHEEP/laplai.htm>. Acesso em: 27 set 2004.

Palavras chaves: Prostaglandina, sêmen fresco, sincronização, ovelhas.

Keywords: Prostaglandin, fresh semen, synchronization, ewes.



Diferentes doses de dinoprost induzem estro eficientemente no início do ciclo estral em ovelhas

Different doses of dinoprost induce estrus efficiently early in the estrous cycle in ewes

J.F. Fonseca¹, A.S. Cavalcanti², C. Bartz², A.L.S. Silva², L.A.G. Nogueira², F.Z. Brandão²

¹Embrapa Caprinos, Sobral – CE, E-mail: jeferson@cnpq.embrapa.br

²Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense, Niterói – RJ

Introdução

O agronegócio de ovinos no Brasil cresceu nos últimos anos. Todavia, o rebanho nacional ainda é pequeno e não atende à demanda interna de produtos ovinos (i.e. carne e peles). A ovelha tem um período de gestação de 150 dias e sua produção é limitada pela estacionalidade reprodutiva. Em altas latitudes, isto se intensifica, tendo-se apenas um parto por ano. Considerando seu curto puerpério, estes animais podem ter seu estro induzido e o intervalo de partos alcançar oito meses. Há vários protocolos de sincronização/indução de estro eficientes. Atualmente, buscam-se protocolos de menor duração, que garantam alto percentual de animais em estro, sincronia e fertilidade. Protocolos com permanência de dispositivos intravaginais inferior a oito dias necessitam de administração de prostaglandina para assegurar a lise luteal e ocorrência de estro. Assim, torna-se necessário conhecer como corpos lúteos (CLs) em diferentes idades no início do ciclo estral respondem a diferentes doses de luteolíticos. O objetivo deste estudo foi verificar os efeitos de duas doses de dinoprost sobre a sincronização de estro em ovelhas entre o quarto e sexto dia do ciclo estral.

Material e Métodos

Este estudo foi realizado em junho de 2006 na Fazenda Jororó do Sertão, Cachoeiras de Macacu – RJ. O estro foi previamente induzido por dispositivos intravaginais contendo 0,33g progesterona (seis dias; Easi-Breed CIDR[®], Pfizer do Brasil Saúde Animal, São Paulo, Brasil) mais 12,5 mg dinoprost (Lutalyse[®], Pfizer do Brasil Saúde Animal, São Paulo, Brasil) i.m., administradas 24 horas antes da remoção do dispositivo. Posteriormente, após caracterização de estro (dia 0), 31 ovelhas da Raça Santa Inês e mestiças Santa Inês/Dorper, foram equitativamente divididas de acordo com peso e escore da condição corporal (variação 1 a 5) para receberem 5 (T_{5mg}, n=16, 41,7±7,1 kg e 3,9±0,6) ou 10mg (T_{10mg}, n=15, 42,9±11,9 kg e 3,7±0,5) dinoprost nos dias 4 (n=11), 5 (n=10) e 6 (n=10) do ciclo estral. Foram utilizados machos inteiros para a detecção de estro. A análise estatística compreendeu a análise de variância para comprovação de diferenças entre variáveis quantitativas, cujas médias foram testadas pelo teste de SNK (5%). Variáveis não-paramétricas foram avaliadas pelo teste do chi-quadrado.

Resultados e Discussão

O percentual de animais em estro não diferiu (P>0,05) entre os animais de T_{5mg} (87,5%) e T_{10mg} (100 %). Apenas dois animais que estavam no quarto dia do ciclo estral e que receberam 5 mg dinoprost não apresentaram estro. O intervalo da aplicação de dinoprost ao início do estro (IE) foi semelhante (P>0,05) para animais de T_{5mg} (21,0±6,0 h) e T_{10mg} (20,3±6,4 h). O IE variou entre 10 (7/31) e 24 h (22/31), sendo semelhante entre animais que estavam no dia 4 (17,8±7,4 h), 5 (21,2±7,0 h) e 6 (22,6±4,42 h) do ciclo estral. Notou-se correlação positiva (0,32, P<0,05) entre o dia do ciclo estral em que foi administrado dinoprost e o IE. O IE geral foi de 20,6±6,1 h, indicando uma elevada sincronia entre os animais, característica bastante interessante se associada à inseminação artificial em tempo fixo. Considerando que o estro dura em torno de 30 h e que a ovulação ocorre próximo ao final do estro (Gordon, 1997), teríamos nas condições deste estudo, CLs com idade entre 3 e 5 dias. Os resultados deste estudo confirmam que o dinoprost é capaz de induzir luteólise em CLs jovens (Rubianes et al., 2003), com elevado grau de eficiência e sincronia com ambas doses utilizadas.

Referências Bibliográficas

Gordon I. 1997. Controlled reproduction in sheep and goats. Cambridge, UK: University Press.

Rubianes E, Menchaca A, Carbajal B. 2003. Response of the 1–5 day-aged ovine corpus luteum to prostaglandin F2. *Anim Reprod Sci*, 78:47–55

Palavras-chave: corpo lúteo, dinoprost, estro, ovinos.

Keywords: corpus luteum, dinoprost, estrus, sheep.



Alguns parâmetros reprodutivos de genitais de ovelhas – uma contribuição à biotecnologia da reprodução

Some reproductive parameters of the ewe genital – an aid to the reproduction biotechnology

A.M. Giacomeli, J.C. Breda, L.E. Kozicki, C. Sotomaior, V. Milczewski, J.S. Caldas, M.G. Schwartz, L. Carli

Pontifícia Universidade Católica do Paraná- E-mail: kozicki.l@pucpr.br

Introdução

Os avanços na área da biotecnologia reprodutiva de ovinos tem sido significativos. A inseminação artificial (IA) a primeira a ser usada, é bastante praticada em diversos países. Com os avanços da IA, outras biotécnicas foram desenvolvidas, destacando-se, a superovulação ovariana e a transferência embrionária, nas quais houve consideráveis progressos. Estes avanços deveriam-se substancialmente em função de conhecimentos obtidos nas áreas de anatomia e fisiologia reprodutiva desta espécie. Esta pesquisa objetivou levantar dados dos genitais de ovelhas, com vistas a sua aplicabilidade nas biotécnicas reprodutivas.

Material e Métodos

Na pesquisa foram utilizadas 80 peças de aparelho reprodutivo de ovelhas da raça Hampshire down, de mestiças Texel e Ile-de-France, abatidas em frigorífico. Os animais procediam da Fazenda Experimental da Pontifícia Universidade Católica do Paraná. A idade dos animais variou de 2,5 a 8,0 anos, e peso de 50 a 70 kg tendo escore da condição corporal de 3,0 a 3,5 da escala de 1 a 5. Para a obtenção dos dados procedeu-se a dissecação cuidadosa das estruturas e anotados os dados em fichas protocolares individuais de cada genital. Ao todo efetuaram-se medições de 26 parâmetros explicitados na tabela abaixo

Resultados e Discussão

Tabela 1 – Alguns parâmetros de genitália de ovelhas da raça Hampshire down, de mestiças Texel e Ile-de-France, mensuradas em cm.

Órgão	média e desvio padrão ($\bar{x} \pm s$)
Comprimento dos ovários	1,9 ± 0,3
Largura dos ovários	1,3 ± 0,2
Altura ovariana	0,8 ± 0,2
Número de folículos (n)	12,0 ± 1,0
Dimensão dos folículos	0,5 ± 0,2
Dimensão do corpo lúteo	0,5 ± 0,0
Comprimento das salpinges	11,0 ± 2,0
Comprimento do corno uterino	9,5 ± 2,3
Número de carúnculas nos cornos (n)	75 ± 6,0
Número de carúnculas no corpo uterino(n)	7,0 ± 4,0
Comprimento do corpo uterino	3,0 ± 0,9
Comprimento da cérvix	10,2 ± 1,1
Diâmetro cranial da cérvix	1,5 ± 1,2
Diâmetro medial da cérvix	1,5 ± 1,1
Diâmetro caudal da cérvix	1,7 ± 1,8
Número de anéis cervicais (n)	6,0 ± 1,1
Comprimento vaginal	10,2 ± 1,8

Dados de literatura referentes às características obtidas nesta pesquisa são poucos. Sheldon et al.(2003) refere 11,2 o número de folículos nos ovários, muito próximo ao observado nesta pesquisa. Para König e Liebich(2004) o comprimento dos ovários não ultrapassa 1,7 valor próximo aos da presente pesquisa. O comprimento da cérvix figura em 7,2 cm, superior ao relatado por Kershaw et al.(2005). Todos os valores utilizados como referências foram citados pelos autores como referentes a ovelhas da raça Hampshire Down, Texel e Ile-de-France.

Palavra chave: ovinos, trato genital, parâmetros, útero, ovário

Keywords: ovine, genital tract, parameters, uterus, ovary

Referências Bibliográficas

- Sheldon, I.M.; Noakes D.E.; Bayliss, M.; Dobson, H. The effect of oestradiol on postpartum uterine involution in sheep (2005). Disponível em <http://www.sciencedirect.com/science>. Acesso em 7.mar. 2007.
- König, H. E.; Liebich, H.G. Anatomia dos animais domésticos. Ed. Artmed. São Paulo, p.135, 2004.
- Kershaw, C.M.; Muhammad, K.; Mc Gowan,R.; Ingrmk K.; Leethonngdee,E. S.; Wax, G. The anatomy of the sheep cervix and its influence on the transcervical passage of an inseminating pipette into the uterine lumen. *Theriogenology*, v. 64 (5).p.1225-1235, 2005.



Um sistema para uso do sêmen ovino congelado via cervical superficial

A system to use frozen ram semen through cervical superficial insemination

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

Embrapa Pecuária Sul, CP 242, 96401-970, Bagé, RS

E-mail: ferrugem@cppsul.embrapa.br

Introdução

O sêmen ovino vem sendo congelado desde os anos 50 sem consolidação da tecnologia, já que não há repetitividade de resultados de fertilidade após inseminação cervical. Os melhores resultados registrados são via intra-uterina por laparoscopia, porém seu uso requer equipamentos específicos que oneram a etapa de reprodução. O exemplo de sucesso da Noruega na inseminação com sêmen congelado de ovinos via cervical é demonstrado desde o início da década de 90 (Grotte et al., 1992; Paulenz et al., 2005). Considerando as taxas repetitivas de prenhez com sêmen congelado descritas, a idéia é a de adaptar esse sistema para uso nos sistemas de produção ovina do Rio Grande do Sul. O objetivo é o de demonstrar a viabilidade de algumas adaptações para a geração de um novo sistema para inseminação em ovinos com sêmen congelado.

Material e Métodos

O sêmen foi congelado em palhetas médias no diluente desenvolvido por Fiser et al. (1987), num volume de 0,25 mL e na concentração de 200 milhões de espermatozoides. As ovelhas identificadas em cio pelos capões androgenizados eram separadas pela manhã e a tarde sendo inseminadas em seqüência. O sêmen congelado foi depositado no orifício externo do canal cervical com aplicador e bainha para sêmen bovino e o sêmen fresco com pipetas descartáveis. O sistema foi testado em três rebanhos distintos. O primeiro ensaio com 134 ovelhas da raça Merina incluiu sincronização de cios com pessários de acetato de medroxi-progesterona, o segundo ensaio com 194 ovelhas da raça Corriedale inseminadas após estro natural e o terceiro com 294 ovelhas da raça Texel com cio natural e sincronizado com prostaglandina. No início dos serviços foi aferido escore de condição corporal (CC) das ovelhas (1=magra; 5=gorda). A fertilidade das inseminações foi estimada pela taxa de não retorno (NR) ao cio após 21 dias. O NR foi analisado por logaritmo linear incluindo os efeitos de propriedade (1,2 e 3), condição corporal (1 a 5), tipo de sêmen (fresco e congelado) e suas interações.

Resultados e Discussão

No geral o NR das inseminações com sêmen congelado foi de 22% afetado significativamente ($P < 0,001$) pelos fatores propriedade, condição corporal e as interações propriedade x tipo de sêmen ($\chi^2 = 21,09$; 2 GL; $P < 0,001$) e propriedade x condição corporal ($\chi^2 = 121,57$; 8 GL; $P < 0,001$). As taxas de NR para o sêmen congelado foram respectivamente de 40%, 22,2% e 17,5% nas propriedades 1, 2 e 3. O NR observado com o emprego do sêmen fresco foi respectivamente de 75%, 58% e 52% para cada propriedade. As diferenças observadas podem ser explicadas pelos distintos sistemas de criação, protocolos, raças criadas e os diferentes níveis nutricionais expressos pelos diferentes valores modais para as classes de CC. As distribuições da CC foram distintas e a moda observada foi respectivamente de 1, 3 e 3 para as propriedades 1, 2 e 3. Considerando os valores de NR observados e as baixas taxas de prenhez do sêmen fresco nas Propriedades 2 e 3, há necessidade de maiores estudos sobre o momento das inseminações.

Referências bibliográficas

- Grotte O, Graffer T, Olesen, I. *Artificial insemination with frozen ram semen in Norway. In: International Congress on Animal Reproduction*, 12, Hague, 1992 *Anais ...* Hague: ICAR, 1992. p. 1557-1559.
- Paulenz H, Soderquist L, Adnoy T, Nordstoga AB, Andersen Berg K. *Effect of vaginal and cervical deposition of semen on the fertility of sheep inseminated with frozen-thawed semen. Vet Rec*, v.156, p. 372-375, 2005.
- Fiser PS, Ainsworth L, Fairfull RW. Evaluation of a new diluent and different processing procedures for cryopreservation of ram semen. *Theriogenology*, v.28, p.599-606, 1987.

Palavras-chave: carneiros, inseminação artificial, sêmen congelado.

Keywords: rams, artificial insemination, frozen semen.



Ranqueamento qualitativo do sêmen congelado de carneiros através da análise estatística multivariada avaliado pelo sistema *Casa* e sondas fluorescentes

Qualitative ranking of ram frozen semen by multivariate statistics analysis evaluated with CASA and fluorescent probe

D.B. Sousa^{1,3}, S.D. Bicudo¹, A.J. Manzato², H.C. Azevedo¹, M.S. Maia¹, L. Rodello¹, C.C. Sicherle¹

¹FMVZ-UNESP, Botucatu, SP, Depto Reprodução Animal e Radiologia Veterinária.

²IBILCE-UNESP, São José do Rio Preto, SP, Depto de Ciências de Computação e Estatística

³Centro Universitário de Rio Preto - UNIRP, São José do Rio Preto, SP

E-mail: dbsousa@unirp.edu.br

Introdução

O processo de criopreservação acarreta alterações que resultam em redução da qualidade seminal. Buscam-se novas formas de avaliação da cinética, tais como a análise das sub-populações espermáticas pelo sistema *CASA*. Sondas fluorescentes são estudadas para avaliação da integridade espermática, fornecendo informações adicionais da funcionalidade dos espermatozoides. Objetivou-se otimizar o emprego do sistema *CASA* e sondas fluorescentes combinadas (SFC) analisado por meio de estatística multivariada como nova forma de avaliação dos parâmetros qualitativos do sêmen congelado de ovinos.

Material e Métodos

Em vinte e seis partidas de sêmen congelado de carneiros Santa Inês procederam-se as avaliações *CASA* (análise computadorizada do movimento espermático) e Teste SFC (iodeto de propídeo; FITC-PSA; *Mitotracker Green FM*). Para a técnica multivariada, utilizou-se a análise fatorial com método de rotação VARIMAX e análise de agrupamentos com método de Ward. Optou-se por considerar a cinética individual dos espermatozoides, ampliando o universo amostral de 26 médias para 5834 espermatozoides. No teste SFC, houve a classificação das amostras em oito categorias.

Resultados e Discussão

Com a técnica exploratória multivariada houve a redução da dimensionalidade de dez parâmetros fornecidos pelo *CASA* e teste SFC para três fatores: fator F1, relacionado à progressividade do movimento; fator F2, representando o deslocamento espermático sem considerar a direção do movimento; fator F3, relacionado à energia disponível/disponibilizada para a movimentação espermática. Houve a determinação dos escores dos coeficientes dos fatores, distribuindo as amostras em 9 grupos, com características qualitativas distintas. Com o uso da análise estatística multivariada do sêmen congelado ovino foi possível determinar no sistema *CASA* e teste SFC diferenças fisiológicas e na cinética das sub-populações como também a analogia entre parâmetros do sistema *CASA* e teste SFC.

Referências bibliográficas

Abaigar, T, Holt, W.V., Harrison, R.A.P., Del Barrio, G. Sperm subpopulations in boar (*Sus Scrofa*) and Gazelle (*Gazella dama mhorr*) semen as revealed by pattern analysis of computer-assisted motility assessments. *Biol. Reprod.* v. 60, p. 32-41, 1999.

Amann, R.P., Katz, D.F. Reflections on *CASA* after 25 years. *J. Androl.*, v. 25, p. 317-325, 2004.

Martinez-Pastor, F.; Garcia-Macias, V.; Alvarez, M.; Herraiez, P.; Anel, L, Paz, P. Sperm subpopulation in Iberian Red deer epididymal sperm and their changes through the cryopreservation process. *Biol. Reprod.* v. 72, p. 316-327, 2005.

Nuñez-Martínez, I., Moran, J.M., Peña, F.J. A three-step statistical procedure to identify sperm kinematic subpopulations in canine ejaculates: changes after cryopreservation. *Reprod. Dom. Anim.* v. 41, p. 408-415, 2006.

Palavras-chave: sub-população espermática; criopreservação; *CASA*; atividade mitocondrial.

Keywords: sperm subpopulation; cryopreservation; *CASA*; mitochondrial activity.



Inseminação artificial de ovelhas com sêmen diluído em meio à base de água de coco em pó (ACP-102) ou TRIS, resfriado e mantido a 4°C por 24 horas

Artificial insemination of sheep with semen extended in media base don powder coconut water (ACP-102) or TRIS, cooled and maintained at 4°C for 24 hours

C.C.M. Salgueiro, J.F. Nunes, R.V. Oliveira, J.C.B. Parente, J.M.M. Cavalcante, M.M.C. Mello, O.O. Brasil, L.R. Faustino, R.F.B. Gonçalves, C.A.P.M. Batista, D.F.R. Souza, M.P. Accioly

Laboratório de Tecnologia do Sêmen Caprino e Ovino, Universidade Estadual do Ceará
E-mail: crismello76@hotmail.com

Introdução

Devido aos excelentes resultados obtidos com a utilização da água de coco “in natura” na conservação principalmente de células espermáticas por Nunes *et al* nas décadas de 80 e 90, buscou-se a elaboração de um meio de conservação à base de água de coco em pó (ACP) caracterizado pela padronização e estabilização da água de coco “in natura” na forma de pó. O objetivo deste trabalho foi o de avaliar a viabilidade do sêmen refrigerado a 4°C por 24 horas de carneiros em meios à base de água de coco em pó (ACP-102) ou TRIS (hidroxi-metil amino metano) através de inseminações artificiais de ovelhas por via cervical.

Material e Métodos

O sêmen foi coletado, através de vagina artificial, de um reprodutor Santa Inês. Depois de avaliado, o mesmo foi dividido em 2 alíquotas e diluído em ACP-102 (água de coco em pó + tampões + 40mg gentamicina + 100 ml água destilada; T1) ou em TRIS (3,786g TRIS + 2,111g ácido cítrico + 1% frutose + 40mg gentamicina + 100 ml água destilada; T2), ambos com pH 7,0 e 300 mOsm/Kg, até alcançar uma concentração de 400×10^6 spz/ml, sendo então resfriado e mantido a 4°C por 24h. 49 ovelhas tiveram seu estro sincronizado através de esponjas vaginais impregnadas com 50 mg de MAP que permaneceram na porção cranial da vagina por 14 dias e injeção intramuscular de 200 U.I. de e.C.G. (Novormon, Syntex S.A.), no momento da retirada das esponjas. As ovelhas foram inseminadas artificialmente por via intracervical, 50 a 51 horas após a retirada das esponjas utilizando o sêmen do tratamento T1 (n = 26) ou T2 (n = 23) acondicionado em palhetas francesas de 0,50 ml. O diagnóstico de gestação foi realizado 53 dias após as inseminações artificiais com uso de ultra-som através de sonda abdominal. A análise estatística foi realizada através do χ^2 e considerou-se significativa uma diferença de 5%.

Resultados e Discussão

Através da avaliação ultra sonográfica se pode verificar uma taxa de prenhez de 85,71% (42/49) independentemente do tratamento utilizado. Das 42 ovelhas prenhes, 23 delas receberam o tratamento T1 (88,46%) e 19 o T2 (82,61%) ($p > 0,05$). Tais resultados são superiores aos observados por Machado (2003) que trabalhou com sêmen diluído em água de coco “in natura” (28,8%) ou ACP-102 (48%) e refrigerado a 4°C por 6 horas e aos observados por Salgueiro *et al.* (2004) que trabalhou com sêmen diluído e refrigerado a 4°C em ACP-102 por 24 (66,67%) e 48 horas (54,54%). Os resultados do presente estudo mostram avanços positivos na utilização do meio de conservação à base de água de coco em pó (ACP-102) na diluição e refrigeração do sêmen ovino.

Referências bibliográficas

- Machado, V.P.** Inseminação artificial cervical ou laparoscópica de ovelhas com diluidores à base de água de coco. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinária, UECE), 2003.
- Salgueiro, C.C.M., Gondim, J.M., Nunes, J.F., et al.** Artificial insemination of ewes with semen diluted on powder coconut water (ACP-102®), cooled and stored for 48 hours at 4°C. In: 15th International Congress of Animal Reproduction, 2004, Porto Seguro, Bahia. *Anais...* Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 2004. v. 2, p. 374-374.

Palavras-chave: inseminação artificial, ovinos, sêmen, água de coco em pó, TRIS.

Keywords: artificial insemination, ovins, semen, powder coconut water, TRIS.



Interactions of indol acetic acid with EGF and FSH in the culture of ovine preantral follicles

Interações do ácido indol acético com EGF e FSH em cultura de folículos pré-antrais de ovinos

**E.R. Andrade^a, M.M. Seneda^b, A.A. Alfieri^b, L.C. Padilha^b, J.A. Oliveira^c, A.P.F.R.L. Bracarense^b,
J.R. Figueiredo^a, R. Tonioli^a**

^aFaculty of Veterinary Medicine, PPGCV, State University of Ceará, Fortaleza, CE, Brazil

^b State University of Londrina, Londrina, PR, Brazil

^c State University of São Paulo, Jaboticabal, S, Brazil

E-mail: evelyn_andrade@yahoo.com (E.R. Andrade).

Introduction

The mechanisms that regulate the gradual exit of ovarian follicles from the non-growing, primordial pool are very poorly understood. The aim of this work was to evaluate the effect of exogenous addition of indol acetic acid (IAA), epidermal growth factor (EGF) and follicle stimulating hormone (FSH) on the activation and growth rate of ovine preantral follicles after in vitro culture of ovarian fragments.

Material and Methods

The ovarian cortex was divided into small fragments and one fragment was immediately fixed in Bouin (control – Day 0). The other fragments were cultured for two or six days in culture plates with: Minimum Essential Medium (MEM) supplemented with ITS (insulin-transferrin-selenium), pyruvate, glutamine, hypoxanthine, bovine serum albumine and antibiotics (MEM+); MEM+ plus IAA (40ng/mL); MEM+ plus EGF (100ng/mL); MEM+ plus FSH (100ng/mL); MEM+ plus IAA+EGF; MEM+ plus IAA+FSH, MEM+ plus EGF+FSH or MEM+ plus IAA+EGF+FSH. After two or six days of culture in each treatment, the pieces of ovarian cortex were fixed in Bouin for histological examination. The follicles were classified according to the stage of development as primordial or developing follicles (primary and secondary follicles).

Results and Discussion

Percentages of primordial follicles was significantly reduced in Days 2 and 6 of culture, with a significant increase in the percentages of developing follicles in all media tested ($P < 0.05$) when compared to control. We also observed that the culture of ovarian cortex for 6 d, in all tested media, reduced significantly the percentages of healthy follicles when compared with control ($P < 0.05$), except for culture in IAA+EGF and EGF+FSH. We conclude that the interaction between IAA and EGF as well as EGF and FSH were the most effective to activated ovine primordial follicles in vitro.

References

- Silva JRV, Van den Hurk R, Matos MHT, Santos RR, Pessoa C, Moraes MO, Figueiredo JR. Influences of FSH and EGF on primordial follicles during in vitro culture of caprine ovarian cortical tissue. *Theriogenology* 2004, in press..
Adriaens I, Cortvrindt R, Smits J. Differential FSH exposure in preantral follicle culture has marked effects on folliculogenesis and oocyte developmental competence. *Hum Reprod* 2004;19:398-408.
Cecconi S, Barboni B, Coccia M, Mattioli M. In vitro development of sheep preantral follicles. *Biol Reprod* 1999;60:594-601.
Fortune JE, Cushman RA, Wahl CM, Kito S. The primordial to primary follicle transition. *Mol Cel Endocr* 2000;163:53-60.

Keywords: preantral follicles, ovine, IAA, EGF, FSH.

Palavras-chave: folículos pré-antrais, ovino, IAA, EGF, FSH.



Mutações relacionadas à prolificidade em ovinos da raça Santa Inês no semi-árido do Nordeste brasileiro

Mutations related to the prolificacy in Santa Inês ovine breed in the Northwest of Brazil

G.M.L. Holanda¹, C.N.R. César², D.O. Santos³, J.P.A. Rêgo³, M. Adrião⁴, A. Wischral⁴

¹Pós-graduanda-UFRPE, Graduanda² –UFRPE, ³ EMBRAPA-CNPC Sobral, ⁴ Professor UFRPE
E-mail: aurea@dmv.ufrpe.br; madriao@dmfa.ufrpe.br

Introdução

A ovinocultura é uma importante atividade sócio-econômica na região Nordeste do Brasil, tendo um rebanho diversificado, em especial quanto à origem das raças que o compõe. O conhecimento de que algumas raças de ovinos nativos, como Santa Inês, possam apresentar linhagens com mutações em genes específicos relacionados à prolificidade, poderá criar uma alternativa para programas de melhoramento genético. Deste modo, considerando a importância da seleção de linhagens prolíficas, este estudo objetivou a identificação de mutações, responsáveis pela variação fenotípica da prolificidade, investigando rebanhos para essas características no semi-árido nordestino.

Material e Métodos

Foram utilizadas 30 fêmeas ovinas da raça Santa Inês, provenientes de três rebanhos do semi-árido nordestino. As amostras colhidas foram distribuídas em grupos com uma, duas e três crias por parto. O DNA foi extraído de leucócitos, através da técnica de fenol-clorofórmio modificada (Maniatis et al., 1989), e submetido à amplificação por PCR com *Primers* específicos (Davis, et al., 2002). Os produtos amplificados, foram digeridos com a enzima de restrição *AvaII* por um período de 4 horas, submetidos à eletroforese em gel de agarose 2%, visualizados sob luz ultravioleta e fotografados. As bandas encontradas foram analisadas, com relação a sua frequência, e relacionadas ao fenótipo de prolificidade.

Resultados e Discussão

Descobertas de que ovelhas altamente prolíficas carregam o gene *Booroola* (*FEC B*), o qual, é o resultado de uma mutação do receptor *BMP-IB*, permitiram o desenvolvimento de marcadores para essa característica (Mulsant et al., 2001). Em nosso experimento, empregando o conceito de marcação do gene da prolificidade, observou-se a presença de bandas com 160 e 190 pb em três fêmeas da raça Santa Inês, com história de duas e três crias por parto. Em outras raças nativas prolíficas também foi identificada a mutação *Fec B* com as presenças dos mesmos pares de bandas (DAVIS et. al., 2006). Tais achados, indicam que a mutação *Booroola* (*FecB*) também está presente em algumas linhagens de ovelhas nativas brasileiras. O conhecimento de algumas linhagens de ovinos nativos com alta prolificidade abre novos caminhos para pesquisas e sua utilização efetiva abre uma nova perspectiva na colocação da ovinocultura do semi-árido de forma competitiva nesse emergente segmento da economia brasileira.

Referências bibliográficas

- Davis GH, Galloway SM, Ross IK, Gregan SM, Ward J. DNA Tests in Prolific Sheep from Eight Countries Provide New evidence on Origin of *Booroola* (*FecB*) Mutation. *Biol Reprod* 66, 1869-1874, 2002.
- Davis GH, Balakrishnan L, Ross IK, Wilson T, Galloway SM. Investigation of the *Booroola* (*FecB*) and *Inverdale* (*FecX* (I)) mutations in 21 prolific brads and strains of sheep sampled in 13 countries. *Anim Reprod. Sci. Mar*;92(1-2):87-96, 2006.
- Maniatis T, Fritsch EF, Sambrook J. (Ed.) *Molecular cloning a laboratory manual*. v.1-3. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.
- Mulsant P, Lecerf FF, Fabres S, Schibler L, Monget P. Mutation in bone morphogenetic protein receptor-IB is associated with increased ovulation rate in *Booroola* Mérimo ewes. *Proc. Natl. Acad. Sci. New York*, v. 98, n.9, p.51-09, 2001.

Palavras-chave: ovino, Santa Inês, *Booroola*, gene da prolificidade.

Key words: Ovine, Santa Inês, ta Inês, *Booroola*, Proficacy gene.



Taxa de concepção em ovelhas deslanadas inseminadas por laparoscopia com sêmen congelado ou resfriado no Semi-árido baiano

Conception rates on laparoscopic inseminated sheep with frozen or cooled semen on the Semi-arid of Bahia

C.E.A Biscarde¹, L.E.P. Martins², R.F. Bittencourt¹, H.D. Gordiano², B. Ribeiro², F. Santos², D.V. Coelho, J. Resende², M. Chalhoub², A.L. Ribeiro Filho², A.L. Gusmão²

¹FMVZ – Unesp – Botucatu, ²Escola de Medicina Veterinária – UFBA
E-mail: ceabiscarde@yahoo.com.br

Introdução

A inseminação artificial (IA) em ovinos, surge como uma biotecnologia fundamental para a disseminação de material genético de machos considerados superiores zootecnicamente. Entretanto, para que sejam maximizados os benefícios dessa biotécnica é fundamental associá-la às técnicas de processamento de sêmen, seja ele o resfriamento ou a congelamento. Porém, os índices de concepção obtidos com a utilização do sêmen processado são inferiores àqueles descritos para o sêmen in natura, devido à sua menor viabilidade estrutural e fisiológica, o que reduz as suas chances de atingir o sítio de fertilização. Assim, a inseminação laparoscópica surge como uma alternativa para a aumentar das taxas de fertilização do sêmen processado, sendo neste trabalho, comparadas as taxas de concepção obtidas entre as fêmeas inseminadas com sêmen resfriado e congelado.

Material e Métodos

Esse experimento foi desenvolvido no município de Serra Preta, localizado no semi-árido baiano. Para tanto 64 ovelhas deslanadas foram divididas em dois grupos experimentais, sendo o grupo 1 (G1-n=19) submetido a IA com sêmen resfriado em diluidor a base de Tris-gema e o grupo 2 (G2-n=45) inseminado com sêmen congelado, proveniente de uma central de processamento de sêmen. As ovelhas foram tratadas com esponja impregnada com Medroxiprogesterona (Progespon®) por 11 dias e com 400 UI de eCG (Novormon®) no momento da retirada. A identificação do estro foi feita 36 horas após a retirada das esponjas. Para o sêmen congelado foi feito o reaquecimento em banho maria à 37°C por 30 segundos e, então, realizada a inseminação. O sêmen resfriado foi mantido em caixas de isopor a uma temperatura de 5°C, posteriormente envazado e inseminado diretamente, sem aquecimento prévio. As inseminações laparoscópicas foram realizadas 54 a 56 horas após a retirada da fonte de progesterona. O sêmen foi aplicado bilateralmente nos cornos uterinos, imediatamente após a bifurcação, com metade da dose para cada corno. Foi empregada uma dose inseminante total de 100 milhões de espermatozoides/0,25 mL. O diagnóstico de gestação foi realizado por ultra-sonografia 60 dias após a IA. As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do pacote estatístico SAS ® (Statistical Analyses System) utilizando o teste do qui-quadrado, para comparar as taxas de concepção obtidas entre as fêmeas inseminadas com sêmen resfriado e congelado.

Resultados e Discussão

Todas as ovelhas apresentaram-se em estro às 36 horas após a retirada do implante de progesterona. As taxas de concepção foram de 63,16% para o G1 e de 37,78% para o G2. Embora não tenha sido observada diferença significativa ($P>0,05$), o G1 apresentou uma tendência ($P=0,062$) a uma maior taxa de concepção. No presente estudo, a IA com sêmen congelado, apresentou índices de fertilidade superiores aos observados por LUZ et al. (2000) (32%) e por EPPLESTON & MAXWELL (1995) (17,3%). Estes últimos, no entanto, justificaram os baixos índices pelo fato de terem utilizado um reprodutor com baixa potencial de congelabilidade do sêmen. É importante enfatizar que para que se obtenham índices de fertilidade satisfatórios com o programa de IA nas propriedades de ovinos, além do sêmen de boa qualidade, também devem ser empregadas condições ideais de manejo nutricional e sanitário.

Referências bibliográficas

Luz, S.N.L.; Neves, J.P.; Gonçalves, P.B.D. Parâmetros utilizados na avaliação do sêmen congelado ovino para inseminação laparoscópica. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.37, p.141-145, 2000.

Palavras-chave: Ovinos, inseminação artificial, sêmen resfriado e congelado.

Keywords: Ovine, artificial insemination, cooled and frozen semen.



Avaliação da cinética, da integridade acrossomal e do estresse oxidativo em espermatozoides ovinos criopreservados com ácido ascórbico e Trolox

Kinetics, acrosome integrity and oxidative stress evaluation on the ram sperm submitted to cryopreservation with ascorbic acid and Trolox

A.L.V.A. Peixoto¹, P.L.J. Monteiro Jr¹, S.V. Silva¹, J.F. Nunes², C.C.M. Salgueiro², M.M.P. Guerra¹

¹ANDROLAB,UFRPE, ²Laboratório de Tecnologia do Sêmen, UECE. E-mail: analydia@esser.edu.br

Introdução

A adição de vitamina C (Vit C) e/ou Trolox ao diluidor promove efeito benéfico sobre os parâmetros espermáticos (MIP, integridade de acrossoma e DNA) do sêmen ovino submetido à criopreservação (GUERRA et al., 2005), em virtude de proteger as membranas da peroxidação lipídica (LPO), reduzir a ação do peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e combater os danos ao DNA (AGARWAL et al., 2004). A análise computadorizada do sêmen (CASA) tem sido descrita em diversas espécies domésticas para determinar características de movimentação espermática como velocidade, frequência de batimento flagelar e amplitude da cabeça, que predizem a condição fisiológica de cada célula no sistema genital feminino. Objetivou-se com este estudo avaliar a cinética, a integridade acrossomal e o estresse oxidativo de espermatozoides ovinos criopreservados com ácido ascórbico e Trolox.

Material e Métodos

Sêmen de três carneiros da raça Santa Inês (quatro ejaculados/animal) foi colhido com vagina artificial. Após análise macroscópica e microscópica de cada ejaculado, o *pool* do sêmen dos animais foi diluído em: T1= Diluidor Tris-Gema (TG); T2 = TG+Vit C (600 µM); T3 = TG + Trolox (60µM) e T4 = TG + Vit C (600µM) + Trolox (60µM), envasado em palhetas (0,25 mL; 75 x 10⁶ espermatozoides) e congelado. Após descongelamento, analisou-se as amostras no Momento 0 e após 60 minutos de incubação a 37 °C, quanto a motilidade cinética espermática, integridade acrossomal (iAc; FITC-PNA) e grau de estresse oxidativo (NBT test). Realizou-se análise de variância (ANOVA), e p<0,05.

Resultados e Discussão

A adição de antioxidantes não preservou os parâmetros espermáticos, independente do grupo (Tab 1), divergindo de Guerra et al. (2005). Este fato pode ser explicado pelo elevado grau de estresse oxidativo ocorrido nestas células. Conclui-se que a adição de Vit C e Trolox, nas concentrações de 600 e 60µM, respectivamente, não minimiza os danos espermáticos causados pelo estresse oxidativo.

Tabela 1- Média e desvio padrão (M ± DP) da cinética espermática, da integridade do acrossomal e estresse oxidativo do sêmen ovino criopreservado com vitamina C e Trolox

	0'				60'			
	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4
MT (%)	47,7±28,3 ^A	44,3±28,1 ^A	36,4±27,9 ^A	32,7±21,2 ^A	48,0±26,9 ^B	52,1±25,3 ^B	34,3±12,5 ^B	32,4±19,1 ^B
MP (%)	8,2±3,3 ^A	7,7±3,4 ^A	6,8±3,7 ^A	6,4±2,8 ^A	7,6±3,1 ^B	6,8±2,5 ^B	4,9±1,6 ^B	5,6±1,8 ^B
VSL(µm/s)	32,7±2,0 ^A	31,0±3,0 ^A	33,2±3,0 ^A	32,0±1,9 ^A	28,7±2,5 ^B	29,3±1,5 ^B	29,2±0,5 ^B	29,1±1,1 ^B
VAP(µm/s)	55,3±2,3 ^A	53,7±3,8 ^A	54,0±1,7 ^A	53,5±2,6 ^A	51,8±2,9 ^B	52,3±2,7 ^B	51,9±0,9 ^B	50,6±2,3 ^B
AI (%)	68,5±12,7 ^A	76,6±7,3 ^A	70,4±6,0 ^A	80,3±8,6 ^A	49,4±11,2 ^B	66,5±11,0 ^B	56,1±7,1 ^B	56,0±4,6 ^B
SOX (%)	73,7±3,4 ^A	75,5±3,4 ^A	77,7±9,9 ^A	74,7±9,2 ^A	72,7±7,8 ^B	83,6±7,1 ^B	87,3±4,2 ^B	86,9 ± 7,8 ^B

MT = motilidade total; MP = motilidade progressiva; VSL = velocidade progressiva; VAP = velocidade de trajeto; AI = acrossomas integros; SOX= estresse oxidativo. Letras diferentes indicam p<0,05.

Referências bibliográficas

Agarwal A, Nallela K P, Allamaneni S S R, Said T M. Role of antioxidants in treatment of male infertility: an overview of the literature. *Reprod.BioMed., Online*, v. 8, p. 616-627, 2004.
Guerra MMP, De Graaf S, Underwood S, Maxwell W M C. Efeito de vitamina C e E na viabilidade de espermatozoides ovinos submetidos à diluição, coloração com HOECHST 33342 e congelamento. In: Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, 2, 2005, Teresina. *Proceedings* ..Teresina: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 2005. CD- ROM.

Palavras-chave: Cinética, integridade do acrossoma, estresse oxidativo, espermatozoide.

Keywords: Kinetics, acrosome, oxidative stress, spermatozoa.



Qualidade e viabilidade de oócitos ovinos provenientes de ovários de matadouro para produção *in vitro* de embriões

Quality and viability of slaughter house oocytes for ovine embryo production in vitro

J.F. Panattoni¹, J.H.F. Pontes³, R.V. Sala², R.S. Jorge², S.S. Alves Jr², C.L. Figueiredo¹,
P.C. Oliveira¹, M.A. Miglino^{1,4}

¹ Professores e ² Alunos Curso de Medicina Veterinária – UNIFEOB - São João da Boa Vista – SP - Brasil

³ In Vitro Brasil Ltda. – Mogi Mirim – SP – Brasil; ⁴ Professor FMVZ – USP – São Paulo – Brasil

Email: coordvet@unifeob.edu.br

Introdução

A produção e comercialização de embriões produzidos em laboratório através das tecnologias *in vitro* já é realidade na bovinocultura nacional, entretanto a produção *in vitro* de embriões ovinos embora seja possível, ainda requer aprimoramento para tornar-se uma ferramenta comercialmente promissora no Brasil.

Foi avaliada neste trabalho a potencialidade de produção de embriões ovinos *in vitro*, a partir de oócitos provenientes de ovários de matadouro, classificados de acordo com a qualidade morfológica e integridade dos complexos oócito/células do cúmulus (COCS).

Material e Métodos

Os ovários coletados em matadouro foram prontamente armazenados em recipiente térmico a 28°C para transporte e no laboratório, foram lavados 2 vezes com solução salina aquecida, mantidos a 30°C e todos os folículos visíveis foram aspirados com seringa e agulha 25X7. Um total de 462 COCS foram selecionados morfológicamente em lupa estereoscópica e distribuídos em 3 grupos: **GI + GII** (duas ou mais camadas de células foliculares ao redor do oócito), **GIII e desnudos** (poucas ou nenhuma célula folicular ao redor do oócito) e grupo **Citoplasma irregular**. Cada grupo foi submetido aos mesmos procedimentos de maturação (MIV), fecundação em meio Talp enriquecido com 20% de soro de ovelha no estro (FIV) e cultivo (CIV) *in vitro*. No primeiro procedimento envolvendo um total de 323 oócitos foi utilizado sêmen congelado de um reprodutor da raça Santa Inês e no segundo procedimento com 139 oócitos, utilizou-se sêmen fresco diluído de outro reprodutor de mesma raça, coletado com vagina artificial.

Resultados e Discussão

Estão descritas na tabela abaixo as percentagens de maturação (MAT), clivagem (CLIV) e de embriões viáveis (D7), para cada grupo de oócitos classificados morfológicamente, utilizando-se na FIV sêmen congelado e fresco. Embora as taxas de maturação não difiram entre os três grupos nos dois procedimentos experimentais, o grupo GI + GII apresentou os melhores índices de clivagem e obtenção de embriões viáveis corroborando nossas expectativas. No entanto, a diferença constatada na clivagem entre os dois procedimentos para o grupo GI + GII (23,29% e 74,65%), nos reporta à importância do sêmen utilizado na FIV, pois além de serem provenientes de machos distintos, apresentou a melhor média de clivagem o grupo de oócitos fecundados com sêmen congelado. Nossos resultados demonstram a importância da seleção dos COCS para a obtenção de melhores índices, bem como, a importância decisiva do sêmen no sucesso da FIV, pois embora o processo de congelamento favoreça a capacitação prematura dos espermatozoides, os melhores resultados foram obtidos com o sêmen congelado, indicando que a aptidão do sêmen do reprodutor ao procedimento, consiste o fator de importância maior.

Morfologia Oócitos	Sêmen congelado			Sêmen fresco		
	MAT	CLIV	D7	MAT	CLIV	D7
CITOPLASMA IRREGULAR	81,05 ^b	41,05 ^b	6,32 ^b	86,11 ^a	5,56 ^b	2,78 ^b
GI + GII	94,37 ^a	74,65 ^a	21,83 ^a	95,89 ^a	23,29 ^a	19,18 ^a
GIII + DESNUDOS	84,88 ^b	45,35 ^b	45,35 ^b	83,33 ^a	16,67 ^{a,b}	3,33 ^b

Porcentagens seguidas por mesma letra e em mesma coluna, não diferem entre si em nível de 5% de probabilidade pelo teste Qui-quadrado.

Referências bibliográficas

- Cognié, Y.; Baril, G.; Poulin, N.; Mermillod, P. Current status of embryo technologies in sheep and goat. *Theriogenology*; v. 59, p. 171–188, 2003.
- Cognié, Y.; Baril, G.; Poulin, N.; Mermillod, P. State-of-the-art production, conservation and transfer of in vitro produced embryos in small ruminants. *Reprod Fertil and Dev*; v. 16, p. 437-445, 2004.

Palavras-chave: ovinos, oócitos, embriões, *in vitro*.

Keywords: ovine, oocytes, embryos, *in vitro*.

Agradecimento: FAPESP – Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo.



Influência da distancia entre o nível de nitrogênio líquido e as palhetas de sêmen ovino durante o processo de congelamento

Influence of distance between liquid nitrogen and straws heep semen position during freezing process

**C.F. Queiroz¹, R.F. Solano², O.G. Solano³, J.M.D. Bezerra¹, S.T. Rolim Filho⁴,
A.R. Simões⁴, M.J.L. Bolivar⁴**

⁽¹⁾Veterinário Autônomo; ⁽²⁾Laboratório de Genética e Biotecnologia da Reprodução Universidade Estadual do Maranhão; ⁽³⁾Aluno de Pós-graduação Ciência Animal-UFPA; ⁽⁴⁾Universidade Federal Rural da Amazônia.
E-mail: solanoferro@yahoo.com.br

Introdução

O processo de conservação de sêmen ovino provoca sérios danos nos espermatozoides que reduzem sua viabilidade, interferindo assim na sobrevivência e capacidade fecundante. A redução da taxa de fertilidade verificada após o processo de congelamento e descongelamento está relacionada, principalmente, aos danos causados ao funcionamento e às estruturas das membranas dos espermatozoides GRANHAM (1996). Estas lesões acontecem principalmente nas células espermáticas durante a curva de congelamento, que é influenciada pela altura das palhetas em relação à superfície do nitrogênio líquido.

Material e Métodos

Foram coletados 16 ejaculados de dois reprodutores ovinos sem raça definida (SRD). Os ejaculados foram avaliados segundo os parâmetros: volume, cor, odor, Motilidade Individual Progressiva (MIP), Percentual Espermatozoides Móveis (PEM), vigor e concentração espermática em câmara de Neubauer (diluição 1:20). As amostras foram submetidas a Teste de integridade da membrana como choque hiposmótico e coloração supravital (eosina) que demonstraram a percentagem de espermatozoides íntegros (%). Os ejaculados foram diluídos em soluções Tris; 3,634g-frutose; 0,5g-gema de ovo 15ml acrescentada ao 7% de glicerol e envasado em palheta de 0,50 ml, à concentração de 400×10^6 spz/ml. Foram testadas no experimento três alturas (1,0; 3,0; e 5,0 cm), entre a distancia das palhetas e o nível de nitrogênio líquido. Em seguida as palhetas permaneceram 10 minutos e posteriormente imersas no nitrogênio. Para a influência das diferentes alturas se utilizou o teste de análise de variância.

Resultados e Discussão

A análise estatística revelou haver diferenças significativas ($P < 0,05$) dos parâmetros espermáticos pós-descongelamento com o emprego de diferentes alturas de congelamento das palhetas acima do nível de nitrogênio. A altura 5,0cm mostrou resultados superiores ($P < 0,05$) às demais, na maioria dos parâmetros aferidos, confirmando que esta altura foi semelhante à encontrada por MARTIN (1979) e DEELL'AQUA JR. (2002). Com base nos resultados obtidos, parece ser que a altura de 5,0cm acima do nitrogênio líquido é a ideal, para manter a integridade e viabilidade espermática no processo de congelamento de sêmen ovino.

Referências Bibliográficas

- Graham, E.F.** Fundamentals of the preservation of spermatozoa, In The integrity of Frozen Spermatozoa. **Proc. Conf.** Natl. Acad. Sci. Washington, DC., p.4-44, 1996.
- Dell' Agua, Jr. J.A.** Efeito da centrifugação, tipos de embase e temperatura de descongelamento sobre os parâmetros espermáticos. Botucatu, 2002. **Tese de Mestrado**, 81 p. Faculdade de medicina veterinária e Zootecnia - UNESP, Botucatu-SP.
- Martin, J.C. et al.** Centrifugation of atallion semen and its storage in large straws. **J. Reprod. Fertil. Supp.**, v. 27, p. 47-51, 1979.

Palavras Chaves: Congelamento. Sêmen. Ovino.

Key words: Freezin. Semen. Sheep.



Sincronização do estro com implantes de Norgestomet em protocolos de IATF em ovelhas da raça Santa Inês

Synchronization of estrus using Norgestomet in protocols of FTAI in Santa Inês sheep

**H.L.L. Sousa¹, L.F.S. Rodrigues¹, M.E.F. Oliveira², A.C.B. Moura¹, P.P.M. Teixeira¹, M.M. Penha-Filho¹,
Loureiro F.N.¹, C.A.L. Pinheiro¹**

¹CPCOP/UFRA, Belém - PA, Brasil, ²UNESP/FCAV, Jaboticabal - SP, Brasil
E-mail: cpcop@yahoo.com.br

Introdução

Programas de sincronização do estro em ovelhas são ferramentas reprodutivas capazes de aumentar a produtividade, além de fornecer base para o desenvolvimento de outras biotecnologias da reprodução. Diversos protocolos têm sido desenvolvidos, cada qual com suas peculiaridades inerentes a cronologia e aos fármacos empregados. Nos pequenos ruminantes, a efetiva sincronização do estro tem sido obtida pelo uso de esponjas intravaginais impregnadas com acetato de medroxiprogesterona (MAP) ou acetato de fluorogesterona (FAG) (Dias et al., 2001). Estudos comprovam ainda que o uso implantes impregnados com Norgestomet são métodos eficientes de sincronização em algumas espécies. Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência da sincronização do estro e taxa de prenhez de fêmeas ovinas da raça Santa Inês sincronizadas com implantes de Norgestomet em programa de inseminação artificial em tempo fixo.

Material e Métodos

O estudo foi realizado no Centro de Pesquisa de Caprinos e Ovinos do Pará da Universidade Federal Rural da Amazônia. Foram utilizadas 17 fêmeas ovinas da raça Santa Inês, criadas em sistema semi-intensivo, as quais foram divididas aleatoriamente em dois grupos e, submetidas a protocolos de sincronização do estro. O grupo 1 (n=9) recebeu implante sub-cutâneo impregnado com 1,5 mg de norgestomet (Crestar® - Intervet) e o grupo 2 (n=8) implantes intravaginais contendo 60 mg de MAP (Progespon® - Tecnopec). Após a retirada dos implantes no 14º dia e a aplicação intramuscular de 300 UI de eCG, a ocorrência do estro foi observada a cada 6 horas com auxílio de rufiões e feita a inseminação artificial intrauterina via trans-cervical na 52ª hora após retirada dos implantes. O diagnóstico de prenhez foi realizado 30 dias após as inseminações por ultrassonografia. Na comparação do número de fêmeas em estro e percentual de prenhez utilizou-se o teste de Qui-quadrado ($P > 0,05$)

Resultados e Discussão

As fêmeas sincronizadas com Norgestomet apresentaram estros concentrado entre 24 e 36 horas, enquanto as que receberam o tratamento com implantes de MAP mostraram uma ocorrência de estro mais distribuída ao longo do período de observação. O percentual de prenhez verificada entre os grupos foi de 55,5% e 66,6% para os implantes de Norgestomet e MAP respectivamente, não observando diferença estatística. Este estudo demonstra que os dois tratamentos de sincronização do estro mostraram-se eficazes na utilização de protocolo longo para a IATF em ovinos deslanados, criados em condição climática do Norte do Brasil. Obs: Este trabalho recebeu patrocínio parcial da INTREVET.

Referências bibliográficas

Dias, F.E.F; Lopes Junior, E.S; Villaroel A.B.S; Rondina, D.; Lima-verde, J.B.; Paula, N.R.O.; Freitas, V.J.F. Sincronização do estro, indução da ovulação e fertilidade de ovelhas deslanadas após tratamento hormonal com gonadotrofina coriônica equina. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* vol.53 no.5 Belo Horizonte Oct. 2001.

Palavras-chave: Sincronização, Ovinos, progestágenos, características do estro.

Keywords: Oestrus Synchronization, ovine, progesterone, estrous characteristics.

Eletroforese bidimensional da membrana plasmática de espermatozóides caprinos

(*Bidimensional electrophoresis of the plasmatic membrane of goat spermatozoa*)

D.O. Santos¹, A.E.D.F. Silva², A.A. Simplicio³, E.A.R. Vasconcelos⁴, F.A.P. Campos⁴

¹Médico Veterinário, Embrapa Caprinos; ²FMVZ-UNESP; ³UFERSA; ⁴UFC - diones@cnpcembrapa.br

Introdução

A eletroforese bidimensional (2-DE) separa proteínas em duas dimensões pelo ponto isoelétrico (pI) e o peso molecular (kDa), em gel de poliacrilamida. As proteínas aparecem sob forma de *spots* (pontos). Este estudo buscou o perfil protéico da membrana plasmática dos espermatozóides congelados de caprinos, pela 2-DE. E, ser usada como marcador de congelabilidade na seleção precoce de doadores de sêmen.

Material e Métodos

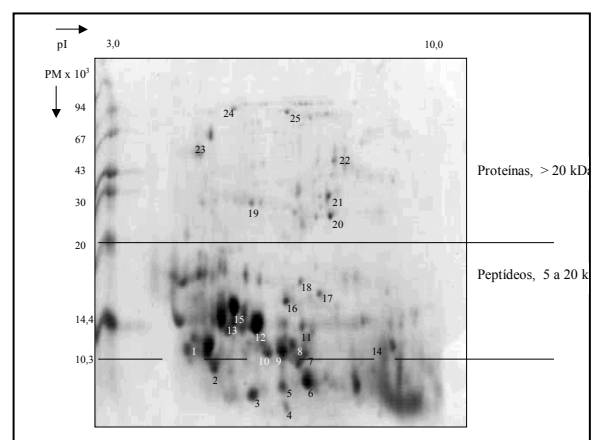
O sêmen foi colhido de seis caprinos da raça Anglo-nubiana, em vagina artificial e congelado. As proteínas foram obtidas de acordo com BERKELMAN e STENSTED (1998), com tampão de lavagem *Tris-Cloreto (TC)*, pH 7,4 para remoção do diluidor e crioprotetor, e o tampão de extração, o *TC-Triton X 100*, a 0,2%, e tratado com Ácido tricloroacético (TCA), a 10%. Os spots separados no gel SDS-PAGE a 15% são mostrados na Figura 1, devidamente enumerados.

Resultados e Discussão

A 2-DE revelou a presença de 25 *spots* de 5,7 a 65,4 kDa e pI de 4,6 a 8,7, consideradas como: peptídeos, as inferiores a 20 kDa e como proteínas, as 30 a 94 kDa. O marcador de peso molecular foi de 14.400 a 94.000 daltons. Os peptídeos, 8,4 e 10,3 kDa são semelhantes aqueles de LIMA DIAS (2000), e são correlacionados com a motilidade de 70 a 80%. Esses peptídeos, no sêmen congelado, provavelmente, atuam de forma inversa e estão associados à queda da motilidade na pós-descongelação. A abundância de proteínas espermáticas de baixo peso molecular evidenciada neste estudo poderá ser responsável pela baixa fertilidade, conforme relatam UNANIAN et al. (2001) quanto à presença de proteínas de baixa massa molecular como a baixa fertilidade, em bovinos da raça Nelore. Apesar destes achados mais estudos são necessários para melhor caracterizar o papel das proteínas espermáticas na congelabilidade do sêmen.

Proteínas de membrana dos espermatozóides descongelados de caprinos da raça Anglo-nubiana.

N ^o . Spot	Peso Mol. (kDa)	(pI)
1, 8 e 14	10,3	4,6 a 8,7
2	8,4	4,7
3	6,4	5,2
4	5,7	6,3
5	6,9	6,1
6	8,1	6,7
7 e 10	10,5	5,7 a 6,7
9	10,0	6,2
11	11,8	6,6
12 e 13	12,2	5,0 a 5,6
15	13,6	5,2
16	14,1	6,3
17	14,5	7,0
18	16,6	6,6
19	38,3	5,6
20	26,8	7,3
21	31,3	7,2
22	36,4	6,7
23	64,2	4,6
24	65,4	5,5
25	61,3	6,5



Referências bibliográficas

- Berkelman, T., Stenstedt, T.** 2-D electrophoresis: using immobilized pH gradients, principles & methods. Piscataway: Amersham Pharmacia Biotech, 1998. 50p.
- Lima Dias, A.** Estudos morfofisiológicos de componentes protéicos para caracterizar diferenças entre espermatozóides do ejaculado e epidídimo, em bovinos. 2002. 82p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.
- Unanian, M.M., Bloch Junior, C., Silva, A.E.D.F.** Proteínas de baixa massa molecular do plasma seminal de bovinos (*Bos indicus*) indicadas pelo método MALDI-TOF/MS. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 38., 2001, Piracicaba. Anais... Piracicaba: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2001. CD-ROM.

Palavras-chave: Caprino, proteína, congelação, fertilidade.

Keywords: Goat, protein, congelation, fertility.



Efeito da época do ano, da raça do reprodutor e do tipo de cobertura na frequência de gestação de cabras Anglonubiana

Effect of season, breed of bucks and AI/natural couple on pregnancy rates in the Anglonubiano goats

M.B. Salviano¹, J.A.T. Souza², J.E.G. Campelo², L.A.S. Figueiredo Filho¹, R.A.B. Silva¹, J.A.G. Carvalho¹

¹Graduandos em Medicina Veterinária – CCA/UFPI; ²Professores Adjunto - CCA/UFPI; E-mail: adalmir@ufpi.br

Introdução

A insensibilidade caprina ao fotoperíodo, em regiões próximas à linha do equador, possibilita programar estação de monta para o ano todo, de modo a adequá-la à melhor época de nascimento das crias. Nas regiões semi-áridas, a época adequada para as parições, tem sido baseada na disponibilidade de alimentos (Traldi, 2001), que é limitada na época seca, ou no risco de infestação parasitária, que é maior na época chuvosa. Assim, programar partos para a estação chuvosa implica em estação de monta na época seca, o que pode comprometer índices reprodutivos do rebanho, em função da temperatura ambiente se apresentar fora da faixa de conforto térmico dos animais, com possível redução da qualidade espermática (Jesus & Gabriel, 1998). Nessa pesquisa objetivou-se analisar a frequência de gestação de cabras Anglonubiana, com “estação de monta” implantada nas épocas seca e chuvosa.

Material e Métodos

Dados de duas estações de monta em caprinos, uma na época seca, e a outra na chuvosa, foram obtidos no Setor de Caprinos da UFPI, envolvendo reprodutores Boer e Anglonubiana. Utilizou-se 116 cabras Anglonubiana, 64 na primeira e 52 na segunda estação de monta. Na primeira, formou-se dois grupos: G1 e G2, ambos com 32 fêmeas. Cada grupo foi subdividido em dois subgrupos: G1a=16, inseminadas com Boer e G1b=16, cobertas com Boer; e G2a=16, inseminadas com Anglo e G2b=16, cobertas com Anglo. Na segunda estação, mesmo procedimento foi adotado, variando apenas o número de animais: 13 para cada subgrupo. Na inseminação, utilizou-se sêmen diluído, dos próprios reprodutores usados na monta natural. As fêmeas foram sincronizadas e inseminadas, com seguinte protocolo: D0, colocação de esponjas intravaginais contendo 60mg de MAP; D7, aplicação IM de eGC (200UI/anim.) e Cloprostenol (100mg/anim.); D9, remoção das esponjas e D11, inseminação (36h após remoção da esponja). Utilizou-se para análise a taxa de prenhez, determinada por US, segundo a época do ano, raça do reprodutor, tipo de acasalamento e repasse. Os dados foram analisados pelo teste do Qui-quadrado ($p < 0,05$).

Resultados e Discussão

Nas duas estações do ano, a monta natural foi mais eficiente que a IA, tanto para Boer como Anglo. Apenas na época seca observou-se influência do reprodutor na frequência de gestação, em que IA favoreceu a raça Boer e a monta natural a Anglo. A taxa de gestação para o Boer foi maior na estação chuvosa (56,25% x 88,46%) ao passo que para o Anglo foram iguais (68,75% x 73,08%). Dentro da mesma estação as taxas de gestação do Boer e do Anglo foram iguais, tanto no período seco (56,25% x 68,75%) como chuvoso (88,46% x 73,08%). Quanto ao repasse, o índice de gestação foi igual à IA e menor à monta natural, para os dois reprodutores, dentro e entre as estações, exceto para o Anglo, na época seca, onde o repasse foi igual à monta natural (68,75% x 50,00). A influência negativa do período seco sobre a fertilidade de caprinos (Jesus & Gabriel, 1998; Traldi, 2001), pode justificar o baixo índice de gestação à IA, nesse período. Conclui-se que, as boas condições ambientais da época chuvosa foram essenciais para melhorar os índices reprodutivos.

Tabela 1-Frequência de gestação por IA, monta natural controlada e por repasse, de reprodutores das raças Boer e Anglo, em abras Anglo, na época seca e na chuvosa, em Teresina, PI.

Reprod.	Gestação na Estação Seca (%)				Gestação Estação Chuvosa (%)			
	IA	Monta	Repasse	Taxa de Prenhes	IA	Monta	Repasse	Taxa de Prenhes
Boer	31,25 ^{Ab}	50,00 ^{Ba}	26,31 ^{Ab}	56,25 ^{Ba}	46,15 ^{Ab}	84,62 ^{Aa}	66,67 ^{Ab}	88,46 ^{Aa}
	(5 / 16)	(8 / 16)	(5 / 19)	(18 / 32)	(6 / 13)	(11 / 13)	(6 / 9)	(23 / 26)
Anglo	6,25 ^{Bb}	68,75 ^{Aa}	50,00 ^{Aa}	68,75 ^{Aa}	46,15 ^{Ab}	69,23 ^{Aa}	36,36 ^{Ab}	73,08 ^{Aa}
	(1 / 16)	(11 / 16)	(10 / 20)	(22 / 32)	(6 / 13)	(9 / 13)	(4 / 11)	(19/26)

* Letra minúscula igual na coluna e maiúscula na linha (entre épocas), não diferem pelo teste de Qui-quadrado ($P < 0,05$).

Referências Bibliográficas

- Traldi, A.S. Técnicas para otimizar o desempenho reprodutivo de cabras leiteira. In: A PRODUÇÃO ANIMAL NA VISÃO DOS BRASILEIROS. Piracicaba: FEALQ. p. 474-83. 2001.
- Jesus, V.L.T.; Gabriel, A.M.A. Fatores que interferem na inseminação artificial: buscando soluções. *Rev. bras. Repr. Anim.*, v.22, n. 2, p.49-112. 1998.

Palavras-chave: ambiente, caprinos, índice reprodutivo, gestação.



Substituição da gonadotrofina coriônica equina (eCG) pelo cipionato de estradiol (CE) no protocolo de sincronização de estro de curta duração em ovelhas Santa Inês

Substitution of equine corionic gonadotrfin for estradiol cipionate in the short duration protocol of oestrous synchronization in Santa Ines ewe

M.S. Ferraz, R.D. Barbosa, E.C.A. Silva, J.M. Silva, M.A. Vieira Filho, R.J. Vieira

Afiliação: Universidade Federal do Piauí – UFPI
E-mail: mairasferraz@yahoo.com.br; rvieira@yahoo.com.br

Introdução

No Nordeste, a produção deficiente de ovinos se dá pela ausência de tecnologias nos sistemas de produção, tornando sua eficiência limitada pelos índices reprodutivos. Entre os avanços tecnológicos para melhorar a eficiência reprodutiva incluem-se a indução e sincronização do estro e a inseminação artificial (DIAS et al., 2001). Nos pequenos ruminantes a sincronização do estro tem sido obtida pelo uso de esponjas intravaginais impregnadas com progestágenos de acetato de medroxiprogesterona (MAP) ou acetato de fluorogesterona (FAG) (SOUSA et al., 2005). Em cabras, a associação de eCG ao protocolo melhorou a resposta quanto à frequência e a taxa de ovulação, bem como antecipou a ovulação e permitiu um melhor grau de sincronia nas ovulações em cabras tratadas (MACHADO e SIMPLÍCIO, 2001). Em ovinos Simonetti et al., (1999) mostraram taxa de sincronização do estro de 92,93% em ovelhas tratadas com MAP e com injeção de eCG, sendo que os mesmos animais apresentaram estro desde 28 até 68 horas após o tratamento. Maffili et al., (2005) concluíram que a utilização do CE associado a Progesterona natural e ao MAP, mostrou-se eficiente em sincronizar a emergência de onda folicular. Entretanto, trabalhos correlacionando o efeito da associação entre esteróides e a dinâmica folicular, bem como seu efeito sobre a sincronização do estro em ovinos são escassos. O presente trabalho teve o objetivo de avaliar o efeito da substituição da eCG pelo CE num protocolo de sincronização de estro de curta duração em ovelhas Santa Inês.

Material e Métodos

O experimento foi realizado no município de Teresina – PI. Foram selecionadas ao acaso 28 ovelhas Santa Inês com idade variando de oito a 36 meses e pesando entre 35 e 45 kg. Foram formados dois grupos, sendo GI com 13 e GII com 15 fêmeas. Todas foram impregnadas intravaginalmente com MAP, tratadas com antibiótico spray e injeção intramuscular de prostaglandina F_{2α} (Dia 0). As 13 fêmeas do GI foram submetidas à retirada em D9 e à aplicação de CE por via intramuscular em D10. No GII 15 fêmeas foram submetidas à aplicação de eCG em D7 e posterior retirada da esponja em D9. Utilizou-se rufiação e cobertura natural por reprodutores testados andrológicamente. A taxa de gestação foi confirmada pela observação dos partos.

Resultados e Discussão

Os animais do GI apresentaram sinais de estro entre 12 e 72 horas após a aplicação do CE enquanto que os animais do GII apresentaram estro após 24 a 48 horas da aplicação de Ecg. Quanto à gestação, os animais do GI não apresentaram gestação, enquanto que os animais do GII apresentaram uma taxa de gestação de 46,67%. Diferentemente dos resultados obtidos por Maffili et al. (2005) em cabras Saanem, o tratamento com esponjas intravaginais e aplicação de CE não resultou em taxas satisfatórias de gestação quando comparado ao tratamento com eCG.

Referências bibliográficas

- Dias, F.E.F., Lopes Junior, E.S., Villaroel, A.B.S., Rondina, D., Lima-Verde, J.B., Paula, N.R.O.; Freitas, V.J.F.** Sincronização do estro, indução da ovulação e fertilidade de ovelhas deslanadas após tratamento hormonal com gonadotrofina coriônica equina. *Arq. Bras. de Méd. Vet. e Zootec.*, v.53, n.5, Belo Horizonte, 2001.
- Machado, R.; Simplicio, A.A.** Avaliação de programas hormonais para a indução e sincronização do estro em caprinos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.36, n.1, p.171-178, 2001.
- Maffilli, VV; Torres, CAA.; Fonseca, JF; Moraes, EA; Pontes, RAM.** Sincronização do estro de cabras da raça Saanem com esponja intravaginal e CIDR-G. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec*, v.57, n.5, p.591-598, 2005.
- Simonetti, L; Ramos, G; Gardon, JC.** Apresentação e distribuição de estro nas ovelhas tratadas com esponjas intravaginais impregnadas com acetato de medroxiprogesterona (MAP) em combinação com gonadotrofina de égua prenhe (PMSG). *Braz. Jour. Vet. Res. and Anim. Scie.*, São Paulo, v.36, n.5, 1999.
- Sousa, H.L.L.; Rodrigues, L.F. de S.; Teixeira, P.P.M.; Oliveira, M.E.F.; Moura, A.C.de B., Loureiro, F.N.de; Penha-Filho, M.M.; Pinheiro, C.A. de L.** Comparação do efeito de diferentes vias de implantes de progesterona na sincronização do estro em ovelhas da raça Santa Inês. In: **III Congresso Norte Nordeste de Reprodução Animal** (CONERA), Anais: Resumos, Belém, 2005.

Palavras-chave: sincronização, ovinos, eCG, estradiol.

Keywords: synchronization, ovine, eCG, estradiol.



Taxas de prenhez e perda embrionária precoce em programa comercial de transferência de embriões (TE) em éguas da raça Mangalarga Marchador

Pregnancy rates and early embryo loss in a comercial embryo transfer program in Mangalarga Marchador Mares

A.N. Rocha¹, E.P. Lopes¹, J.D. Guimarães², J.B. Siqueira³, C.A.A. Torres⁴, R.O. Pinho², G.R. Carvalho⁴

¹ Médico Veterinário Autônomo, ² Departamento de Medicina Veterinária, UFV/MG, ³ Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária, UNESP/SP, ⁴ Departamento de Zootecnia da UFV/MG
E-mail: jbsiqueira@hotmail.com

Introdução

A perda embrionária precoce (PEP) tem-se mostrado o maior fator de subfertilidade e redução da eficiência reprodutiva em éguas, ocasionando grandes perdas econômicas e maior retenção das doadoras e receptoras no programa de TE. O presente estudo teve como objetivo caracterizar e avaliar a taxa de prenhez e PEP de éguas receptoras da raça Mangalarga Marchador em programas comerciais de transferência de embriões.

Material e Métodos

Utilizou-se 830 embriões recuperados de doadoras de quatro haras, localizados nos Estados de MG e RJ, no período de 1998 a 2004, com estação de monta de agosto a maio. As doadoras foram cobertas ou inseminadas a cada 48 horas desde a detecção de foliculo ≥ 35 mm até a ovulação. As colheitas dos embriões foram realizadas de sete a quatorze dias após a ovulação. Os embriões recuperados foram “lavados” quatro a cinco vezes no meio antes de serem envasados e inovulados aleatoriamente entre o corpo e o ápice dos cornos ipsi ou contra-lateral ao ovário com o corpo lúteo. Todos os embriões foram inovulados, independentemente da qualidade embrionária. O diagnóstico de gestação foi realizado por avaliações ultra-sonográficas aos 15 dias a partir da data de ovulação da doadora e nas fêmeas gestantes o exame foi repetido aos 30, 45 e 60 dias, para de verificar a taxa de perda embrionária precoce. Para análise estatística foram utilizadas as correlações de Pearson e o Teste Qui-quadrado com probabilidade de 5% de erro.

Resultados e Discussão

Nas seis estações reprodutivas estudadas a média geral para a taxa de prenhez aos 15 dias foi de 73,4%. As taxas de prenhez e de PEP aos 30, 45 e 60 dias foram de: 69,9 e 4,8%; 66,7 e 9,0%; e 64,5 e 12,2%, respectivamente, havendo diferença entre estações ($P < 0,05$). No geral, mostraram-se próximas aos valores obtidos em projetos comerciais de TE realizados no Brasil (FLEURY et al., 1989; JACOB et al., 2002), porém, com menor variação e valores médios superiores aos observados por Squires et al. (1999) para transferência não cirúrgica (50 a 75%). As taxas de PEP são compatíveis com os valores descritos para éguas férteis (BALL, 1993). Essas taxas demonstram que a TE pode ser realizada comercialmente mesmo estando sujeita aos obstáculos naturais observados a campo, mantendo resultados comparáveis aos obtidos em condições experimentais, mostrando que a TE não traz prejuízos à eficiência reprodutiva dos plantéis equinos.

Referências Bibliográficas

- Ball B.A.** Embryonic death in mares. In: McKINNON, A.O.; VOSS, J.L. *Equine reproduction*. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. p. 517-531.
- Fleury JJ, Costa Neto JBF, Alvarenga MA.** Results from an embryo transfer program with Mangalarga mares in Brazil. *Equine Vet. J. Suppl*, v.8, p.73-74, 1989.
- Jacob JCF, Domingues IB, Gastal EL, et al.** The impact of degree of synchrony between donors and recipients in a commercial equine embryo transfer program. *Theriogenology*, v.57, n°1, p. 545, 2002.
- SQUIRES EL, McCUE PM, VANDERWALL D.** The current status of equine embryo transfer. *Theriogenology*, v.51, p.91-104, 1999.

Palavras-chave: égua, taxa de prenhez, perda embrionária precoce.

Keywords: mares, pregnancy rate, early embryonic loss.



Ativação partenogenética de ovócitos eqüinos maturados *in vitro* com Ionomicina, Cicloheximide e Roscovitine

Partogenetic activation of in vitro matured equine oocytes with Ionomicine, Cicloheximide and Roscovitine

**C.B. Fernandes, L.R. Martins, L.G. Devito, I.D.P. Blanco, J.F. Lima-Neto, P.M. Tsuribe,
F.C. Landim-Alvarenga**

Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária – FMVZ/UNESP, Botucatu-SP.
E-mail: fernandescb@yahoo.com.br

Introdução

As elevações transitórias e periódicas do cálcio (Ca^{2+}) livre intracelular e o bloqueio da atividade do Fator Promotor de Maturação (MPF) permitem a ocorrência da ativação ovocitária essencial no desenvolvimento de protocolos de transferência nuclear (TN). O primeiro potro produzido por transferência nuclear foi obtido somente após a ativação dos ovócitos em meio com a concentração de $CaCl_2$ três a seis vezes maior do que o utilizado para bovinos. Recentes estudos demonstraram que diferenças entre a competência meiótica de ovócitos eqüinos classificados quanto à expansão das células do cumulus e da granulosa mural também influenciam o sucesso da TN. Este trabalho teve como objetivo determinar o melhor protocolo de ativação partenogenética para ovócitos eqüinos classificados em compactos e expandidos, utilizando a Ionomicina, combinada a Cicloheximide ou ao Roscovitine em meio com duas concentrações de cálcio.

Material e Métodos

Foram realizadas quatro rotinas de colheita de ovários eqüinos. Os ovócitos obtidos foram classificados quanto à presença ou não de grupos de células do cumulus e granulosa mural expandidas e divididos em dois grupos: grupo expandido e grupo compacto. Para a maturação *in vitro* os ovócitos foram cultivados em meio HTF:BME (1: 1) + 0,3% BSA acrescido de 100ng/ml IGF-1, 50ng/ml EGF, 100ng/ml eGH, 5µg/ml eFSH, 500ng/ml E2 e Gentamicina, a 39°C em atmosfera com 5% de CO_2 em ar por 32 horas. Após o período de maturação *in vitro*, os ovócitos eqüinos (40 por grupo) foram destinados à avaliação dos protocolos de ativação ovocitária.

Meio 1- Ionomicina + Cicloheximide: Incubados em meio MEM hepes+ 10% SFB + 5µM ionomicina por 8 minutos, lavados em MEM hepes+ 10% SFB e incubados em meio MEM hepes + 10% SFB + 10µg/ml cicloheximide + 7,5 µg/ml Citocalasina B por 6h.

Meio 2- Ionomicina + Roscovitine: Idem anterior, substituindo cicloheximide por 66µM Roscovitine .

Meio 3- Ionomicina + Cicloheximide alto Ca^{2+} : Incubados em meio MEM hepes + 0,84mg/ml $CaCl_2$ + 10% SFB + 5µM ionomicina por 8 minutos, lavados em MEM hepes + 10% SFB e incubados em meio MEM hepes + 0,42mg/ml $CaCl_2$ + 10% SFB + 10µg/ml cicloheximide + 7,5 µg/ml Citocalasina B por 6h.

Meio 4- Ionomicina + Roscovitine alto Ca^{2+} : Idem anterior substituindo cicloheximide por 66µM Roscovitine.

Após o período de ativação os ovócitos foram cultivados em meio DMEM:HAM F12 + 10% SFB à 39°C em atmosfera com 5% de CO_2 em ar por 18 a 20 horas. Em duas das rotinas os partenotos foram cultivados por 3 dias. A avaliação da maturação nuclear, da ativação partenogenética e da taxa de clivagem foram realizadas em Hoechst 33342 e analisadas por meio de ANOVA.

Resultados e Discussão

Após a maturação 35,9% e 25% dos ovócitos expandidos e compactos apresentavam-se em Metáfase II, respectivamente. As taxas de ativação partenogenética foram em média 8,55%; 19,87%; 16,75% e 23,65% para ovócitos compactos e 30,37%; 28,11%; 25,3% e 22,3% para ovócitos expandidos para os meios 1, 3, 2 e 4 respectivamente ($p=0,92$). As taxas de clivagem de ovócitos compactos foram 3,55% no meio 1; 7,12% no meio 3 e 4,15% no meio 4. Nos grupos de expandido a clivagem foi de 5% no meio 3 e 12,5% no meio 4 ($p=0,77$). Apesar do uso de duas concentrações de Ca^{2+} no meio de ativação, combinado a drogas com distintos mecanismos de ação, como a Ionomicina, combinada ao Cicloheximide ou a Roscovitine, nos protocolos de ativação partenogenética testados, não houve diferença estatística significativa. O número de rotinas provavelmente está influenciando os resultados, visto que trabalhos anteriores demonstraram a maior capacidade de desenvolvimento de ovócitos expandidos e de cultivos em alta concentração de Ca^{2+} para espécie eqüina. Além disso, a combinação de Ionomicina com Roscovitine deveria ser benéfica à ativação, pois além do influxo de Ca^{2+} promovido pela Ionomicina, teríamos a ação da Roscovitine como agente inibidor específico do MPF.

Palavras-chave: ativação partenogenética, ovócito, eqüino, clonagem.

Keywords: Partogenetic activation, oocyte, equine, cloning.

Agradecimentos: FAPESP (04/00822-1), Dr Gercio Bonesi, Frigorífico Santa Fé – PR.



Estresse oxidativo na criopreservação do sêmen eqüino

Oxidative stress in equine semen cryopreservation

M.I.M. Jobim, I.C. Bustamante Filho, C.S. Dutra Filho, C.D. Pederzoli, A.M. Sgaravatti,
J.W. Gregory, R.M. Gregory, R.C. Mattos

Faculdade de Veterinária, UFRGS. Av. Bento Gonçalves 9090, 91570-000, Porto Alegre, Brasil
E-mail: inês.jobim@ufrgs.br

Introdução

A criopreservação de sêmen é um processo de grande estresse celular, que impõe aos espermatozoides condições extremamente desfavoráveis à manutenção de sua viabilidade. Diversos estudos propõem que a produção excessiva de espécies reativas de oxigênio e a perda da capacidade antioxidante do sêmen potencializam os efeitos prejudiciais dessa biotécnica (Ball et al., 2001; Agarwal & Said, 2005; Baumber et al., 2005). O objetivo do presente estudo foi avaliar as atividades antioxidantes enzimáticas e não enzimáticas e a concentração de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBA-RS), como indicador de lipoperoxidação do sêmen eqüino, durante a criopreservação.

Material e Métodos

Quinze ejaculados de seis garanhões comprovadamente férteis da raça Crioula, foram submetidos a criopreservação, utilizando-se diluente comercial à base de citrato-Hepes, gema de ovo e leite. Foram avaliadas as atividades das enzimas catalase (Aebi, 1984), glutathione peroxidase (Wendel, 1981) e superóxido dismutase (Marklund, 1985); o potencial antioxidante total (Lissi et al., 1992) e a concentração de TBA-RS (Esterbauer & Cheeseman, 1990), no sêmen fresco, diluído e congelado.

Resultados e Discussão

Uma maior atividade das três enzimas estudadas foi observada no sêmen fresco em relação ao sêmen diluído e congelado ($p < 0,0001$), não havendo diferença entre os dois últimos ($p > 0,05$). Não houve diferença na atividade antioxidante não enzimática nas três fases estudadas ($p > 0,05$). Não foi observada nenhuma associação tanto das defesas antioxidantes enzimáticas como das não enzimáticas com a qualidade do sêmen congelado. A queda na motilidade do sêmen congelado pode ser parcialmente explicada pelo aumento da peroxidação dos lipídios do sêmen. O estresse sofrido no processamento (centrifugação e diluição) do sêmen eqüino diminuiu as defesas antioxidantes enzimáticas, porém não afetou as defesas antioxidantes não enzimáticas.

Referências bibliográficas

- Aebi, H. Catalase. *Meth. Enzymol.*, Nova York, v. 105, p. 121-126, 1984.
- Agarwal, A.; SAID, T. M. Oxidative stress, DNA damage and apoptosis in male infertility: a clinical approach. *BJU Internat*, Londres, v. 95, p. 503-507, 2005.
- Ball, B. A.; VO, A. T.; Baumber, J. Generation of reactive oxygen species by equine spermatozoa. *Am. J. Vet. Res.*, Chicago, v. 62, p. 508-515, 2001.
- Baumber, J.; Ball, B. A.; Linfor, J. J. Assesment of the cryopreservation of equine spermatozoa in the presence of enzyme scavengers and antioxidants. *Am. J. Vet. Res.*, Chicago, v. 66, p. 772-779, 2005.
- Esterbauer, H.; Cheeseman, K. H. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. *Meth. Enzymol.* Nova York, v. 186, p. 407-421, 1990.
- Lissi, E., Pascual, C., Del Castillo, M.D. Luminol luminescence induced by 2,2'-azo-bis-(2-amidinopropane) thermolysis. *Free Rad. Res. Comm.*, Nova York, v. 17, p. 299-311, 1992.
- Marklund, S. *Handbook for Oxygen Radical Research*. Boca Raton: CRC Press, 1985. p. 243-247.
- Wendel A. Glutathione peroxidase. *Meth. Enzymol.*, Nova York, v. 77, p. 325-332, 1981.

Palavras-chave: equinos, semen, estresse oxidativo.

Keywords: equine, sêmen, oxidative stress.



Efeito do tratamento com EPE e hCG no grau de expansão das células da granulosa de folículos eqüinos

Effect of treatment with EPE and hCG in the granulosa cells expansion grade of equine follicles

**I.D.P. Blanco, L.G. Devito, H.N. Ferreira¹, C.B. Fernandes¹, M.T. Carmo¹,
M.A. Alvarenga¹, F.C. Landim-Alvarenga¹**

DRARV-FMVZ – UNESP- Botucatu
E-mail: iedablanca@yahoo.com.br

Introdução

Na égua, a íntima associação entre as células da granulosa e da teca no folículo ovariano, proporcionada pela estrutura do componente polissacarídico, funciona como âncora para o ovócito na parede folicular (Hawley et al, 1995). Estas particularidades anatômicas justificam o baixo índice de recuperação de ovócitos eqüinos por meio da aspiração folicular transvaginal guiada por ultrassonografia, o que dificulta a disseminação de técnicas de reprodução assistida para a espécie. No folículo pré-ovulatório (>35mm) o índice de recuperação de ovócitos é mais alto devido ao afrouxamento das junções entre as células do *cumulus* e a parede folicular (Goudet et al., 1997). O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da administração de EPE e hCG em folículos ovarianos imaturos (15-30 mm de diâmetro), procurando mimetizar o efeito do LH em folículos pré – ovulatórios.

Material e Métodos

Em 10 éguas a dinâmica de crescimento folicular foi acompanhada diariamente por palpação retal e ultrassonografia. Cada fêmea foi submetida a três grupos de tratamento (G1: EPE e hCG, G2: EPE e G3: controle). Todos os tratamentos iniciaram-se com a aplicação de prostaglandina (1,5 ml Lutalyse® - Pfizer Saúde Animal) no sétimo dia após a ovulação. Para os grupos 1 e 2 foi aplicado EPE (25 mg, i.m, BID) até que a maioria dos folículos estivesse entre 22-27 mm ou que o maior folículo atingisse 30 mm de diâmetro. Neste momento apenas as éguas do grupo 1 receberam hCG i.v. (2500 UI Vetecor® - Calier). Após 24 horas realizou-se a aspiração folicular via transvaginal guiada por ultrassonografia para ambos os grupos. No grupo controle o crescimento folicular após a aplicação de prostaglandina foi monitorado diariamente, efetuando-se a aspiração folicular 24 horas após a detecção de um folículo com 30mm. Para as aspirações utilizou-se agulha de lúmen duplo modelo Cook (12 GA) acoplada a uma probe de aspiração transvaginal guiada por ultra-som (Nutricell, 7,5MHZ). Os folículos foram puncionados e lavados com solução de PBS + heparina (5000UI) e o fluido folicular e o lavado recuperados foram avaliados em estereomicroscópio (40x) para a análise do grau de expansão das células da granulosa, classificadas de acordo com seu aspecto visual em compactas ou expandidas. A análise estatística foi efetuada pelo teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis, utilizando-se o software Bioestat 3.0.

Resultados e Discussão

Foram efetuadas 30 aspirações, com um total de 45 folículos aspirados no grupo 1, 40 no grupo 2 e 30 no grupo 3. A presença de células expandidas foi observada em 27 folículos do grupo 1 (60%), 8 do grupo 2 (20%) e somente em um folículo do grupo 3 (3%). Nenhum folículo com menos de 25 mm apresentou células expandidas. O número de folículos com células expandidas foi significativamente maior ($p < 0,05$) no grupo 1 (EPE/hCG), em comparação aos outros dois grupos. Os valores não diferem estatisticamente entre os grupos 2 e 3. A deposição de hialuronidase e a expansão das células do *cumulus* e da granulosa mural nos folículos pré-ovulatórios (>35mm) é mediada por gonadotrofinas (Goudet et al., 1997), neste estudo o hCG foi eficaz em proporcionar a expansão das células da granulosa em folículos imaturos (<30mm), sendo potencialmente uma estratégia para aumentar o índice de recuperação de ovócitos *in vivo* na espécie eqüina.

Referências bibliográficas

Goudet, G.; Bezaud, J.; Duchamp G.; Gerard, N.; Palmer, E. Equine oocyte competence for nuclear and cytoplasmic in vitro maturation: effect of follicle size and hormonal environment. *Biol. Reprod.*, v. 57, p. 232-245, 1997.
Hawley, L.R.; Eenders A.C.; Hinrichs, K. Comparison of equine and bovine oocyte-cumulus morphology within the ovarian follicle. *Biol. Reprod. Mono.* v.1, p 243-252, 1995.

Palavras-chave: eqüinos, EPE, hCG, granulosa, aspiração folicular

Keywords: equines, EPE, hCG, granulosa, follicular aspiration

Agradecimentos: CAPES.



Avaliação de espermatozoides da cauda do epidídimo de eqüinos

Evaluation of the spermatozoa of the equine epididymis tail

P.R. Muradás¹, R.R. Weiss², L.E. Koziicki³, T.E. Trembl⁴

^{1,2,3,4} Setor de Ciências Agrárias, UFPR;

E-mail: muradaspritty@hotmail.com

Introdução

A recuperação de espermatozoides da cauda do epidídimo é uma técnica importante para se preservar reservas genéticas de animais valiosos recém mortos. Os objetivos deste experimento foram: avaliar se há diferença ($p < 0,05$), quanto aos parâmetros de viabilidade dos espermatozoides, entre os três grupos: a) vagina artificial; b) epidídimo esquerdo; c) epidídimo direito. Determinar por quanto tempo é possível recuperar espermatozoides epididimais viável pós-orquiectomia mantidos à temperatura ambiente.

Materiais e Métodos

Foram utilizados 10 garanhões totalizando 19 epidídimos, (um dos garanhões era criptorquida unilateral). A colheita de sêmen foi realizada semanalmente, com vagina artificial modelo Hannover, sendo realizada no mínimo duas colheitas de cada garanhão antes da orquiectomia.

Os epidídimos após a orquiectomia eram mantidos a temperatura ambiente de cerca de 22° C até o início da avaliação dos espermatozoides. A técnica de colheita dos espermatozoides da cauda do epidídimo baseou-se nos relatos de GARDE *et al.* (1994). A lavagem de cada cauda epididimária foi feita com 10 mL do diluente pré-aquecido a 37°C. O resultados foram submetidos ao tratamento estatístico do teste de Fisher ao nível de 5%.

Resultados e Discussão

Os percentuais de defeitos de acrossoma, não apresentaram diferença entre os três grupos. Os valores de motilidade total, motilidade progressiva e vigor dos espermatozoides epididimários até 24 horas pós-orquiectomia, obtidos nesse experimento, foram semelhantes aos da vagina artificial. Resultados similares forma obtidos por BRUEMMER *et al.* (2002), ao trabalharem com espermatozoides recuperados de epidídimos eqüinos armazenados a 4°C.

O limite de 24 horas para a colheita de espermatozoides de epidídimos armazenados à temperatura ambiente com motilidade e vigor semelhantes ao da vagina artificial verificado nesse experimento, é bastante inferior ao encontrado por JAMES *et al.* (2002) em garanhões e YU e LEIBO (2002) em cães, ao recuperarem espermatozoides epididimários viáveis por até 96 horas pós-orquiectomia. Estes valores são muito superiores aos encontrados no presente experimento, porque eles mantiveram os epidídimos refrigerados a 5°C após a orquiectomia. A temperatura mais baixa retarda o processo de degeneração e reduz o metabolismo dos espermatozoides, mantendo-os vivos por mais tempo (JAMES *et al.*, 2002).

Referências Bibliográficas

- Bruemmer, J.E.; Reger, H.; Zibinski, G.; Squires, E.L. Effect of storage at 5°C on the motility and cryopreservation of stallion epididymal spermatozoa. *Theriogenology*, v.58, p.405-407, 2002.
- Garde, J.; Aguado, M.; Perez, S.; Garrido, D.; Perez-Guzman, M.; Montoro, V. Physiological characteristics of epididymal spermatozoa from post-mortem rams. *Theriogenology*, v.41, p.2003, 1994.
- James, A.N.; Green, H.; Hoffman, S.; Landry, A.M.; Paccamonti, D.; Godke, R.A. Preservation of equine sperm stored in the epididymis at 4 °C for 24, 48, 72 and 96 hours. *Theriogenology*, v.58, p.401-404, 2002.
- Yu, I.; Leibo, S. Recovery of motile, membrane-intact spermatozoa from canine epididymides stored for 8 days at 4 °C. *Theriogenology*, v.57, p.1179-1190, 2002.

Palavras-chave: epidídimo, espermatozoides, orquiectomia, garanhão, sêmen.

Key-words: epididymis, spermatozoa, orchiectomy, sire, semen.



Criopreservação de espermatozóides da cauda do epidídimo de eqüinos

Spermatozoa criopreservation of equines epididymis tail

R.R. Weiss¹, P.R. Muradás², I.W. Santos³, M.S. Segui⁴, L.C. Granemann⁵

^{1,2,3,5} Setor de Ciências Agrárias, UFPR;

⁴ PUC-PR;

E-mail: muradaspritty@hotmail.com

Introdução

O processo de congelamento e descongelamento pode, provocar danos na capacidade de motilidade e fecundação por alterações na membrana plasmática do espermatozóide (WATSON, 1995).

Os objetivos deste experimento foram: avaliar a existência de diferenças nos parâmetros de viabilidade das células espermáticas pós-descongelamento entre os três grupos: a) vagina artificial; b) epidídimo esquerdo; c) epidídimo direito.

Materiais e Métodos

Foram utilizados 10 garanhões totalizando 19 epidídimos, (um dos garanhões era criptorquida unilateral). A colheita de sêmen foi realizada semanalmente, com vagina artificial modelo Hannover, sendo realizada no mínimo duas colheitas de cada garanhão antes da orquiectomia.

Os epidídimos após a orquiectomia eram mantidos a temperatura ambiente de cerca de 22° C até o início da avaliação dos espermatozóides. A técnica de colheita dos espermatozóides da cauda do epidídimo baseou-se nos relatos de GARDE *et al.* (1994). O resultados foram submetidos ao tratamento estatístico do teste de Fisher ao nível de 5%.

Resultados e Discussão

Os parâmetros de viabilidade espermática, motilidade total, motilidade progressiva e defeitos de acrossoma, após o descongelamento dos três grupos não diferem significativamente entre si, porém o vigor, dos espermatozóides colhidos com vagina artificial, foi superior aos valores dos epidídimos esquerdo e direito, entretanto, entre os dois epidídimos, não há diferença significativa.

BLASH *et al.* (2000), trabalharam com caprinos e não só demonstraram que os espermatozóides epididimais podem ser recuperados pós-morte e criopreservados com sucesso bem como apresentam valores superiores de integridade de acrossoma, porcentagem de espermatozóides vivos, maior capacidade de fecundação *in vivo* e *in vitro*, quando comparados aos espermatozóides colhidos do ejaculado. Estes resultados encontrados por BLASH *et al.* (2000), não refletem a realidade deste experimento, apesar de não haver diferença significativa de motilidade total, motilidade e patologias de acrossoma entre os três grupos aqui estudados, os espermatozóides colhidos do ejaculado apresentaram todos os parâmetros de avaliação superiores quando comparados aos dos epidídimos.

KIKUCHI *et al.* (1998), ao trabalharem com suínos observaram que espermatozóides epididimais congelados foram mais férteis do que espermatozóides de ejaculados congelados, mostrando serem mais resistente ao estresse da congelamento, resultados que corroboram com o trabalho de BLASH *et al.* (2000).

Referências Bibliográficas

- Blash, S; Melican, D; Gavin, W. Cryopreservation of epididymal sperm obtained at necropsy from goats. *Theriogenology*, v.54, n.1, p.899-905, 2000.
- Garde, J.; Aguado, M.; Perez, S.; Garrido, D.; Perez-Guzman, M.; Montoro, V. Physiological characteristics of epididymal spermatozoa from post-mortem rams. *Theriogenology*, v.41, p.2003, 1994.
- Herrick, J.R.; Bartels, P.; Krisher, R.L. Post-thaw evaluation of in vitro function of epididymal spermatozoa from four species of free-ranging African bovids. *Biology of Reproduction*, v.71, p.948-958, 2004.
- Watson, P.F. Recent development of their post-thawing function. *Reproduction Fertility*. v.7,n. 1, p.871-891, 1995.

Palavras-chave: espermatozóides, garanhão, epidídimo, congelamento.

Key-words: spermatozoa, sire, epididymis, freezing.



Comparação do número de espermatozoides do ejaculado e da cauda do epidídimo de eqüinos

Comparisons the number of spermatozoa of the ejaculate and of equines epididymis tail

L.C. Granemann¹, R.R. Weiss², P.R. Muradás³, T.E. Trembl⁴

^{1,2,3,4} Setor de Ciências Agrárias, UFPR;

E-mail: muradaspritty@hotmail.com

Introdução

A colheita de espermatozoides epididimais pode ser a última chance para assegurar a preservação do material genético após lesão ou morte do reprodutor. O objetivo deste trabalho foi colher espermatozoides da cauda do epidídimo de garanhões através da técnica modificada de fluxo retrógrado, descrita por GARDE *et al.* (1994) e comparar o número total de espermatozoides recuperados com o número total de espermatozoides colhidos com a vagina artificial.

Materiais e Métodos

Foram utilizados 7 garanhões totalizando 14 epidídimos. A colheita de sêmen foi realizada semanalmente, com vagina artificial modelo Hannover, sendo realizada no mínimo duas colheitas de cada garanhão antes da orquiectomia. A avaliação da concentração espermática (mm³) foi realizada em câmara de Toma Nova. As diferenças das médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

Resultados e Discussão

Na tabela 1 verifica-se que a média do número total de espermatozoides colhidos tanto na cauda dos epidídimos esquerdos quanto dos direitos foi significativamente ($p < 0,05$) superior a média dos colhidos com a vagina artificial o que confirma a função de armazenamento da cauda do epidídimo, sendo que a cada ejaculação é liberada uma parcela dos espermatozoides epididimais (SULLIVAN *et al.*, 2005). A média do número total de espermatozoides dos epidídimos esquerdos apresentou-se significativamente superior ($p < 0,05$) a média dos epidídimos direitos. GARDE *et al.* (1998), relataram diferenças importantes na quantidade de espermatozoides entre epidídimos de um mesmo indivíduo, corroborando com os valores encontrados neste experimento.

Tabela 1–Comparação média do número total de espermatozoides colhidos com vagina artificial e da cauda do epidídimo de garanhões (2006).

Grupos	n	Média do número total de espermatozoides x 10 ⁹
Vagina Artificial	7	19,08 ^a
Epidídimo Esquerdo	7	32,88 ^b
Epidídimo Direito	7	25,84 ^c
Epidídimos Esquerdo e Direito	14	58,72 ^d

A,b,c,d = há diferença estatística entre cada variável.

Referências Bibliográficas

- Garde, J.; Aguado, M.; Perez, S.; Garrido, D.; Perez-Guzman, M.; Montoro, V. Physiological characteristics of epididymal spermatozoa from post-mortem rams. *Theriogenology*, v.41, p.2003, 1994.
- Garde, J.; Ortiz, N.; Garcia, A.; Gallego, L.; Landete, C.T.; Lopez, A. Post-mortem assessment of sperm characteristics of the red deer during the breeding season. *Archives of Andrology*, v.41, p.195-202, 1998.
- Sullivan, R.; Saez, F.; Girouard, J.; Frenette, G. Role of exosomes in sperm maturation during the transit along the male reproductive tract. *Blood Cells, Molecules, & Diseases*, v.35, p.1-10, 2005.

Palavras-chave: espermatozoides, garanhão, cauda do epidídimo.

Key-words: spermatozooids, stallion, tail of the epididymis.



Efeito da adição fracionada da dimetil formamida na criopreservação da célula espermática equina

Effect of fractionated addition of dimethylformamide on the post-thaw equine spermatozoa viability

G. Juliani¹, J. Perez Osorio², M.A. Lagares³, B.R.C. Alves³, M. Henry³

¹Fead – Minas Centro de Gestão Empreendedora - Avenida Brasil, 1162. Belo Horizonte, MG.

²Bolsista da CAPES/CNPq - IEL Nacional – Brasil.

³Laboratório de Reprodução Animal, Escola de Veterinária - Universidade Federal de Minas Gerais.

E-mail: henrym@ufmg.br

Introdução

Dentre as biotecnologias da reprodução animal, a criopreservação é uma ferramenta que oferece vantagens para preservar a viabilidade espermática por longos períodos. Este trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência de adição fracionada de 5% de dimetil formamida (DMF) ao meio diluidor base INRA 82 modificado na criopreservação de espermatozoides equinos.

Material e Métodos

Um ejaculado de seis garanhões foi utilizado para testar três tempos de adição da DMF: Tempo 1: adição da décima parte da DMF à cada minuto no tempo de dez minutos; Tempo 2: adição da décima parte da DMF a cada dois minutos no tempo de vinte minutos; Tempo 3: adição da décima parte da DMF à cada três minutos no tempo de trinta minutos. O período médio a temperatura ambiente até o congelamento foi de uma hora e oito minutos. Todas as amostras foram resfriadas até 5°C utilizando uma máquina computadorizada a uma taxa de 0,25°C/min. Foram testados três diferentes procedimentos para o congelamento: a) sem tempo de equilíbrio adicional a 5°C e congelamento no vapor de nitrogênio líquido por quinze minutos; b) com tempo de equilíbrio adicional a 5°C de quarenta e cinco minutos e congelamento no vapor de nitrogênio líquido por quinze minutos; c) com tempo de equilíbrio adicional a 5°C de quarenta e cinco minutos e congelamento computadorizado a uma taxa de -10°C/min até -127°C por quinze minutos. O descongelamento foi feito a 52°C por dez segundos, seguidos de imersão em banho-maria a 37°C por trinta segundos. O descongelamento foi feito a 52°C por dez segundos, seguidos de imersão em banho-maria a 37°C por trinta segundos. Após o descongelamento foram avaliados os parâmetros de motilidade total, motilidade progressiva e vigor espermático em microscopia óptica, com aumento de 400X. A integridade da membrana plasmática da cauda e da cabeça foi avaliada pelo teste hiposmótico e pela coloração de fluorescência respectivamente.

Resultados e Discussão

Tab 1. Parâmetros espermáticos de eqüinos após descongelação.

Proc.	Tempo de adição do crioprotetor (minutos)								
	10			20			30		
	Mot.	Int.	Reat.	Mot.	Int.	Reat.	Mot.	Int.	Reat.
A	40,8±6,4	47,6±10,5	36,8±4,2	38,3±8,7	45,5±7,3	38,6±7,0	35,8±5,8	44,3±12,2	37,0 ± 4,0
B	37,5±7,5	48,0 ±5,4	39,1±5,4	34,1±3,7	46,7±10,9	38,5±5,8	36,6±7,5	50,5±4,1	34,1 ± 5,9
C	33,3±4,0	46,0±10,2	38,5±4,7	37,5±7,5	47,3±5,5	40,6±6,7	36,6±6,0	46,5±12,6	39,1 ± 4,6

Mot.- % de motilidade progressiva; Int.- % de espermatozoides íntegros (CFDA/PI); Reat.- % de espermatozoides reativos ao teste hiposmótico; Proc=procedimentos A,B e C de resfriamento e congelamento.

Não foi observada diferença significativa ($P > 0,05$) entre os três tempos de adição nem as curvas de congelamento. Os resultados permitem concluir que a mudança do tempo de adição da DMF de forma fracionada e da curva de congelamento não altera a viabilidade espermática equina pós descongelação avaliada *in vitro*.

Referências bibliográficas

Heitland AV, Jasko DJ Squires EL, Graham JK, Pickett BW, Hamilton C. 1996, *Eq. Vet. J.* 28 (1): 47-53.
Moore AI, Squires EL, Graham JK. 2005. *Theriogenology*. 63:2372-2381.

Palavras chaves: criopreservação, eqüino, sêmen.

Key words: crioprotection, equine, sêmen.

Agradecimentos: à FAPEMIG pelo apoio financeiro.

Descrição de danos ultra-estruturais em espermatozoides caninos criopreservados

(Description of ultrastructural damage in canine frozen spermatozoa)

A.R. Silva^{1*}, J.D. Fontenele-Neto¹, R.C.S. Cardoso², L.D.M. Silva³, V.H. Chirinéa⁴, M.D. Lopes⁴

¹DCAN-UFERSA, ²UFPI, ³LRC-UECE, ⁴REPAS-UNESP

*E-mail: legio2000@yahoo.com

Introdução

A análise ultra-estrutural de células espermáticas permite identificar modificações sutis que seriam imperceptíveis ao microscópio de luz. O presente trabalho objetiva descrever a ocorrência de possíveis lesões ultra-estruturais em espermatozoides caninos submetidos à criopreservação, utilizando a microscopia eletrônica de transmissão (TEM).

Materiais e Métodos

O sêmen de quatro cães adultos foi coletado por manipulação digital, avaliado macro e microscopicamente e criopreservado (Silva et al., 2006), sendo descongelado após uma semana. Para a avaliação de danos na ultra-estrutura espermática causados pelo processo de criopreservação, foi utilizada uma adaptação da técnica de processamento para TEM do sêmen descongelado descrita por Burgess et al. (2001), aplicando-se a mesma ao sêmen fresco, que serviu como controle. Os reagentes utilizados foram obtidos da EMS (Hatfield, EUA), quando não indicado. As amostras foram centrifugadas a 750 G/5 min, fixadas em Karnowski modificado contendo 2% de paraformaldeído e 2% de glutaraldeído em tampão fosfato 0,1M, pH 7,4 (PB - Sigma Co, St. Louis, EUA) por 18 h a 4 °C, pós-fixadas em 1% de tetróxido de ósmio em PB, desidratadas em etanol (Synth, Diadema, Brasil) e em óxido de propileno, e incluídas em Spurr. Secções ultrafinas (80nm) foram coradas com acetato de urânio e citrato de chumbo, e analisadas em microscópio eletrônico em diferentes aumentos (JEOL 1010, Japão).

Resultados e Discussão

O sêmen utilizado no experimento apresentou características normais para a espécie. Através da TEM, verificaram-se danos pós-descongelamento na ultra-estrutura da cabeça e da peça intermediária das células espermáticas (Fig. 1). Esses resultados evidenciam que a criopreservação de sêmen canino induz danos à ultra-estrutura espermática, ocasionando inclusive um desarranjo estrutural e vacuolização na bainha mitocondrial. Estes danos podem contribuir para a redução da motilidade espermática visualizada após a descongelamento ($60,0 \pm 0,3\%$), visto que a bainha mitocondrial é responsável pela produção de energia utilizada no movimento espermático.

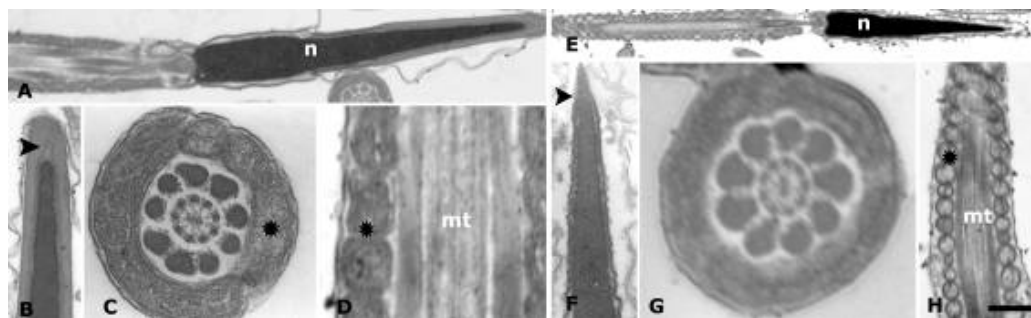


Figura 1. Análise por microscopia eletrônica de sêmen canino. **A** e **E** - Espermatozóide fresco e criopreservado, respectivamente, apresentando núcleo com cromatina condensada (**n**). **B** - Cabeça do espermatozóide fresco, com limite bem perceptível entre carioteca e acrossoma (▶). **F** - Espermatozóide criopreservado, com limite pouco nítido entre carioteca e acrossoma. **D** - Corte longitudinal no espermatozóide fresco, evidenciando peça intermediária com bainha mitocondrial normal (*). **E** - Espermatozóide criopreservado, apresentando vacuolização das mitocôndrias (*). **C** e **G** - peças intermediárias com aspecto normal (*), em espermatozoides frescos e criopreservados, respectivamente. Microtúbulos (**mt**). Barra de escala: A=1,17µm; B=0,23µm; C=3,3µm; D=0,55µm; E=2µm; F=0,28µm; G=0,74µm; H=0,57µm.

Referências Bibliográficas

- Burgess, C.M., Bredl, C.S., Plummer, J.M., England, G.C.W. Vital and ultrastructural changes in dog spermatozoa during cryopreservation. *Journal of Reproduction and Fertility*, 57, 357-363, 2001.
- Silva, A.R., Cardoso, R.C.S., Silva, L.D.M. Influence of temperature during glycerol addition and post-thaw dilution on the quality of canine frozen semen. *Reproduction in Domestic Animals*, 41, 74-78, 2006.

Palavras-Chave: Sêmen, Cão, Microscopia Eletrônica.

Keywords: Semen, Dog, Electron Microscopy.



Efeito do fator de crescimento IGF-I sobre a maturação *in vitro* de oócitos caninos (*Canis familiaris*): avaliação da maturação nuclear e citoplasmática

Effect of Insulin-Like Growth Factor-I (IGF-I) on in vitro maturation of canine oocytes (Canis familiaris): evaluation of maturation nuclear and cytoplasmic

M.A. Machado¹, K.S. Oliveira¹, G.H. Toniollo²

¹Pós-graduandos do Prog. de Pós-graduação em Med. Vet. da FCAVJ/UNESP
²Prof. Titular do Dep. de Med. Vet. Prev. e Reprodução Animal da FCAV/UNESP
E-mail: toniollo@fcav.unesp.br

Introdução

A maturação de oócitos *in vitro* é um complexo mecanismo no qual são realizadas tentativas de se reproduzir àquelas condições observadas no folículo ovariano pré-ovulatório e na tuba uterina. As biotécnicas da reprodução empregadas em animais de companhia podem ser adaptadas aos carnívoros não domésticos para a melhoria do desempenho reprodutivo, bem como para os estudos de conservação da biodiversidade. A presente pesquisa foi desenvolvida com o objetivo de avaliar os prováveis efeitos do fator de crescimento semelhante à insulina I (IGF-I) sobre a maturação *in vitro* (MIV), nuclear e citoplasmática, de oócitos caninos retirados de ovários de cadelas.

Materiais e Métodos

Foram utilizadas 37 cadelas submetidas a ovariossalpingohisterectomia (OSH) eletiva ou terapêutica, as quais foram alocadas de acordo com raça, idade, condição reprodutiva e fase do ciclo estral. Os Complexos Cumulus Oócitos (COCs, n=1460) foram liberados dos folículos pela técnica de fatiamento dos ovários e maturados por 72 horas, exceto o grupo M0 (momento zero). O meio de cultivo base, foi o SOF, suplementado ou não com 100ng/mL de IGF-I. Foram selecionados apenas COCs classificados como grau I para a MIV. Os COCs foram distribuídos em três grupos para avaliação nuclear e citoplasmática: M0 (processados no dia da colheita), C (SOF) e E (SOF + IGF-I). Todos os grupos foram corados para avaliação da maturação nuclear com bis-benzimida (Hoechst 33342) e para a maturação citoplasmática com *Lens culinaris*.

Resultados e Discussão

O percentual de oócitos degenerados foi muito alto tanto na soma total (74,0%) quanto entre os grupos experimentais (M0=59,43; C=75,44; E=80,52%), sendo as diferenças estatisticamente significativas ($P<0.05$). Descritos semelhantes foram encontrados por Rota e Cabianca (2004), tanto na colheita quanto após o cultivo. Na maturação nuclear apenas 3,02% de todos os oócitos submetidos a esta avaliação atingiram o estágio de MI (M0=2,83%; C= 4,19%, e E=2,10). Os resultados apresentados por Rota e Cabianca (2004), com 3,9% de oócitos equivalendo a dois oócitos no grupo SOF por 72 horas corroboram com os achados da presente pesquisa. Da mesma forma que a retomada meiótica as taxas de maturação citoplasmática foram muito baixas, 15,83% no total e 12,90%; 25,58%, e 8,69% respectivamente para os grupos M0, C, e E. Estes valores foram aproximados àqueles do estudo de Hewitt et al. (1998) que avaliaram a suplementação de SFB ou BSA adicionados ao meio TCM 199. Os resultados aqui encontrados indicaram que a suplementação ou não do meio SOF com 100ng/mL de IGF-I para a maturação nuclear e/ou citoplasmática, não melhorou as taxas de MIV nos oócitos caninos, estes dados não estão de acordo com os encontrado por Xia et al. (1994) que utilizaram diferentes concentrações de IGF-I na MIV de oócitos porcinos e afirmaram que houve um incremento na taxa de recuperação da meiose e pré-implantação do desenvolvimento embrionário. Estas informações sugerem mais estudos, que contribuirá para a otimização dos protocolos de MIV, importante etapa para a aplicação das biotecnologias da espécie canina e em canídeos selvagens.

Referências bibliográficas

- Xia, P.; Tekpetey, F. R.; Armstrong, D. T.** Effect of IGF-I on pig oocyte maturation, fertilization, and early embryonic development in vitro, and on granulosa and cumulus cell biosynthetic activity, *Molecular Reproduction and Development*, v. 38, n. 4, p. 373-379, 1994.
- Rota, A.; Cabianca, G.** In vitro maturation rates of canines oocytes from anoestrous bitches in simple media. *Reproduction Nutrition and Development*, v. 44, p. 105-109, 2004.
- Hewitt, D.A.; England, G.C.W.** Incidence of oocyte nuclear maturation within the ovarian follicle of the bitch. *Veterinary Record*, v.143, p.590-591, 1998.

Palavras-chave: Oócito, IGF-I, SOF, maturação nuclear e citoplasmática.

Keywords: Oocyte, IGF-I, SOF, nuclear and cytoplasmic maturation.



Avaliação da viabilidade espermática *in vitro* do sêmen canino no diluidor gema de ovo – leite desnatado refrigerado a 5°C por 48 horas

Influence of egg yolk – skim milk extender on in vitro sperm viability of canine semen chilled at 5°C for 48 hours

P.B.S. Cardoso¹, S.E. Crusco², M.P. Rodrigues¹, M. Nichi¹, P.A.A. Goes¹, V.H. Barnabe¹

¹Departamento de Reprodução Animal, FMVZ-USP-SP; ²UNIP-SP
E-mail: pbsalla@hotmail.com

Introdução

Com o aumento da criação de cães, biotecnologias reprodutivas vêm sendo aplicadas objetivando otimizar custo/benefício. Dentre essas, a mais utilizada é a inseminação artificial (IA), devendo-se usar sêmen pré-selecionado. O principal método de coleta de sêmen em cães é pela técnica de manipulação digital (Kutzler, 2005). Na IA o sêmen pode estar a fresco, resfriado ou descongelado, adicionado ou não de diluidor que aumenta volume e preserva as células espermáticas, prolongando a viabilidade. A maioria dos diluidores apresenta em suas formulações gema de ovo, que mantém a integridade da membrana espermática (Silva, 2002). Outro componente, pode ser o leite desnatado que fornece substrato energético a essas células (Pagl, 2006). O trabalho objetivou determinar a viabilidade espermática em 48 horas de refrigeração a 5°C, utilizando diluidor à base de gema e leite desnatado, pela acessibilidade e custo desses materiais.

Material e Métodos

Utilizou-se 7 ejaculados provenientes de 7 cães de raças e idades distintas, coletados pela técnica de manipulação digital, aproveitando-se somente a fração rica. Imediatamente após a coleta avaliou-se motilidade progressiva (%) e vigor espermático (1-5) em microscópio óptico em aumento de 100X em amostra a fresco (t.0) e adicionada ao diluidor (t.D). Testou-se o diluidor composto por 80% de leite desnatado e 20% de gema, aquecido em banho-maria a 37°C. Em seguida as amostras foram submetidas à 5°C e reavaliadas após 1, 24 e 48 horas. A partir dos valores de motilidade e vigor, calculou-se o índice de motilidade espermática (SMI). Os dados foram analisados através do programa SAS.

Resultados e Discussão

	0	D	1	24	48
Motilidade (M)	86,43 ± 1,8 ^a	86,43 ± 2,1 ^a	81,43 ± 2,4 ^a	55,71 ± 13,3 ^b	32,14 ± 13,8 ^b
Vigor (V)	4,50 ± 0,1 ^a	4,57 ± 0,1 ^a	4,28 ± 0,1 ^a	2,85 ± 0,5 ^b	1,57 ± 0,6 ^c
SMI (M+V%/2)	88,21 ± 1,8 ^a	88,93 ± 2,2 ^a	83,57 ± 2,0 ^a	56,43 ± 11,7 ^b	31,78 ± 13,0 ^c

^{a,b,c} letras diferentes na mesma linha indicam diferenças estatísticas ($p < 0,05$)

Concluiu-se que o diluidor não interfere nos parâmetros avaliados, visto que não houve diferença entre t.0, t.D e t.1, portanto é segura a utilização desse sêmen diluído para IA. Levando em consideração a queda significativa de t.1 para t.24 nos parâmetros, novos estudos são necessários para determinar o tempo máximo de eficácia do diluidor, entre t.1 e t.24.

Referências bibliográficas

- Kutzler M.A. Semen collection in the dog. *Theriogenology*, n.64, p.747-754, 2005.
Pagl R.; Aurich J.E.; Schlo'Sser F.M.; Kankofer M.; Aurich C. Comparison of an extender containing defined milk protein fractions with a skim milk-based extender for storage of equine semen at 5°C. *Theriogenology*, n.66, p.1115–1122, 2006.
Silva L.D.M.; Silva A.R.; Cardoso R.C.S. Inseminação artificial em cães. In: Bayard D.P.G. *Biotécnicas aplicadas à reprodução animal*. São Paulo: Varela, 2002, p.69-95.

Palavras-chave: Leite, Gema de ovo, Diluidor, Sêmen, Cães.

Keywords: Milk, Yolk egg, Extender, Semen, Dogs.



Efeito da vitamina E e do levedo de cerveja na qualidade espermática de cães

Effect of vitamin E and brewer's yeast on sperm quality in dogs

M.C. Leite Netto, P.A.A. Góes, M.P. Rodrigues, P.B.S. Cardoso, M. Nichi, R.C. Barnabe, V.H. Barnabe

Departamento de Reprodução Animal – FMVZ/USP

E-mail: vhbarnab@usp.br

Introdução

O estudo com cães domésticos é crescente por tratar-se de um animal com importância social: companhia, guia, auxílio psicológico, guarda, policiamento e detecção de drogas (CASE; CAREY; HIRAKAWA, 1995). A biotecnologia da reprodução tem evoluído de modo a melhorar o desempenho reprodutivo desses animais. Métodos de avaliação da fertilidade têm sido estudados, dentre eles a motilidade espermática e o teste de expansão hipo-osmótico (HOS), que avalia a integridade funcional das membranas plasmáticas. O dano peroxidativo causado por radicais reativos ao oxigênio (ROS) tem sido indicado como uma das causas de defeitos na função espermática (NICHI, 2003). Substâncias antioxidantes não enzimáticas, como o zinco e selênio, presentes na levedura de cerveja, e na Vitamina E, interagem com os radicais oxidantes (AGARWAL; SALEH; BEDAIWY 2002). Portanto, nosso objetivo foi verificar o efeito da suplementação da vitamina E e levedura de cerveja, através de dieta balanceada, nos parâmetros de motilidade espermática e teste hipo-osmótico.

Material e Método

Utilizou-se 24 cães da raça Boxer entre 18 a 40 meses com peso variando de 27 a 35kg, que receberam dieta balanceada durante 80 dias. Após esse período foram divididos, aleatoriamente, em 3 grupos de tratamento: 1) controle (ração prévia); 2) 50-60mg de Vitamina E adicionada/kg ração prévia e 3) 3,6g de levedo de cerveja adicionado/kg ração prévia. Através da técnica de manipulação digital coletou-se 13 ejaculados de cada animal com intervalo semanal a partir do 40º dia do início da suplementação. Imediatamente após a coleta avaliou-se a motilidade progressiva (0-100%) em microscópio óptico (100X). Uma alíquota de 40µl foi separada para o teste hipo-osmótico em solução de 60mOsm pré-aquecida em banho Maria a 37°C e observou-se 200 células sob microscopia óptica (200X), avaliando integridade de membrana, categorizadas em caudas enroladas ou não. Os dados foram analisados através do programa SAS System for Windows.

Resultados e Discussão

A média da motilidade espermática foi de 76,28% ($\pm 5,97\%$, CV 7,82%), sendo a do grupo 2 (79,71%) maior que as dos grupo 3 (76,92%) e controle (72,21%). Observou-se que os tratamentos melhoraram a qualidade espermática induzindo a considerar o importante papel antioxidante dos suplementos. A média do teste hipo-osmótico (HOS) foi de 93,87% ($\pm 2,10\%$, CV 2,24%), observando melhores resultados pela ordem: grupo 3 (94,98%), controle (94,35%) e grupo 2 (92,25%). O levedo de cerveja demonstrou dentre os tratamentos utilizados, que o HOS definiu uma melhor avaliação da capacidade funcional da membrana espermática de cães.

Referências bibliográficas

- Agarwal, A.; Saleh, R. A.; Bedaiwy, M.A. Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction **Fertility and Sterility**, v. 79, n. 4, p. 829-843, 2003.
- Case, L. P.; Carey, D. P.; Hirakawa, D. A. Performance and stress. In: _____ **Canine and Feline Nutrition** A resource for companion animal professionals. ed. Mosby, St. Louis, 1995, p. 243-250.
- Nichi, M **Sistemas de proteção enzimática e níveis de peroxidação espontânea dos lipídeos seminais de touros zebuínos e taurinos criados a campo na região de Dourados, MS**. 2003, 101 p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária), FMVZ da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

Palavras-chave: Cães, Levedo de Cerveja, Sêmen, Vitamina E.

Keywords: Dogs, Brewer's Yeast, Sêmen, Vitamin E.



Relação entre os testes de interação espermatozóide-oócito, análise computadorizada, morfologia espermática e fluorescência na avaliação do sêmen canino congelado diluído em água de coco em pó (ACP® 106)

Relationship between sperm-oocyte interaction assay, computer analysis, sperm morphology and fluorescent probes on evaluation of frozen canine semen diluted in ACP®-106)

R.C.S. Cardoso¹, A.R. Silva², L.D.M Silva³, V.H. Chirinéa⁴, F.F. Souza, M.D. Lopes⁴

¹ UFPI- Campus Profa. Cinobelina Elvas, ² DCAN-UFERSA, ³ LRC-UECE, ⁴ REPAS-UNESP

Introdução

Os testes *in vitro* para predição do potencial fertilizante de uma amostra de sêmen são importantes para o desenvolvimento de novos métodos para resfriamento e congelamento do sêmen, bem como ao se avaliar um macho individualmente. O objetivo do presente trabalho foi determinar a existência de relações entre os testes de interação espermatozóide-oócito, análise computadorizada, morfologia espermática e integridade de membrana utilizando coloração fluorescente, utilizados na avaliação do sêmen canino congelado.

Materiais e Métodos

Foram coletados ejaculados de cinco cães, sendo dois ejaculados por animal, por meio da técnica de manipulação digital. Após a análise, o sêmen foi congelado utilizando-se ACP®-106 (Cardoso et al., 2007) que foi preparado de acordo com a recomendação do fabricante (ACP Biotecnologia®, Fortaleza-Ceará, Brasil). Após a descongelação, as amostras foram submetidas às seguintes análises: computadorizada (Hamilton Thorne analyser), provas fluorescentes (carboxi-fluoresceína e iodeto de propídio), morfologia espermática (coloração rosa de bengala) e teste de interação espermatozóide-oócito (Silva et al., 2006; Cardoso et al., 2007). Em todos os testes, realizou-se um total de dez repetições. Para a análise estatística, utilizou-se o Statview 5.0. Foi utilizada a regressão linear para identificar as relações entre parâmetros ($P < 0,05$).

Resultados e Discussão

Observou-se relação positiva entre o percentual de oócitos penetrados e os seguintes parâmetros avaliados pelo CASA: motilidade total ($P=0,04/r^2=64,9\%$), motilidade progressiva ($P=0,04/r^2=63,6\%$ e percentual de espermatozoides rápidos ($P=0,04/r^2=63,9\%$). Foi observada relação entre o número de espermatozoides que se ligaram e penetraram no oócito e os parâmetros VAP ($r^2=81,1\%$; $r^2=91,1\%$), VSL ($r^2=86,3\%$; $r^2=88,2\%$), VCL ($r^2=81,7\%$; $r^2=86,5\%$), bem como entre a taxa de espermatozoides normais avaliados pela microscopia de contraste de fase e o número de espermatozoides ligados ($r^2=85,7$). A avaliação por meio da microscopia de contraste de fase, utilizando a coloração rosa de bengala, não foi capaz de revelar todas as alterações que realmente ocorrem na célula espermática após a descongelação. No entanto, podemos sugerir que é necessário um alto percentual de espermatozoides com acrossoma normal para que se tenham altos índices de fertilidade. Portanto, podemos considerar que o percentual de acrossomas normais tenha um valor prognóstico para o número de espermatozoides que penetram a zona pelúcida *in vitro*. Além disso, pode-se concluir que o ACP®-106 é capaz de manter o potencial fertilizante *in vitro* do espermatozóide canino.

Referências Bibliográficas

Cardoso RCS, Silva AR, Silva LDM, Chirinéa VH, Souza FF, Lopes MD. Evaluation of fertilizing potential of frozen-thawed dog spermatozoa diluted in ACP®-106 using an *in vitro* sperm-oocyte interaction assay. *Reproduction in Domestic Animals* 42, 11-16, 2007.

Silva AR, Cardoso RCS, Silva LDM, Chirinéa VH, Souza FF, Lopes MD. Prognostic value of canine frozen-thawed semen parameters on *in vitro* sperm-oocyte interactions. *Theriogenology*, 66., 456-462, 2006.

Palavras-chave: análise seminal, cão, ACP®-106.

Keywords: seminal analysis, dog, ACP®-106.



Efeito da centrifugação na criopreservação de espermatozóides epididimários caninos

Effect of centrifugation on canine epididymal sperm cryopreservation

M.I.V. Melo, J.V.S. Oliveira, G.R. Valle, M.A. Rachid

PUC Minas Betim – Curso de Medicina Veterinária

E-mail: bel.melo@terra.com.br

Introdução

A recuperação de espermatozóides após a morte do animal é um procedimento importante para se obter reserva de material genético de animais domésticos ou mesmo de espécies em extinção. Experimentos estão sendo desenvolvidos com o intuito de determinar o período ideal entre o óbito e a colheita dos espermatozóides, a forma de recuperar os espermatozóides do epidídimo, e mais diretamente sobre o processamento para o resfriamento e a congelação destes espermatozóides. Este trabalho visa investigar o efeito da centrifugação sobre a qualidade pós-descongelação de espermatozóides epididimários caninos.

Material e Métodos

Foram utilizados 12 animais provenientes de aulas de Técnica Cirúrgica, sacrificados seguindo rígido protocolo ético. Os epidídimos foram armazenados em geladeira a 5°C por 24 horas. A recuperação dos espermatozóides foi feita através de secções seriadas na cauda do epidídimo e lavagem da área em placa de Petri sobre placa aquecedora com 3mL do meio diluidor Tris-gema de ovo com 6% de glicerol. As amostras recuperadas foram avaliadas quanto à motilidade total (MT), motilidade progressiva (MP) e o vigor espermático (V). Os espermatozóides recuperados do epidídimo direito foram considerados o grupo controle (congelação sem prévia centrifugação) e do esquerdo congelados após centrifugação a 800G por 10 minutos e rediluição em 3mL do mesmo meio diluidor). O sêmen diluído foi acondicionado em palhetas de 0,5mL. Estas palhetas foram resfriadas a 5°C e congeladas segundo metodologia descrita por Silva *et al.* (2003). As palhetas foram descongeladas a 38°C por 30 segundos e avaliadas quanto a MT, MP e V, e submetidos ao teste de termo resistência lento - TTR (CBRA, 1998). Foi considerada para a análise estatística a diferença entre os valores antes e após-descongelação. Os resultados obtidos de MT, MP e V foram comparados pelo teste T de Student em amostras pareadas, ao nível de 5% de probabilidade, sendo utilizado o programa Minitab versão 13.0.

Resultados e Discussão

Tabela 1. Efeito da centrifugação na criopreservação dos espermatozóides epididimários caninos

Parâmetros	Antes da Congelação		Depois da Congelação	
	Sem centrifugação	Com centrifugação	Sem centrifugação	Com centrifugação
MT	43,33±14,51	44,17±15,05	26,67±21,25	23,92±17,87
MP	32,92±13,89	34,17±15,5	21,25±20,13	20,58±17,43
V	3,08±0,29	2,92±0,52	2,17±1,27	2,17±1,03

O período médio de duração das amostras no TTR com MT mínima de 10% foi de 165±21,2 para as amostras sem centrifugação e 77,5±63,6 minutos para as amostras processadas com centrifugação, não recomendando este procedimento para a criopreservação de espermatozóides epididimários caninos. As diferenças entre os valores de MT, MP e V antes e pós-descongelação não foram significativas, indicando que a centrifugação não teve efeito sobre estes parâmetros pós-descongelação.

Referências bibliográficas

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

Silva AR, Cardoso RCS, Uchoa DC, Silva LDM. Quality of canine semen submitted to single or fractionated glycerol addition during the freezing process. *Theriogenology*, v.59. p. 821-829. 2003.

Palavras-chave: criopreservação, espermatozóide epididimário, canino

Keywords: cryopreservation, epididymal sperm, canine.

Financiamento: FIP/PUC Minas.



Avaliação simultânea da integridade das membranas plasmática, acrossomal e mitocondrial de espermatozóides caninos

Simultaneous evaluation of plasmatic, acrosomal and mitochondrial membrane integrity of canine spermatozoa

V.H. Chirinéa^{1,2}, F.F de Souza^{2,3}, A.A.P. Derussi¹, M.D. Lopes¹

¹ Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária – FMVZ, UNESP, Botucatu, SP. ² FertCani – Serviço Veterinário Especializado em Reprodução de Cães e Gatos. ³ UNIFRAN, Franca, SP
E-mail: vivichiri@hotmail.com ou denise@fmvz.unesp.br

Introdução

A avaliação da integridade das membranas espermáticas por sondas fluorescentes tem sido empregada nas pesquisas realizadas nos últimos anos. No entanto, a associação de sondas que permita a avaliação simultânea das membranas plasmática, acrossomal e mitocondrial de espermatozóides ainda não foi estabelecida na espécie canina. Portanto, o objetivo do trabalho é descrever um protocolo associando diferentes sondas fluorescentes para avaliação simultânea das membranas espermáticas de cães.

Material e Métodos

Foram utilizados 7 ejaculados de um macho da raça Boxer, de 4 anos, com histórico de paternidade recente. O sêmen foi analisado quanto à motilidade espermática (MOT), teste supra-vital (VIVOS), morfologia espermática (NORMAIS), integridade da membrana com iodeto de propídio e 6-diacetato de carboxifluorescêina (IP/CF), e por uma associação de sondas fluorescentes (IP/FITC-PSA/JC-1)¹. Baseada na associação das sondas fluorescente os espermatozóides foram classificados: **1.** Acrossomo intacto (AI), membrana plasmática intacta (MPI) e alto potencial de membrana mitocondrial (PMM); **2.** AI, MPI, baixo (PMM); **3.** acrossomo lesado (AL), MPI e alto (PMM); **4.** AL, MPI e baixo (PMM); **5.** AI, membrana plasmática lesada (MPL) e alto (PMM); **6.** AI, MPL e baixo (PMM); **7.** AL, MPL e alto (PMM); **8.** AL, MPL e baixo (PMM).

Resultados e Discussão

Os resultados obtidos estão descritos na tabela 1.

Tabela 1: Resultados da avaliação do sêmen canino e da associação de sondas fluorescentes. Valores expressos em porcentagem (%)

N	MOT	VIVOS	NORMAIS	IP/CF	Classificação IP/FITC-PSA/JC-1								
					1	2	3	4	5	6	7	8	
1	84	100	97	73	79	8	1	0	0	0	0	0	12
2	89	92	93	88	81	0	0	1	2	2	3	11	
3	88	61	91	77	73	0	0	18	0	0	1	8	
4	91	90	94	90	84	6	0	3	0	3	0	4	
5	87	91	95	89	86	0	0	0	3	0	5	6	
6	98	93	94	88	80	15	0	0	0	3	0	2	
7	89	72	94	74	80	2	0	6	0	3	0	9	
Médias	89,4	85,5	94	82,7	80,4	4,4	0,1	4	0,7	1,5	1,2	7,4	
DP	4,3	13,7	1,8	7,6	4,1	5,6	0,3	6,5	1,2	1,5	1,9	3,6	

A associação simultânea de sondas fluorescentes, a despeito de ser uma técnica sofisticada utilizada em pesquisas, não é difícil de ser realizada, permitindo diferenciar sub-populações de células espermáticas, que possivelmente apresentarão comportamento diverso, principalmente, quando submetidas ao processo de criopreservação.

Referências bibliográficas

1. **Celeghini, E.C.C.** Efeito da criopreservação do sêmen bovino sobre as membranas plasmática, acrossomal e mitocondrial e estrutura da cromatina dos espermatozóides utilizando sondas fluorescentes. 2005. 186p. Tese de Doutorado – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.

Palavras-chave: cão, sêmen, integridade-membrana.

Keywords: dog, semen, membrane-integrity.



Comparison of different concentrations of dimethyl formamide on viability of frozen-thawed dog spermatozoa

Comparação de concentrações diferentes do dimethyl formamide em viabilidade de espermatozóides caninos congelados/descongelados

C.A. Savignone, F. Gimenez, R. Nuñez Favre, C.M. Tittarelli, M.C. Stornelli, R.L. de la Sota, M.A. Stornelli.

Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata B1900AVW. La Plata. Argentina
E-mail: csavig@fcv.unlp.edu.ar

Glycerol (G) is a cryoprotectant commonly used in freezing extenders for canine spermatozoa (Concannon and Battista, 1989). However, this cryoprotectant is toxic for spermatozoa (Alvarenga et al., 2000). Dimethyl formamide (DMF) produces lower toxicity than G and provides a similar protective effect when used in freezing stallion spermatozoa (Alvarenga et al., 2000; Gomes et al., 2002). The aim of this study was to investigate in a TRIS base extender, the effect of ascending concentration of DMF with descending concentrations of G on viability of frozen-thawed dog spermatozoa. Semen was diluted in TRIS base extender (tris, citric acid, fructose, egg yolk and glycerol) containing 5% G and 0% DMF, 4% G and 1% DMF, 3% G and 2% DMF or 2% G and 3% DMF. Osmolarity was assessed in each media. Semen was collected by digital manipulation from four (n=4) fertile German Shepard dogs. One ejaculate was collected every week for 3 weeks from each of 4 dogs. The sperm rich fraction was divided into four parts. Each part was diluted in each of the different extenders in a two step dilution before equilibration to a final sperm concentration of 100×10^6 /ml and was packed in 0.5 ml straws. The straws were frozen in a styrofoam box, 4 cm above liquid nitrogen (Andersen, 1980). At least 4 straws per extender per ejaculate were obtained from each dog. The following tests were performed on 2 replicates on fresh and frozen-thawed semen: motility (MOT, % motile), velocity (VEL, 0-5), plasma membrane integrity (IM, % intact) and acrosome morphology (ACR, % intact). Sperm characteristics on fresh semen and post thawing index ($[\text{frozen-thawed sperm characteristic}/\text{fresh sperm characteristic}] \times 100$) were analyzed by least squares analysis of variance using the GLM procedure (SAS, 1989). Semen diluted in extenders with DMF concentration had lower post thawing indices MOT (30.1 ± 1.7 vs. 40.4 ± 2.0 , $P < 0.001$), VEL (3.0 ± 0.1 vs. 3.3 ± 0.1 , $P < 0.01$), IM (40.2 ± 1.0 vs. 45.5 ± 3.2 , $P < 0.01$), and ACR (34.3 ± 1.3 vs. 42.2 ± 3.2 , $P < 0.001$), compared to semen diluted in extenders without DMF. Furthermore, semen diluted with 1% DMF had higher MOT (33.3 ± 2.5 vs. 28.5 ± 2.2 , $p > 0.05$) and ACR (37.7 ± 1.1 vs. 32.6 ± 1.7 , $p > 0.05$) indices than semen diluted containing 2 and 3% DMF. However, no differences in VEL and IM were detected ($p > 0.27$). Furthermore, the osmolarity descended when DMF percentage descended. The extender without DMF had a lower osmolarity (906 mOsm) than the extender with 3% DMF (1088 mOsm). These results may be related to the high sensitivity of canine semen to high osmolarity. Therefore, we conclude that the substitution of G by DMF in a TRIS base extender did not improve sperm survival in frozen-thawed semen. Further studies should be done to evaluate a TRIS extender with DMF added, but with a lower osmolarity than the one used in the present study.

This research was funded in part by a grant of the Incentive Program for Teaching and Research from the UNLP 11/V134 to RLS.

References

- Alvarenga MA, Graham JK, Keith SL, Landim-Alvarenga FC, Squires EL.** 2000. Alternative cryoprotectors for freezing stallion spermatozoa. In Abstracts of the 14th International Congress on Animal Reproduction, 2000, Stockholm, Sweden. Stockholm: ICAR. pp. 157
- Andersen K.** 1980. Artificial insemination and storage of canine semen. In: Morrow DA. (Ed). Current Therapy in Theriogenology: Diagnosis, Treatment and Prevention of Reproductive Diseases in Animals. Philadelphia, USA: WB Saunders. pp. 661-665.
- Concannon PW, Battista M.** 1989 Canine semen freezing and artificial insemination. In: Kirk RW (Ed). Current Veterinary Therapy X: Small Animal practice. Philadelphia, USA: WB Saunders. pp. 1247-1259.
- Gomes GM, Jacob JCF, Medeiros ASL, Papa FO, Alvarenga MA.** 2002. Improvement of stallion spermatozoa preservation with alternative cryoprotectants for the Mangalarga Marchador breed. *Theriogenology*, 58:277-279.
- SAS®.** Users Guide. Version 6, 4th Ed. Cary, NC: Statistical Analysis Institute, Inc. 1989:314

Keywords: canine semen cryopreservation dimethyl formamide.

Palavras-chave: canino sêmen criopreservação dimethyl formamide.



Aplicação da técnica da PCR-RFLP no polimorfismo do gene *Tp53* para diagnóstico precoce de tumores mamários em cadelas

*Application of PCR-RFLP approach on the *Tp53* gene polymorphic study to early diagnostic in dog breast cancer*

M. Christilis¹, M.J.C.D. Teixeira², M.C.C. Abreu-e-Lima³, M.F. Pereira⁴, M. Adrião⁴, A. Wischral⁴

¹Graduando, ²Pós-graduando - UFRPE, ³Professor UFPE, ⁴Professor UFRPE

⁴aurea@dmv.ufrpe.br, madriao@dmfa.ufrpe.br

Introdução

A cascata de eventos para formação tumoral parece envolver a ativação de vários oncogenes assim como a inativação de genes supressores de tumor, onde cada etapa representa um passo adicional em direção à malignidade completa (Dobson, 2001). O exon 8 do gene *p53* tem alta frequência de mutações e é considerado como um dos pontos quentes de mutações, correspondente à parte do domínio central da proteína *p53* que se liga ao DNA para exercer sua função reguladora, onde se encontram os códons 273 e 282, correspondentes ao aminoácido arginina (Souza, 2006). A técnica PCR-RFLP foi utilizada com o objetivo de identificar mutações em seqüências do exon 8 do gene *Tp53* e associar o padrão de fragmentos obtidos ao tipo de tumor de mama ou tecido normal de cadelas.

Material e Métodos

Os DNAs foram extraídos, pela técnica do fenol-clorofórmio, dos tecidos tumorais e de glândulas mamárias macroscopicamente sadias de 50 cadelas submetidas a exérese de tumor. Foram utilizadas para controle 19 cadelas normais. A reação em cadeia da polimerase (PCR) foi usada para amplificar o exon 8 do gene *p53*, através de oligonucleotídeos específicos (Chu et al., 1998), e o produto de 6 cadelas normais foi seqüenciado. Para o PCR-RFLP foram utilizadas 6 enzimas de restrição: *SmaI*, *DdeI*, *Rsa*, *AvaI*, *BsoBI* e *AluI*. O resultado foi avaliado em gel de agarose a 2% corado com brometo de etídeo.

Resultados e Discussão

O produto da amplificação apresentou uma única banda de 200 pb. O seqüenciamento do produto de PCR apresentou, em média, 94% de homologia com a sequência conhecida (GeneBank –AAB42022.1). Das 6 enzimas selecionadas, apenas 4 apresentaram polimorfismo (*AluI*, *BsoBI*, *DdeI* e *SmaI*) na seqüência do exon 8 quanto ao número dos pares de base (pb) ou quantidades de clivagens, diferenciando as cadelas normais das que possuíam tumor. O padrão das bandas de cada enzima apresentou polimorfismo entre os grupos diferentes (Tab.1), mas não dentro do seu grupo. A *AluI* não cortou as seqüências de cadelas normais, porém as mamas de cadelas com tumor, normais ou não, apresentaram heterozigose caracterizada pelas bandas de 200, 150 e 50pb. Estudos sobre o códon 72 de humano demonstraram que a homozigose Pro/Pro torna a proteína menos eficiente do que a homozigose para o aminoácido arginina (Arg/Arg) (XU et al., 2005). Conclui-se que a técnica PCR-RFLP pode ser útil para estabelecer diagnóstico de tumor de mama precocemente, mesmo quando os sinais histopatológicos ainda não estiverem presentes, como observado nas mamas contra laterais normais.

Tabela 1 - Padrão de bandas de nucleotídeos em pares de bases (pb) obtidos após PCR-RFLP para cada enzima de restrição em amostras de mamas de cadelas com e sem tumor

Enzimas de restrição	cadela normal	Cadelas com tumor	
		Mama com Tumor	Mama contra lateral normal
<i>AluI</i>	200pb	50, 150 e 200pb	50, 150 e 200pb
<i>BsoBI</i>	25, 50 e 75pb	50 e 75pb	50 e 75pb
<i>DdeI</i>	50, 75, 100pb	25, 75 e 100pb	50, 75 e 100pb
<i>SmaI</i>	80 e 120 pb	50 e 75pb	50 e 75pb

Referências bibliográficas

- Chu, LL, Rutteman, GR, Kong, JMC, Ghahremani, M, Schmeing, M, Misdorp, W, Van Garderen, E, Pelletier, J. Genomic organization of the canine *p53* gene and its mutation status in canine mammary neoplasia. *Breast Cancer Res Treat*, v. 50, p. 11-25, 1998.
- Dobson, J. M. Princípios da terapia do câncer. In: Dunn, J, K. Tratado de Medicina de Pequenos Animais. São Paulo: Roca, 2001. cap. 50, p. 979-1022.
- Souza, D. M. B. Caracterização patológica e gênica (gene *P53*) dos tumores mamários em cadelas. 2006. 78f., Tese (Doutorado em Ciência Veterinária) – UFRPE, Recife, 2006.
- Xu, Y., Yao, L., Ouyang, T., Li, J., Wang, T., Fan, Z., Lin, B., L, Y., Xie, Y. *p53* Codon 72 polymorphism predicts the pathologic response to neoadjuvant chemotherapy in patients with breast cancer. *Clin Cancer Res*, v.11, n.20, p. 7328-7333, 2005

Palavras-chave: endonuclease de restrição, genética, câncer.

Key-words: restriction endonuclease, genetic, cancer.



Criopreservação de sêmen canino com diluidor à base de água de coco em pó (ACP® 106): Efeito da concentração de gema de ovo

Canine semen freezing using powdered coconut water (ACP® 106) extender: Effect of egg yolk concentration

C.C. Barbosa, B.E. Lopes-Neto, V.L.H. Madeira, A.H.R. Lima, D.C. Uchoa, L.D.M. Silva

Laboratório de Reprodução de Carnívoros – Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, Brasil
E-mail: clauvet_cb@yahoo.com.br

Introdução

A gema de ovo tem sido utilizada rotineiramente como protetor de resfriamento dos espermatozoides. Sua concentração utilizada pode variar de acordo com a espécie, sendo empregada em concentrações que variam de 3 a 25% (v/v - Watson, 1979). Para a congelação de sêmen canino utilizando-se um diluidor à base de água de coco em pó (ACP® 106), foram observados resultados satisfatórios de motilidade e vigor pós-descongelação utilizando-se 20% de gema de ovo de galinha. No entanto, foi observada uma inadequada homogeneização do diluidor com a gema, e ainda uma alteração na viscosidade do diluidor, dificultando a avaliação da motilidade (Cardoso, 2005). Desta forma, o objetivo do trabalho foi comparar quatro concentrações de gema de ovo de galinha no ACP® 106, verificando o seu efeito sobre a qualidade espermática pós-descongelação, e facilidade na avaliação subjetiva de motilidade e vigor.

Material e Métodos

Foram utilizados 10 ejaculados de cães, obtidos pela técnica de manipulação digital, sendo a fração espermática avaliada, dividida em quatro alíquotas de igual volume, e diluídas (1/ ½) com um diluidor base (ACP® 106), contendo quatro concentrações de gema de ovo de galinha: 0 (T0), 5 (T5), 10 (T10) e 20% (T20) (diluidores A), correspondendo aos quatro tratamentos. As amostras foram submetidas ao protocolo de resfriamento, sendo diluídas a 4°C com ½ parte dos diluidores A + 12% glicerol (diluidores B). Foi então realizado o envase do sêmen, seguido da rampa de congelação e armazenamento do sêmen em botijões criobiológicos. Após uma semana, as amostras foram descongeladas em banho-maria a 37°C por 1 minuto e avaliadas. No tocante à análise estatística, os dados foram expressos na forma de média e desvio padrão, sendo o vigor avaliado pelo teste Man-Whitney, e os dados de motilidade e morfologia, previamente transformados pelo arco-seno, avaliados pelo teste T-Student (P<0,05).

Resultados e Discussão

O sêmen fresco apresentou uma coloração branca opalescente e viscosidade leitosa, volume da segunda fração de $1,5 \pm 0,47$ mL, concentração espermática média de $1,003 \pm 333 \times 10^6$ espermatozoides/mL, motilidade de $98,2\% \pm 2,49$ e vigor 5 ± 0 . Após a descongelação, foi observada uma redução na motilidade (T0 $24,37\% \pm 13,21$; T5 $41,87\% \pm 15,10$; T10 $42,25\% \pm 20,92$; T20 $32,5\% \pm 11,65$) e no vigor (T0 $3,19 \pm 0,53$; T5 $3,56 \pm 0,32$; T10 $3,56 \pm 0,32$; T20 $3,5 \pm 0,378$) em todos os tratamentos quando comparado ao sêmen fresco, não havendo diferença entre T5, T10 e T20, sendo estes superiores ao T0 (P<0,05). Os tratamentos T5 ($18,1 \pm 3,21$), T10 ($18,5 \pm 2,96$) e T20 ($18,8 \pm 2,5$), apresentaram um menor percentual de alterações de acrossoma que o T0 ($20,1 \pm 2,82$) (P<0,05), resultados estes, conferido pelo potencial efeito protetor da gema de ovo (Cardoso, 2005). Conclui-se, que bons resultados são obtidos quando se congela sêmen canino com ACP® 106 acrescido de gema de ovo, sendo a avaliação de motilidade e vigor facilitada à medida que se diminui a concentração de gema de ovo.

Referências bibliográficas

- Cardoso, RCS** Características in vitro do espermatozoide canino criopreservado em água de coco. Fortaleza, 2005. 197p. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual do Ceará.
Watson, PF The preservation of semen in mammals. Oxford Reviews of. Reproductive Biology, v.1, p.283-350, 1979.

Palavras-chave: cão, sêmen, água de coco em pó, congelação, gema de ovo.

Keywords: dog, semen, powdered coconut water, freezing, egg yolk.



Influência do antioxidante glutathiona na criopreservação do sêmen canino

Influence of Glutathione Antioxidant on Canine Semen Cryopreservation

**J.C. Monteiro, J.S.A. Gonçalves, C.F. Lúcio, J. A. Rodrigues, L.C.G. Silva,
M.E.O.A. Assumpção, C.I. Vannucchi**

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo
E-mail: julianacmonteiro@terra.com.br

Introdução

A congelação do sêmen de cães encontra-se em constante estudo, pois se observa significativa perda da sua viabilidade e capacidade fecundante após a criopreservação. Um dos fatores que podem afetar a qualidade do sêmen é a formação excessiva de espécies reativas de oxigênio, responsáveis pelo estresse oxidativo das membranas espermáticas. Este estudo tem como objetivo avaliar os efeitos de diferentes concentrações de glutathiona sobre características seminais após a descongelação.

Material e Métodos

Foram utilizados 5 cães de raças distintas e em idade reprodutiva, dos quais duas colheitas de sêmen foram efetuadas. O sêmen foi centrifugado e, após a determinação da concentração espermática, a amostra foi dividida para 3 grupos experimentais: Glu-1mM, Glu-5mM e controle (C). Utilizou-se o diluidor Tris-frutose-ácido cítrico com concentração final de glicerol de 5%. As palhetas foram descongeladas a 37°C por 30 segundos. Imediatamente após a colheita ou após a descongelação foram avaliados: motilidade, vigor e patologias espermáticas e integridade de membrana por sondas fluorescentes (IP/DACF). Os resultados foram analisados por análise de variância (ANOVA), com nível de significância de 5%.

Resultados e Discussão

Os resultados demonstraram redução significativa da motilidade espermática pós-descongelação em todos os grupos (antes-85,5%±5,5; após-Glu-1: 61,0%±10,4; Glu-5: 63,5%±12,4, C: 60,5%±10,1), porém, não se observou diferença significativa entre o vigor espermático antes (3,8 ± 0,4) e após a congelação (Glu-1: 3,2±0,4; Glu-5: 3,4±0,5; C: 3,0±0,2). Não houve diferença estatística da motilidade e vigor espermáticos entre os tratamentos após a criopreservação. O teste de termo-resistência demonstrou melhores porcentagens de motilidade, vigor e longevidade espermática nos grupos com glutathiona, especialmente na concentração de 5mM, demonstrando possível proteção antioxidante da glutathiona. Observou-se redução significativa do índice de espermatozoides íntegros (IP/DACF) e vivos (Coloração Vital) em todos os grupos após a criopreservação. O índice de espermatozoides íntegros e vivos foi significativamente maior nos grupos Glu-1 e Glu-5 em relação ao controle (IP/DACF- Glu-1: 40,1%±6,22; Glu-5: 42%±4,03; C: 24,3%±5,6). Não foi possível identificar diferenças significativas nos índices de defeitos espermáticos após a criopreservação entre os grupos, embora houvesse maior tendência do grupo controle em apresentar teratospermia. Portanto, não se observou efeito benéfico da glutathiona na prevenção de patologias espermáticas durante a criopreservação. Concluiu-se que a adição do antioxidante glutathiona ao diluidor manteve algumas características seminais superiores às apresentadas pelo grupo controle após a criopreservação, aumentando a longevidade e a viabilidade espermáticas.

Referências bibliográficas

- Breining, E.; Beorlegui, N.B.; O'flaherty, C.M.; et al.** α -tocopherol improves biochemical and dynamic parameters in cryopreserved boar semen. *Theriogenology*, v.63, n.8, p.2126–2135, 2005.
- Gadea, J.; Sellés, E.; Marco, A.M.; et al.** Decrease in glutathione content in boar sperm after cryopreservation. Effect of the addition of reduced glutathione to the freezing and thawing extenders. *Theriogenology*, v. 62, n. 3-4, p. 690-701, 2004.

Palavras-chave: criopreservação, sêmen, glutathiona, cão.

Keywords: cryopreservation, semen, glutathione, dog.



Efeito de diferentes concentrações de glicerol na criopreservação de sêmen de cães

Effect of different glycerol concentration on dog semen cryopreservation

H. Blume, R.G. Mondadori, M.V. Snel-Oliveira, P.H.R. Borges, C.A.S. Pinto, C.N. Ferraz

Faculdade de Medicina Veterinária da UPIS – Brasília, DF

E-mail: helio01682@upis.br

Introdução

A congelação de sêmen canino possibilita o uso do sêmen de um macho para inseminar uma cadela que se encontre em uma localização geográfica distante e para armazenar o sêmen em épocas nas quais o reprodutor não mais possa ser utilizado para reprodução. A criopreservação das células espermáticas resulta na diminuição da fertilidade quando comparada ao sêmen fresco, o que surge da combinação de dois aspectos, morte celular e danos na capacidade funcional dos espermatozoides sobreviventes. A funcionalidade e estrutura dos espermatozoides são afetadas de diferentes formas, uma vez que ocorrem injúrias simultaneamente ou nas diferentes etapas da congelação e descongelação. Alguns fatores, tais como, alteração na composição, pH, temperatura e osmolaridade do meio podem provocar alterações irreversíveis nas membranas espermáticas, limitando a função fertilizante dos espermatozoides. O glicerol é um crioprotetor penetrante e age reduzindo os danos celulares, prevenindo os efeitos deletérios da alta concentração do meio extra-celular que ocorre durante o processo de congelação. Desta forma, torna-se importante pesquisar novos protocolos de congelação e concentrações de crioprotetores que diminuam os efeitos deletérios aos espermatozoides e aumentem a taxa de fertilidade. O objetivo deste trabalho foi comparar diferentes concentrações de glicerol na congelação de sêmen de cães.

Material e Métodos

Foram utilizados 6 cães machos com idade entre 4 e 7 anos aprovados no exame andrológico pertencentes ao canil do Hospital Veterinário da UPIS. Os animais receberam ração comercial e água *ad libitum* e as coletas foram realizadas uma vez por semana durante seis semanas. O ejaculado foi coletado com auxílio de um funil de vidro acoplado a um tubo de centrifuga graduado e a fração espermática separada e avaliada nos aspectos motilidade e vigor e dividida em alíquotas para adição dos meios (Tris-gema) contendo o crioprotetor glicerol, nas concentrações de 4%, 5%, 6% e 7%. Após a descongelação e durante o processo de congelação foi avaliada a motilidade e o vigor do sêmen. A avaliação morfológica foi realizada na pré e pós-descongelação, seguida do teste hiposmótico. Os resultados obtidos foram submetidos a Anova e as médias comparadas pelo teste de Duncan com índices de significância de 0,05%

Resultados e Discussão

O resfriamento e a congelação do sêmen provocaram uma queda na motilidade progressiva e no vigor das amostras em todos os grupos. A motilidade progressiva após a descongelação, nos diferentes grupos, variou entre 42 e 50%, não havendo diferença estatística. O vigor do grupo congelado com 4% de glicerol (2,5) foi significativamente inferior ao do grupo congelado com 6% de glicerol (3,0), sendo esse, semelhante aos demais grupos. Os meios contendo 6 e 7% de glicerol foram significativamente mais eficazes em preservar a morfologia espermática que os que continham 4 e 5% do crioprotetor. Todos os grupos se comportaram de forma estatisticamente semelhante frente ao teste hiposmótico. Em conclusão, a utilização de uma solução contendo 6% de glicerol mostrou-se mais eficaz na criopreservação de sêmen canino.

Referências bibliográficas

- Cardoso, R.C.S., Silva, A.R., Uchoa, D.C., Silva, L.D.M. Congelação do sêmen canino com um diluidor à base de água de coco acrescido de gema de ovo e glicerol. *Ci. Anim.* v.10, p.29-36, 2000.
- Farstad, W. Sêmen cryopreservation in dogs and foxes. *Anim. Reprod. Sci.*, v.42, p.251-60, 1996
- Silva, A.R.; Cardoso, R.C.S., Silva, L.D.M. Criopreservação do sêmen canino: revisão. *Ci. Anim.* v.11, p.119-129, 2001.
- Watson, P.F. The causes of reduced fertility with cryopreserved sêmen. *Anim. Reprod. Sci.*, v.60, p.281-92, 2000.

Palavras-chave: Reprodução, cão, sêmen, glicerol.

Keywords: Reproduction, canine, semen, glycerol.



Efeito de diferentes concentrações de etileno glicol na criopreservação de sêmen de cães

Effect of different ethylene glycol concentration on dog semen cryopreservation

A.A. Fidelis, H. Blume, R.G. Mondadori, M.V. Snel-Oliveira, P.H.R. Borges, C.A.S. Pinto

Faculdade de Medicina Veterinária da UPIS – Brasília, DF

E-mail: helio01682@upis.br

Introdução

Um bom diluidor precisa conter nutrientes e substâncias que controlam o pH, a pressão osmótica e protegem os espermatozoides contra choque térmico durante o processo de congelamento e crioprotetores que reduzem os danos dos espermatozoides. A funcionalidade e estrutura dos espermatozoides são afetadas de diferentes formas, uma vez que ocorrem injúrias simultaneamente ou nas diferentes etapas da congelamento e descongelamento. Fatores como alteração na composição, pH, temperatura e osmolaridade do meio podem provocar alterações irreversíveis nas membranas espermáticas limitando a função fertilizante dos espermatozoides. O etileno glicol é um crioprotetor penetrante e age reduzindo os danos celulares, prevenindo os efeitos deletérios da alta concentração do meio extra-celular que ocorre durante a congelamento. Novos protocolos de congelamento e concentrações de crioprotetores são importantes para diminuir os efeitos deletérios aos espermatozoides e aumentar a taxa de fertilidade. O objetivo deste trabalho foi comparar diferentes concentrações de etileno glicol na congelamento de sêmen de cães.

Material e Métodos

Foram utilizados 6 cães machos com idade entre 4 e 7 anos aprovados no exame andrológico pertencentes ao canil do Hospital Veterinário da UPIS. Os animais receberam ração comercial e água *ad libitum* e as coletas foram realizadas uma vez por semana durante seis semanas. O ejaculado foi coletado com auxílio de um funil de vidro acoplado a um tubo de centrifuga graduado e a fração espermática separada e avaliada nos aspectos motilidade e vigor e dividida em alíquotas para adição dos meios (Tris-gema) contendo o crioprotetor etileno glicol, nas concentrações de 4%, 5%, 6% e 7%. Após a descongelamento e durante o processo de congelamento foi avaliada a motilidade e o vigor do sêmen. A avaliação morfológica foi realizada na pré e pós-descongelamento, seguida do teste hiposmótico. Os resultados obtidos foram submetidos a Anova e as médias comparadas pelo teste de Duncan com índices de significância de 0,05%

Resultados e Discussão

O resfriamento e a congelamento do sêmen provocaram uma queda na motilidade progressiva e no vigor das amostras em todos os grupos. A motilidade progressiva pós descongelamento do grupo onde foi utilizado 7% de crioprotetor (42,08%) foi estatisticamente superior ao grupo com 5% de etileno glicol (27,91%), sendo semelhante a dos demais grupos. Na avaliação do vigor pós-descongelamento observou-se que os grupos com 6 e 7% de crioprotetor apresentaram-se estatisticamente superior ao congelado com 4% de etileno glicol. A morfologia espermática pós descongelamento e a funcionalidade de membrana medida pelo teste hiposmótico não apresentaram diferença estatística. Em conclusão, a utilização de uma solução contendo 7% de etileno glicol mostrou-se mais eficaz durante a criopreservação de sêmen canino.

Referências bibliográficas

- Curry, M.R. Cryopreservation of sêmen from domestic livestock. *Rev. Reprod.* v.5, p.46-52, 2000.
Farstad, W. Sêmen cryopreservation in dogs and foxes. *Anim. Reprod. Sci.*, v.42, p.251-60, 1996.
Holt, V. Basic aspects of frozen storage of sêmen. *Anim. Reprod. Sci.* v.62, p.3-22, 2000.
Silva, A.R.; Cardoso, R.C.S., Silva, L.D.M. Criopreservação do sêmen canino: revisão. *Ci. Anim.* v.11, p.119-129, 2001.
Vishanath, R., Sahnnon, P. Storage of bovine sêmen in liquid and frozen state. *Anim. Reprod. Sci.* v.62, p.23-53, 2000.

Palavras-chave: Reprodução, cão, sêmen, etileno glicol.

Keywords: Reproduction, canine, semen, ethylene glycol.



Inseminação artificial com sêmen refrigerado por 48 e 72 horas em cães

Artificial insemination with chilled semen stored for 48 and 72 hours in dogs

M. Apparício, A.E. Alves, G.Q. Mostachio, T.F. Motheo, D.J. Cardilli, E.A. Pires, W.R.R. Vicente

FCAV – UNESP Jaboticabal – Rod. Paulo Donato Castellani, s/n-Cep: 14884-900

E-mail: maricyap@fcav.unesp.br

Introdução

Na espécie canina, o período prolongado de viabilidade no sêmen associado à extensão geográfica de nosso país e o crescente interesse dos proprietários pela inseminação artificial torna a utilização do sêmen resfriado uma alternativa ao sêmen fresco. Este trabalho teve como objetivo avaliar comparativamente a eficácia da utilização dos diluidores tris-glicose-gema de ovo na conservação do sêmen canino armazenados a -4°C por um período de 48 e 72, e sua viabilidade na inseminação artificial por via intravaginal.

Material e Métodos

Foram utilizados 5 cães da raça beagle, sendo 1 macho e 4 fêmeas (2 em cada grupo). O sêmen foi colhido por manipulação digital e analisado antes da refrigeração (motilidade progressiva $\geq 90\%$, vigor ≥ 4 e espermatozoides morfolologicamente normais $\geq 80\%$). O exame colpocitológico foi realizado a partir do primeiro dia do sangramento, com intervalos de 48 horas, até que se observasse $>80\%$ de células superficiais. Neste dia, era realizada a dosagem sérica de progesterona. No pico de LH, o sêmen foi preparado para refrigeração, diluído em tris-glicose, acrescido de 20% de gema de ovo e armazenado a -4°C, por 48 (G1) ou 72 horas (G2). Decorrido este período, o sêmen foi colocado em banho maria a 37°C por 5 minutos, novamente avaliado e diluído em tris previamente aquecido, obtendo-se uma dose inseminante de 5ml. As fêmeas foram inseminadas por via intravaginal utilizando a sonda de Osiris. O exame ultrasonográfico foi realizado 30 dias e novamente 45 dias após o pico de LH.

Resultados e Discussão

Tanto o sêmen do G1 como do G2 apresentaram redução da motilidade ($\geq 80\%$), mas preservaram o vigor e a porcentagem de espermatozoides morfolologicamente normais. A redução na motilidade também foi observada por outros pesquisadores (Silva et. al., 2004), mas se mantêm dentro dos parâmetros considerados normais para a espécie. Nas cadelas inseminadas com o sêmen refrigerado por 48 horas (G1), a gestação foi constatada aos 30 dias nos dois animais, e a parição ocorreu aos 60 e 62 dias após o pico de LH (5 e 3 filhotes, respectivamente). Nas inseminadas com o sêmen refrigerado por 72 horas (G2), somente uma apresentou vesículas embrionárias (n=3) aos 30 dias, porém aos 45 dias estavam ausentes, sugerido absorção. Estes resultados demonstram que o diluidor tris-glicose acrescido de 20% de gema de ovo parece ter uma melhor ação protetora sobre o sêmen por 48 horas, mas a presença de vesículas embrionárias aos 30 dias nas cadelas do G2 não nos permite descartar a refrigeração por um período de 72 horas, como descreveu Iguer-Ouada (2001). Assim, a refrigeração do sêmen nos cães é uma técnica viável, mas necessita de outros estudos utilizando diferentes protocolos e períodos de refrigeração para se conseguir aprimorar esta técnica no Brasil, a exemplo do que ocorre em outros países.

Referências bibliográficas

Iguer-Ouada, M. Medically assisted procreation in canine species: analyses and 4°C preservation of semen. Tese (doutorado), 219 p., 2001.

Silva, A.R.; Satzinger, S.; Leite, L.G.; Silva, L.D.M. Gestação obtida por inseminação artificial com sêmen canino refrigerado transportado à distancia- relato de caso. *Clínica Veterinária*, n.50, 2004.

Palavras-chave: Cães, sêmen resfriado, inseminação artificial.

Keywords: Dogs, chilled semen, artificial insemination.



O uso de diferentes diluidores para inseminação artificial com sêmen canino refrigerado

The use of different extenders for artificial insemination using canine chilled semen

D.C. Uchoa, S. Satzinger, M.C. Amaral, L.D.M. Silva

Doutorando da Rede Nordeste de Biotecnologia- Laboratório de Reprodução de Carnívoros-UECE

E-mail: danielcouthochoa@terra.com.br

Introdução

A refrigeração do sêmen canino e posterior inseminação artificial (IA) possibilita a redução de custos de acasalamento entre criadores que trabalham com melhoramento genético canino e residem em regiões geograficamente distantes. Um dos grandes entraves para o acasalamento entre animais zootecnicamente superiores é o elevado custo do transporte aéreo, podendo este fato inviabilizar os acasalamentos (Silva *et al*, 2004). O transporte de sêmen canino refrigerado (4 a 8°C) em caixas de isopor (3 a 5 litros) contendo gelo biológico possibilita um baixo custo do frete e manutenção de uma boa qualidade espermática por cerca de 30 horas (Nascimento, 2006), tempo este suficiente para enviar por transporte aéreo à qualquer região da América do Sul. A fim de reduzir os custos e possibilitar uma maior praticidade para profissionais médicos veterinários que trabalham com intercâmbio de sêmen canino, foram testados diversos diluidores para transporte do sêmen canino refrigerado em caixas de isopor.

Material e Métodos

Foram inseminadas 15 cadelas de nove diferentes raças: Boxer (1), Bullmastiff (2), Bull Terrier (2), Dogue Alemão (2), Fila Brasileiro (1), Mastin Napolitano (1), Pastor Branco (1), Rottweiler (4) e Vizla (1). O ejaculado foi coletado de 13 machos entre as raças citadas por manipulação digital e somente ejaculados com motilidade ≥ 80 e vigor ≥ 4 foram utilizados. O sêmen foi acondicionado em tubos Falcon® com um dos diluidores testados: TRIS e leite desnatado ambos acrescidos de 20% de gema de ovo, e dois diluidores comerciais não acrescidos de gema: água de coco em pó (ACP®-106) e Kenney®. Os tubos foram transportados em caixa isopor de 3 a 5 litros ($\pm 5^\circ\text{C}$). No momento da IA, o sêmen foi re-aquecido a 37°C por 30 segundos e realizada nova avaliação. As cadelas foram divididas em 2 grupos: 1 IA (n = 5) e 2 IA (n = 10) de acordo com disponibilidade do proprietário, e foram inseminadas quando apresentavam índice de queratinização do epitélio vaginal $\geq 70\%$. As cadelas foram inseminadas por via intravaginal utilizando a Sonda de Osiris, e permaneceram por 7 min com o trem posterior elevado (45° a 60°). Durante o procedimento foram realizadas estimulações na vulva a fim de estimular contrações em direção ao útero. O segundo procedimento de IA foi realizada em torno de 36 horas após o primeiro.

Resultados e Discussão

O sêmen re-aquecido apresentou uma média de motilidade e vigor de $78,33 \pm 10,99$ e $3,72 \pm 0,46$, respectivamente. O tempo médio de transporte do momento da coleta até o local de inseminação das cadelas foi de $14,75 \pm 7,9\text{h}$ (8-38 h). Foram inseminadas 15 cadelas sendo obtidas 12 gestações (80% de taxa de gestação). Nasceram no total 99 filhotes, fornecendo um índice de prolificidade de 8,25. Pode-se concluir que o transporte de sêmen canino refrigerado nas condições descritas para posterior IA é viável, pois apresentou excelentes resultados de fertilidade e prolificidade com os diferentes diluidores.

Referências bibliográficas

Nascimento VN. *Efeito do diluente e do tempo de conservação sobre a qualidade do sêmen canino refrigerado*. 2006. f.46. Monografia (Graduação em Medicina Veterinária)- Universidade Federal Rural do Semi-árido, Mossoró 2006.

Silva AR, Satzinger S, Leite GL, Silva, LDM. Gestação obtida por inseminação artificial com sêmen canino refrigerado transportado à distância- relato de caso. *Clinica Veterinária*, n.50, p.56 - 64. 2004.

Palavras-chave: sêmen refrigerado, inseminação artificial, cães

Keywords: chilled semen, artificial insemination, dogs.



Efeito de diluidores formulados à base de Tris-Gema e Leite desnatado na refrigeração de sêmen canino

Effect of extenders formulated with Tris- egg yolk and skimmed milk on chilled semen of dogs

A.E. Alves, M. Apparício, G.Q. Mostachio, T.F. Motheo, E.A. Pires, D.J. Cardilli, W.R.R. Vicente

Setor de Obstetrícia e Reprodução Animal - FCAV - UNESP - Jaboticabal
Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane s/n CEP. 14884900
E-mail: cellealves@yahoo.com.br

Introdução

A inseminação artificial em cadelas têm sido frequentemente utilizada, nos animais com grande interesse reprodutivo. Várias etapas deste processo vêm sendo estudadas, buscando melhores resultados de fertilidade *in vivo*. O meio diluidor deve fornecer energia suficiente aos espermatozoides, para que se mantenham viáveis durante o processo de refrigeração (PONGLOWHAPAN et al. 2004). O objetivo deste estudo foi avaliar a viabilidade de espermatozoides caninos, submetidos ao processo de refrigeração por 48 horas, à - 4 °C, comparando os efeitos de diluidores formulados à base de Tris-glicose-ácido cítrico + gema de ovo e Tris-glicose-ácido cítrico + leite desnatado.

Material e Métodos

Foram utilizados 24 cães, SRD, com idade entre 3 e 6 anos de idade, sendo colhidas 3 amostras seminais de cada animal, totalizando 72 amostras. O sêmen foi coletado por massagem digital, e submetido às análises de volume, cor, motilidade progressiva, vigor, e morfologia espermática durante pré e pós refrigeração. O material foi acondicionado em palhetas de 0,5 mL com 200×10^6 espermatozoides viáveis, em 12 amostras utilizou-se diluente seminal à base de Tris+Glicose+ácido cítrico+Gema de ovo (20%), em 13 amostras utilizou-se diluente à base de Tris+Glicose+ ácido cítrico +leite desnatado(10%). As palhetas foram colocadas à - 4°C, durante 48 horas, logo deixadas por 10 minutos à temperatura ambiente, seguindo às análises de pós-refrigeração. Foi utilizada análise de variância e teste de Tukey para estudo de motilidade, vigor e morfologia espermática.

Resultados e Discussão

A motilidade espermática média do sêmen fresco foi de 90 %, após refrigeração, as amostras diluídas em Tris-Gema de ovo apresentaram motilidade média entre 80-85%, enquanto diluídas em Tris- Leite desnatado 70-80%. O sêmen fresco revelou média 4 com relação ao vigor espermático, sendo após refrigeração, média de 4 e 3 respectivamente às amostras diluídas em Tris-Gema de ovo e Tris-Leite desnatado. De acordo com Ponglowhapan et al. (2004), a motilidade e o vigor espermático declinam após 24-48 horas de refrigeração. Monossacarídeos, especialmente glicose aumentam a viabilidade espermática após processos de refrigeração e congelação, promovendo menores alterações no interior da célula espermática, evitando desordens no equilíbrio iônico (YILDIZ, et al. 2000). Possivelmente a associação entre glicose e Tris-Gema de ovo apresentou melhores resultados ($p < 0,001$), comparado ao leite desnatado, por promover melhor conservação do meio celular, resultando em menores alterações quanto à motilidade e vigor. Quanto a morfologia espermática, não houve diferença significativa ($p < 0,01$) entre amostras recém colhidas e resfriadas diluídas em Tris-Gema e Tris-Leite desnatado

Referências bibliográficas

- Ponglowhapan S., Essén- Gustavsson B, Linde-Forsberg C.** Influence of glucose and fructose in the extender on long term storage of chilled canine semen. *Theriogenology*; n.62, v.8, p.1498-517, 2004.
- Yildiz C, Kaya A, Aksoy M. Tekeli T.** Influence of sugar supplementation of the extender on motility viability and acrosomal integrity of dog spermatozoa during freezing. *Theriogenology*; n.54, p.579-85, 2000 .

Palavras-chave: sêmen resfriado, cães.

Keywords: chilled semen, dogs.



Proteínas do plasma seminal e da membrana espermática de cães: correlação com os parâmetros seminais e do teste de ligação/penetração em ovócitos homólogos

Seminal plasma and sperm membrane proteins: correlation with seminal parameters and binding/penetration testing homologous oocytes

F.F. de Souza^{1,2}, V.H. Chirinéa^{2,3}, M.I.M. Martins⁴, M.D. Lopes³

¹UNIFRAN, Franca, SP; FertCani-Reprodução de Cães e Gatos, Botucatu, SP; ³ Depto. Reprodução Animal e Radiologia Veterinária, FMVZ, UNESP, Botucatu, SP; ⁴ Departamento de Clínicas Veterinárias, UEL, Londrina, PR
E-mail: fertcani@fertcani.vet.br

Introdução

As proteínas do plasma seminal e da membrana espermática têm sido associadas à fertilização, funcionando como um dos elementos chave, durante esse processo. O objetivo deste estudo foi caracterizar o perfil protéico do plasma seminal e da membrana espermática de cães, utilizando a técnica de eletroforese bidimensional e correlacionar os resultados com os parâmetros do sêmen fresco e congelado e com o teste de ligação/penetração em ovócitos homólogos do sêmen congelado.

Material e Métodos

Foram utilizados ejaculados de 30 cães adultos (média de 3 anos), saudáveis, de diferentes raças, com histórico de paternidade recente. O sêmen foi colhido por manipulação digital do pênis. Após a colheita e descongelamento o sêmen foi avaliado pelo CASA (Computer Assisted Semen Analysis, Hamilton Thorne®). Para a congelamento, o sêmen foi diluído, envasado (80x10⁶ espermatozoides móveis/mL), refrigerado à 4°C/1h e congelado em vapor de nitrogênio líquido, durante 20 minutos. A descongelamento do sêmen foi realizada em Banho-Maria à 72°C/8 segundos. O teste de ligação/penetração em ovócitos homólogos^{1,2} foi realizado para avaliar a fertilidade *in vitro* do sêmen congelado. A eletroforese bidimensional separou as proteínas do plasma seminal e da membrana espermática.

Resultados e discussão

A média da motilidade espermática total do sêmen fresco e congelado foram de 87% e 64%, respectivamente. Na eletroforese bidimensional, o *spot* S22 (28,9 kDa, pI 7,80) se correlacionou, negativamente, a diferentes parâmetros de motilidade do sêmen fresco avaliados pelo CASA. Foi observada também uma correlação entre S22 e S10 (17,6 kDa, pI 9,0), com os parâmetros de motilidade do sêmen descongelado avaliados pelo CASA. Em relação às proteínas da membrana espermática encontrou-se uma correlação do *spot* S3 (15,0 kDa, pI 6,1) com a motilidade do sêmen descongelado, S8 (17,3 kDa, pI 9,7) ao número de espermatozoides/ovócitos, S8 e S10 (17,6 kDa, pI 9,0) a porcentagem de ovócitos interagidos no teste de ligação/penetração espermática em ovócitos homólogos. Apesar da importância da motilidade espermática na fertilização, o potencial de fertilidade determinado pelo teste de penetração/ligação espermática em ovócitos homólogos não se correlacionou à este parâmetro. Ademais, proteínas presentes no plasma seminal correlacionadas à motilidade, não se correlacionaram à fertilidade *in vitro* determinada pelo teste. Contrariamente, proteínas presentes na membrana espermática, grande parte provenientes do plasma seminal, que se aderem à membrana no momento da ejaculação, podem ser determinantes do potencial de fertilidade nessa espécie.

Referências bibliográficas

1. Hay, MA, King, WA, Gartley, CJ, Leibo, SP, Goodrowe, KL. Effects of cooling, freezing and glycerol on penetration of oocytes by spermatozoa in dogs. **J. Reprod. Fertil.**, v.51, p.99-108, 1997.
2. Mastromonaco, GF, Hay, MA, Goodrowe, KL. The effects of oocyte storage and cumulus cell presence on canine zona penetration by domestic dog spermatozoa. **Theriogenology**, v.57, p.1123-34, 2002.

Palavras-chave: Plasma-seminal, membrana-espermática, proteína, cão.

Keywords: Seminal-plasma, sperm-membrane, protein, dog.



Proteínas e cloretos totais e a congelabilidade de espermatozoides de epidídimos de cães

Total proteins and chlorides and the spermatozoa freezing of dogs epididymis

R.C. Justino, M.I.M. Martins

Departamento de Clínicas Veterinárias, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Londrina. Caixa Postal 6001. CEP 86061-570. Londrina, PR.
E-mail: imartins@uel.br

Introdução

A função espermática depende dos íons presentes no meio, entre eles as proteínas e os cloretos têm sido correlacionados à fertilidade. No período de maturação espermática, as proteínas presentes no fluido epididimário se aderem à membrana espermática, entretanto, o cloreto tem sido descrito como um desestabilizador das proteínas, impedindo a ligação dessas à membrana dos espermatozoides bovinos, tornando-os vulneráveis às diferentes agressões (PANGAWKAR et al., 1988). O intuito deste trabalho foi avaliar as concentrações de proteínas totais e cloretos do fluido epididimal e as possíveis interferências sobre a qualidade do espermatozoide de epidídimo a fresco e submetido à congelação.

Material e Métodos

Foram utilizados 05 cães adultos. Após a orquiectomia eletiva, realizou-se a compressão da cauda do epidídimo e parte do ducto deferente, para a recuperação dos espermatozoides em solução fisiológica 0,9%(Tratamento1) e ringer sem lactato (Tratamento2). O fluido foi centrifugado (800xg/10min) e o pellet ressuspendido em meio Tris/ac cítrico/OEP/7%glicérol. Imediatamente após, o sêmen foi envazado em palhetas de 0,5mL, refrigerado e congelado. A descongelação foi em Banho-Maria (70°C/ 8 seg). O sêmen fresco (M1) e descongelado (M2) foram avaliados em motilidade (Mot), vigor (V) e integridade de membrana (IM). O sobrenadante foi novamente centrifugado a 40C (4.200xg/30 min), e as concentrações de cloretos (Cl) e proteína total (PT) foram determinadas utilizando o método colorimétrico (LabVet®, Brasil). Os resultados foram submetidos à correlação de Pearson, analisados no programa SAEG

Resultados e Discussão

Os resultados obtidos foram descritos na Tabela 1.

Tabela 1. Resultados dos parâmetros seminais avaliados a fresco e após a descongelação, nos tratamentos 1 e 2, e as concentrações de proteínas totais (ng/dL) e cloretos (mEq/dL) no fluido epididimal dos 5 cães.

Cão	Tratamento 1 – Solução Fisiológica						Tratamento 2 – Ringer sem lactato							
	M1 (fresco)		M2 (congelado)				M1 (fresco)		M2 (congelado)					
	Mot	V	Mot	V	IM	PT	Cl	Mot	V	Mot	V	IM	PT	Cl
1	95	5	60	3	61	0,19	143,9	85	4	40	2,5	58	0,17	162,4
2	40	2	20	2	32	0,13	143,6	50	3	30	2	56	0,10	161,5
3	85	4	30	3	34	0,15	147,7	80	3,5	30	2	46	0,02	160,4
4	60	3	20	2	37	0,22	156,1	80	4	40	2,5	43	0,19	169,3
5	80	3	40	2	38	0,16	145,9	80	3	70	3	55	0,21	156,1

No Tratamento 2 detectou-se um índice maior de integridade de membrana pós descongelação, porém não houve diferença significativa entre os tratamentos. Não houve correlação significativa entre as concentrações de proteínas e cloretos totais do fluido epididimário e os resultados da descongelação espermática. Portanto, mais estudos são necessários, para obtenção de informações sobre a interferência dos níveis de proteínas totais e cloretos do fluido de epidídimo e congelabilidade espermática.

Referências bibliográficas

Pangawkar, GR, Sharma, RD, Biswas, RK, et al. Electrolyte composition of seminal plasma in relation to freezability in Holstein-Friesian bulls. *Indian Journal of Dairy Science*, v.41, n.4, p.497-9, 1988.

Palavras-chave: proteínas totais, congelação, espermatozoide, fluido epididimário.

Keywords: total protein, chloride, spermatozoa freezing, epididymis secretion.



Características morfo-funcionais de espermatozoides canino mantidos em *containers* para transporte refrigerado de sêmen, utilizando o diluente “Botu-Sêmen”[®]

Morphofunctional characteristics of canine spermatozoa maintained in containers for chilled semen transport, using the commercial extender “Botu-Sêmen”[®]

J.F. Nagao, M.I.M. Martins, L.C. Padilha, P.A.P. Savi

Departamento de Clínicas Veterinárias, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Londrina. Caixa Postal 6001. CEP 86061-570. Londrina, PR.
E-mail: imartins@uel.br

Introdução

Os imprevistos de viagens no transporte de sêmen refrigerado, muitas vezes fazem com que a viabilidade espermática seja comprometida, tornando a insuficiente para adequada utilização. Com isso faz-se necessário incrementar metodologias para conservação do sêmen a 5°C, garantindo boa funcionalidade espermática por períodos longos. O objetivo deste foi avaliar a qualidade do sêmen em diluente para equinos Botu-Sêmen[®] mantido em *containers* de transporte de sêmen por 10 e 18 horas e durante 72 horas em geladeira a 4°C.

Material e Métodos

Foram utilizados três cães reprodutores (2 Border Collie e 1 Labrador), com idade entre 2 e 8 anos. O sêmen foi colhido pelo método de estimulação digital. A primeira fração foi desprezada, e a espermática e prostática colhidas juntas. A avaliação microscópica foi subjetiva para a motilidade (MOT), vigor (VIG), concentração, vivos/mortos (VIV) e morfologia espermática pela coloração eosina-negrosina. O ejaculado foi centrifugado (800xg/10min), e o *pellet* ressuspenso no diluidor comercial Botu-Sêmen[®] numa concentração final de 100x10⁶ espermatozoides/mL. As alterações morfológicas foram classificadas em defeitos maiores (DFM) e menores (Dfm) (CBRA, 1998). Após a diluição, o sêmen foi alíquotado em tubos plásticos de 1,5mL e acondicionados nos *containers* Botu-Box[®](G1) por 10 horas e no Botu-Tainer[®](G2) por 18 horas. Após esse período, os tubos foram transferidos para um recipiente com 400mL de água e colocados em um refrigerador (4°C) por 72 horas. Avaliações espermáticas microscópicas, conforme descritas acima, foram realizadas a cada 24 horas. Os resultados foram analisados estatisticamente pelo programa SAEG e a correlação de Pearson para os dados não paramétricos foi realizado.

Resultados e Discussão

Observou-se uma queda na qualidade do sêmen a fresco em relação ao de 72 horas de refrigeração em todos os animais [(Cão 1: MOT 90%, VIG 5, DFM 6, Dfm 1, VIV 95% *versus* MOT 45%, VIG 3, DFM 21, Dfm 15, VIV 89%) (Cão 2: MOT 95%, VIG 5, DFM 3, Dfm 7, VIV 95% *versus* MOT 50%, VIG 3, DFM 9, Dfm 18, VIV 83%) (Cão 3: MOT 90%, VIG 4, DFM 11, Dfm 2, VIV 100% *versus* MOT 55%, VIG 3, DFM 11, Dfm 12, VIV 85%)], entretanto, os valores obtidos estão dentro do aceitado para a espécie. Foi detectada uma correlação negativa ($p < 0,05\%$) entre motilidade, vigor, defeitos morfológicos maiores e espermatozoides vivos nas primeiras 42 horas de refrigeração. Não houve diferença significativa nos valores espermáticos resultantes nos dois *containers*. Portanto, o diluente comercial Botu-sêmen[®], e os *containers* Botu-Box[®] e Botu-Tainer[®] utilizados para a refrigeração de sêmen de cães mantiveram a viabilidade espermática por um período longo, entretanto, estudos adicionais devem ser realizados para confirmar esses resultados.

Referências Bibliográficas

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

Palavras-chave: sêmen, cães, refrigeração.

Keywords: semen, dogs, chilled.

Agradecimento: Ao Dr. José A. Dell’Aqua Júnior da empresa Biotech - Botucatu pela disponibilização do meio diluente e dos *containers* utilizados.



Efeitos dos constituintes do plasma seminal sobre a função espermática na refrigeração do sêmen canino

Effect of the seminal plasma constituents on function spermatozoa in the canine chilled semen

P.A.P. Savi, M.I.M. Martins, L.C. Padilha, J.F. Nagao

Departamento de Clínicas Veterinárias, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Londrina. Caixa Postal 6001. CEP 86061-570. Londrina, PR.
E-mail: imartins@uel.br

Introdução

O plasma seminal é um fluido complexo que contém uma variedade de constituintes iônicos, que influenciam na integridade da membrana espermática, sendo esta fundamental para a funcionalidade do espermatozóide. O objetivo deste trabalho foi quantificar constituintes bioquímicos do plasma seminal e a avaliar a influência destes sobre a função espermática, de sêmen de cães submetidos à refrigeração a 4°C por até 72 horas.

Material e Métodos

Foi utilizado sêmen de três cães adultos, com idade entre 2 a 8 anos, de duas raças diferentes (2 da raça Border Collie e um Retriever do Labrador). A colheita do sêmen foi pelo método da manipulação digital sem a presença de fêmea em cio. Colheu-se somente a fração espermática e parte da prostática. Avaliou-se microscopicamente, motilidade (MOT) e vigor espermático (VIG), vivos (VIV) e mortos pela coloração eosina-negrosina. O ejaculado foi centrifugado (800xg/10 min), o sobrenadante foi separado, armazenado em tubos plásticos de 1,5 mL e congelados a -20°C. O *pellet* foi ressuspenso no meio diluente Botu-Sêmen®, alíquotado e submetido à refrigeração a 4°C por até 72 horas, sendo que foram realizadas avaliações a cada 24, 48 e 72 horas. Para as análises bioquímicas as amostras foram descongeladas, centrifugadas a 4°C (4.200xg/30 min), e utilizando métodos colorimétricos foi mensurado magnésio (Mg), proteínas (Pt), cloretos (Cl), cálcio (Ca) e potássio (K) em laboratório particular. As médias foram calculadas pelo Excel. As correlações de Pearson para dados não paramétricos foram realizadas no programa SAEG.

Resultados e Discussão

Os resultados das avaliações seminais e bioquímicas estão sumarizados na Tabela 1.

Tabela 1. Média \pm desvio padrão dos parâmetros seminais avaliados, antes e após a refrigeração por 72 horas e os resultados das dosagens bioquímicas* do plasma seminal dos três cães.

ANIM	MOT(%)	VIG	DFM(%)	DFN(%)	VIV(%)	Pt	Cl	Mg	Ca	K
1	57,2 \pm 14	3,3 \pm 0,7	22 \pm 8,9	14,7 \pm 9,1	91,3 \pm 3,4	118	119,6	2,37	2,9	8,7
2	63,3 \pm 14	3,4 \pm 0,7	14,2 \pm 10,0	12 \pm 4,7	90,8 \pm 5,7	112	129,7	2,19	2,5	7,6
3	67,2 \pm 11	3,4 \pm 0,7	17,1 \pm 11,2	10,2 \pm 4,5	93,1 \pm 5,1	114	119,9	5,67	3,1	9,2

*O valores de Pt, Cl, Mg, Ca e K foram expressos em mg/dL.

Os resultados obtidos nas avaliações dos parâmetros espermáticos e nas dosagens bioquímicas do plasma seminal não se diferiram estatisticamente ($p > 0,05$).

Não foi detectada nenhuma correlação significativa entre os parâmetros seminais e as dosagens bioquímicas do plasma. Entretanto, detectou-se que o cão 3, apresentou melhores resultados na qualidade do sêmen durante refrigeração, e concentrações mais elevadas de magnésio (5,67mg/dL) e cálcio (3,1mg/dL) no plasma seminal, sugerindo que esses elementos podem estar relacionados com a maior resistência e melhor transporte espermático. Portanto, estudos complementares, considerando um número maior de cães devem ser analisados para que se possa comprovar os resultados da concentração de Mg e Ca do plasma seminal, em relação à proteção espermática ao estresse térmico, provocado pela refrigeração do sêmen de cães.

Palavras-chave: plasma seminal, canino, análise bioquímica, sêmen refrigerado.

Keywords: seminal plasma, dogs, chilled semen, biochemistry analyze.



Influência do protocolo de sincronização da ovulação sobre os níveis plasmáticos de Glicose e taxa de parição em ovelhas

Influence of the ovulation synchronization protocol on the plasmatic levels of glucose and parturition rate in ewes

**J.M. Silva¹, A.F. Souza¹, N.A. Macedo¹, R.D. Barbosa¹, E.C.A. Silva¹, M.S. Ferraz¹,
M.A. Vieira Filho¹, R.J. Vieira^{1b}**

¹Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Piauí; ^{1b}End. Para correspondência: Rua Sen. Joaquim Pires, 1616, Fátima, Teresina, Piauí.

E-mail: rvieira@ufpi.br e rvieirasb@yahoo.com.br

Introdução

A glicose é um metabólito que representa a via metabólica da energia, sua concentração sanguínea é pouco sensível às variações de energia na ração, já que seus níveis plasmáticos são controlados por mecanismos hormonais (González *et al.*, 2000). De acordo com MAFFILI *et al.*, 2005, em cabras, a utilização de cipionato de estradiol associado a Progesterona natural e ao MAP (acetado de medroxiprogesterona), foi eficiente em sincronizar a onda folicular. Para uma maior taxa de parição e conseqüentemente melhor eficiência reprodutiva, estima-se que durante a gestação, o requerimento de glicose tende a aumentar para que o desenvolvimento e crescimento fetal sejam promovidos, sendo assim, objetivou-se verificar se a disponibilidade desse metabólito no período de sincronização da ovulação poderia estar relacionada à taxa de parição.

Material e Métodos

O trabalho foi desenvolvido no município de Teresina – PI. Utilizou-se 28 ovelhas Santa Inês divididas ao acaso em dois grupos tratados com esponjas vaginais impregnadas com acetato de medroxiprogesterona (MAP) e pulverizadas com antibiótico, sendo em seguida submetidos a injeção intramuscular de prostaglandina F_{2α} no Dia 0 (D0). O GI composto por 13 fêmeas, foi submetido à retirada da esponja no nono dia após início do tratamento (D9) e à aplicação de cipionato de estradiol (ECP) por via intramuscular no décimo dia (D10); o GII composto por 15 fêmeas, foi submetido à aplicação de gonadotrfina coriônica eqüina (eCG) em D7 e posterior retirada da esponja em D9. A Eficiência do protocolo foi obtida por meio da observação dos partos. Foram efetuadas colheitas de sangue para posterior dosagem de glicose no D0, D7, D9 e D58.

Resultados e Discussão

Observou-se que o tratamento utilizado em GI não foi eficaz, já que o mesmo não apresentou nenhum parto, para GII a taxa de parição foi de 53,3%. No que diz respeito ao níveis plasmáticos de glicose a aplicação da esponja em GI não interferiu na glicemia, porém o mesmo não aconteceu em GII, já que foi observado um aumento significativo nos níveis de glicose ($p < 0,005$). Após o tratamento com ECP (GI) e eCG (GII) foi observado um aumento significativo na glicemia, porém esse aumento em GII foi mais regular, tendo ocorrido uma disponibilidade mais uniforme nos animais gestantes ($p < 0,005$).

Referências bibliográficas

- González, F.H.D., Barcellos, J.O., Ospina, H., Ribeiro, L.A.O.** Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais. Porto Alegre, p.77, 2000.
Maffili, V.V., Torres, C.A.A.; Fonseca, J.F., et al. Sincronização do estro de cabras da raça Saanem com esponja intravaginal e CIDR-G. Arq. Bras. Méd. Vet. Zootec.v57,n.5, p. 591-98, 2005.

Palavras-chave: Sincronização, glicose, ovelha.

Keywords: Synchronização, glucose, ewes.



Efeito do fotoperíodo e da condição ovariana sobre a taxa de obtenção de oócitos de ovário de gatas

Effect of photoperiod and ovarian condition upon oocyte recovering rate from queen ovaries

L.R. Martins, C.B. Fernandes, B.W. Minto, S.L. Beier, F.C. Landim-Alvarenga, M.D. Lopes

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Unesp - Botucatu

E-mail: denise@fmvz.unesp.br

Introdução

O objetivo desse experimento foi determinar a taxa de recuperação de oócitos de gatas em três condições ovarianas diferentes: folicular, luteal ou inativa – durante dois fotoperíodos, aos quais os gatos estão expostos na região de Botucatu/SP – fotoperíodo 1 (FP1), compreendendo os meses de janeiro, fevereiro e março; e fotoperíodo 2 (FP2), que inclui os meses de agosto, setembro e outubro (TEBET et al., 1997).

Material e Métodos

Para realização dessa investigação, gatas com idade superior a um ano e peso corporal condizente foram submetidas à OSH. Os ovários foram transportados ao laboratório a 4 °C em microtubos (Sarstedt®, Brasil) em 5 mL de Dulbecco's phosphate buffered saline (DPBS; Nutricell®, Brasil) acrescido de 1% de solução antibiótica-antimicótica (Sigma®, EUA) e foram processados dentro de no máximo 4 horas após a remoção. Em seguida, foram dissecados e liberados de tecido adiposo e vasos adjacentes e colocados em placa de Petri plástica com dimensões de 60 x 15 mm (Ingámed®, Brasil) contendo 5 mL de DPBS (Nutricell®, Brasil) aquecido a 38 °C. Cada ovário foi cortado com lâmina de bisturi no sentido longitudinal oposto à face de inserção dos vasos e ligamento ovariano e classificados de acordo com sua condição – inativa (sem estruturas aparentes em sua superfície), luteal (presença de um ou mais corpos lúteos) e folicular (pelo menos 1 folículo maduro visível com mais de 2 mm de diâmetro) de acordo com Spindler & Wildt (1999). Procedeu-se, então, o *slicing* para liberação dos complexos *cumulus oophorus* (COC). Sob lupa, os COC foram selecionados e classificados em graus I, II e III.

Resultados e Discussão

Durante o FP1 foram obtidos 473 COC grau I de 20 pares de ovários, enquanto que para obtenção de um número semelhante de COC grau I - 445 no FP2, foram necessários apenas 10 pares. Foram obtidos 10 ovários de gatas na condição inativa, 08 na luteal e 02 na folicular, durante o FP1. No FP2 foram 05 ovários na condição inativa, 03 na luteal e 02 na folicular. As diferenças estatísticas entre os grupos foram analisadas através de ANOVA.

Tabela 1: Número médio de COC/gata com ovários nas três condições: inativa, luteal e folicular nos FP 1 e 2.

	FP1/FP2		
	Inativa	Luteal	Folicular
Grau I	21,70/54,60	22,50/47,00	38,00/39,00
Grau II	19,50/3,20	21,13/5,33	22,50/1,50
Grau III	23,70/2,40	15,38/4,33	17,38/2,50

Embora estejamos situados à latitude de 22,55° S e à longitude de 48,3°O observamos uma diferença significativa nas taxas de obtenção de COC grau I em fêmeas com ovários nas condições inativa e luteal no FP2. Na fase folicular não houve diferença significativa entre o número de COC Grau I, obtido nos dois fotoperíodos. Fêmeas apresentando ovários nas três condições, forneceram um número menor COC graus II e III/ovário no FP2 comparado ao FP1. As principais diferenças entre o nosso resultado e aqueles observados em países com fotoperíodos mais marcantes talvez se deva a um rigoroso critério de seleção de COC grau I ou às diferentes condições genéticas das fêmeas doadoras. Nossos achados diferem da afirmação de que em regiões tropicais as gatas domésticas não apresentam sazonalidade reprodutiva.

Referências Bibliográficas

- Spindler, R.E.; Wildt, D.E.** Circannual variations in intraovarian oocyte but not epididymal sperm quality in the domestic cat. *Biol Reprod*, v.61, p.188-194, 1999.
- Tebet, J.M.; Lopes, M.D.; Bicudo, S.D.; Prestes, N.C.; Landim-Alvarenga, F.C.** Sazonalidade reprodutiva de gatas domésticas – levantamento retrospectivo de ocorrências obstétricas registradas nos arquivos da FMVZ- Botucatu. *Rev Bras Reprod Anim*, v.21, n.2, 1997.

Palavras-chave: gata, fotoperíodo, oócito.

Keywords: queen, photoperiod, oocyte.



Aspiração folicular e fatiamento ovariano como métodos para recuperação de oócitos na gata doméstica (*Felis catus*)

Follicular aspiration and slicing as methods for oocytes recovery in the domestic cat (Felis catus)

C.P. Dal Curtivo¹, M.G.L. Pinto², R.H. Erdmann³, S.H. Bomm⁴, N. Moreira²

¹Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias – UFPR; ²UFPR – Campus Palotina;
³PUCPR, Toledo; ⁴Clínica Veterinária Santa Clara
E-mail: cassiacurtivo@yahoo.com.br

Introdução

Tanto nos gatos domésticos quanto nas espécies de felídeos selvagens, a técnica de produção *in vitro* (PIV) de embriões tem evoluído consideravelmente durante os últimos anos. Esta tecnologia pode ser uma importante ferramenta nos programas de reprodução assistida, permitindo o resgate, armazenamento e transferência de material genético de espécies de felídeos selvagens que estão, no momento, ameaçadas de extinção. A produção *in vitro* de embriões depende inicialmente de um processo eficiente de recuperação oocitária onde se busca o maior número possível de oócitos, sem prejudicar o potencial de desenvolvimento *in vitro* destes oócitos. Neste experimento avaliou-se o desempenho da aspiração folicular dirigida visualmente para a recuperação de oócitos de gatas domésticas, alternativa interessante para aspiração *in vivo* aliada à laparoscopia.

Materiais e métodos

Neste experimento foram analisados os métodos de recuperação oocitária por aspiração folicular dirigida visualmente com seringa e pelo método de fatiamento. Os ovários foram coletados de gatas adultas (n = 5) em vários estágios do ciclo reprodutivo pelo método de ovário-histerectomia (OSH). Os mesmos foram enviados diretamente para o laboratório em placas de Petri e lavados com solução fisiológica aquecida a 37°C. Os folículos visíveis com diâmetro de 2 a 8 milímetros foram aspirados com seringa de 3 ml e agulha 25x7 mm contendo solução PBS. Nestes mesmos ovários empregou-se a técnica do fatiamento, na qual os ovários foram fatiados repetidamente com o uso de lâmina de bisturi para que os complexos *cumulus ooforus* (COCs) fossem liberados em placa de Petri também contendo PBS. Os oócitos foram encaminhados separadamente para contagem com uso de lupa estereomicroscópica.

Resultados e discussão

Através do uso de ambas as técnicas foram obtidos 203 oócitos de cinco gatas domésticas, com média (\pm EPM) de 40,6 \pm 2,7 oócitos por animal. Pelo método de aspiração dirigida foram recuperados 113 (55,7%) oócitos, fornecendo em média 22,6 oócitos por gata. Com a técnica de fatiamento foram obtidos 90 oócitos (44,3%), fornecendo em média 18 oócitos por gata. Conclui-se que a técnica de aspiração folicular dirigida visualmente pode ser utilizada para recuperação de oócitos *in vivo* aliada a laparotomia, enquanto que o fatiamento (*slicing*) pode ser empregado, com bom resultado, na recuperação de oócitos após ovariectomia e aspiração visualmente dirigida.

Referências bibliográficas

- Freistedt P, Stojkovic M, Wolf E. Efficient *in vitro* production of cat embryos in modified synthetic oviduct fluid medium: effects of season and ovarian status. *Biology of Reproduction*, v.65, p.9-13, 2001.
- Karja NWK, Otoi T, Murakami M, Fahrudin M, Suzuki T. *In vitro* maturation, fertilization and development of domestic cat oocytes recovered from ovaries collected at three stages of the reproductive cycle. *Theriogenology*, v.57, p.2289-2298, 2002.
- Murakami M, Otoi T, Karja NWK, Ooka A, Suzuki T. Effects of serum-free culture media on *in vitro* development of domestic cat embryos following *in vitro* maturation and fertilization. *Reprod Dom Anim*, v.37, p.352-356, 2002.

Palavras-chave: oócitos, gato doméstico, recuperação oocitária, felídeos, FIV.

Keywords: oocytes, domestic cat, oocyte recovery, felids, IVF.



Uso da água de coco em pó (ACP-117[®]) na criopreservação de sêmen de gato doméstico *The use of powder coconut water extender (ACP- 117[®]) for cryopreservation of domestic feline semen*

T.F.P. Silva, C.L. Ackermann, F.T.S. Pinheiro, L.D.M. Silva

Laboratório de Reprodução de Carnívoros- PPPGCV-UECE
E-mail: ticifranco@hotmail.com

Introdução

A água de coco em pó ACP[®] vem tornando-se uma importante alternativa ao uso de diluidores comerciais, já tendo sido utilizada na conservação de sêmen de pequenos ruminantes, eqüinos, suínos e capotes. Para cães, foi usada na criopreservação (Cardoso, 2005) e com sucesso em testes *in vivo* (Uchoa *et al.*, 2004). Apesar de sua utilização em várias espécies, não são encontrados trabalhos relatando o uso do ACP[®] para conservação de sêmen de felinos. Além de serem animais de companhia, os gatos têm importante papel em estudos de reprodução de felídeos selvagens, pois servem como modelo experimental para reprodução de outras espécies da mesma família. Este diluidor pode constituir-se em uma boa alternativa para criopreservação de sêmen de felinos. Assim este trabalho teve por objetivo avaliar a eficiência do ACP[®]-117 nas etapas de diluição, resfriamento e glicerolização da criopreservação de sêmen de gatos domésticos.

Material e Métodos

Foram utilizados 12 ejaculados de 6 gatos domésticos coletados por vagina artificial, apresentado ao macho uma gata em estro natural. Na monta, a vagina artificial foi acoplada ao pênis do gato até a ejaculação. O sêmen foi avaliado macroscopicamente quanto a coloração e em microscopia ótica (100x), quanto a motilidade, vigor (0-5) e concentração espermática. O ACP[®]-117 foi preparado e estocado a -20°C até o momento da adição de 20% de gema de ovo. Este foi fracionado em duas porções, sendo a 1^a porção adicionada ao sêmen imediatamente após a coleta e análise inicial (37°C), permitindo uma concentração de 50 ou 100 x 10⁶ spz/mL. Após a diluição inicial, o sêmen foi acondicionado em caixa térmica com gelo biológico a 15 °C por 40 min. Ao final deste período, o sêmen levado em banho-maria à geladeira a 4 °C por 30 min. Após esse período, a 2^a porção do diluidor acrescida de glicerol e acondicionada a 4 °C foi adicionada ao sêmen, fornecendo uma concentração final de glicerol de 6%. Cinco minutos após a glicerolização, o sêmen foi envasado e as palhetas foram expostas aos vapores de nitrogênio de -70°C por 5 min e foram acondicionados em botijão de nitrogênio a -196 °C. Motilidade e vigor foram avaliados após diluição, resfriamento e glicerolização.

Resultados e Discussão

O volume médio dos ejaculados obtidos foi de 34,33 ± 13,87 µL e concentração média de 1784, 17 ± 2289,11 x 10⁶ spz/mL. Todos os ejaculados apresentaram-se branco-opalescentes. A média de motilidade foi de 91,5% ± 9,94; 86,67% ± 10,30; 79,55% ± 13,31; 69,50% ± 21,40 para o sêmen fresco, diluído, resfriado e glicerolizado, respectivamente. A média de vigor foi de 4,71 ± 0,50; 4,27 ± 0,67; 4,05 ± 0,57 3,85 ± 0,71 para o sêmen fresco, diluído, resfriado e glicerolizado, respectivamente. Assim, o ACP[®]-117 mostra-se eficiente na manutenção da boa qualidade espermática nas etapas testadas para o sêmen felino.

Referências bibliográficas

- Uchoa DC. *Inseminação artificial em cadelas com sêmen a fresco com diluidores à base de água de coco*. 2004. f.61. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias)-Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza 2004.
- Cardoso RCS, Silva AR, Silva LDM. Comparation of two dilution rates on canine sêmen quality in a cocconut water extender. *Animal Reproduction Science*, v.92, p.384-391, 2006.

Palavras-chave: gato, sêmen, criopreservação, água de coco.

Keywords: cat, sêmen, cryopreservation, coconut water.



Preservação de sêmen de *Cebus apella* (macaco-prego) em diluidor à base de água de coco a 37 °C

Preservation of Cebus apella semen using coconut water extender at 37°C

L.L. Araújo¹, K.G. Oliveira¹, J.S. Lima¹, P.S.P. Pantoja², J.B. Araújo², S.F.S. Domingues¹

Afiliação: ¹BIOMEDAM - Medicina Veterinária - Campus de Castanhal-Universidade Federal do Pará (UFPA), ²Centro Nacional de Primatas (SVS-MS)
E-mail: shfarha@ufpa.br

Introdução

O desenvolvimento de protocolos de inseminação artificial para espécies de primatas não humanos vem ganhando enorme importância à medida que estudos constataam a ameaça de extinção na qual se encontram a grande maioria desses animais (Barnabe *et al*, 2002). Na espécie *Cebus apella*, faltam informações a cerca da conservação de gametas masculinos e extensão do volume espermático a fresco, o que dificulta o emprego da inseminação artificial. Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivo propor um protocolo de obtenção de sêmen, utilizando a eletro-ejaculação com uma amperagem máxima de 100mA e a elaboração de um método de expansão do ejaculado, em solução a base de água de coco.

Material e Métodos

Foram utilizados cinco (n=5) machos adultos de *Cebus apella*. Os animais foram submetidos à contenção química, com a injeção intramuscular de Cloridrato de Ketamina (10mg/PV) e Xilazina (1mg/PV) para o procedimento de eletro-ejaculação, que consistiu de uma sessão com 5 séries de 20 de estímulos elétricos cada, variando de 12,5; 25; 50; 75 e 100 mA por série. O sêmen coletado foi acondicionado em eppendorfs, contendo 0,5ml de diluidor a base de água de coco (50% de água de coco + 25% de citrato de sódio a 5% + 25% de água destilada) (Uchoa *et al*, 2002) e Ph = 8,0. Em tempos de 15 min a 7h de incubação em banho-maria a 37°C, foi realizada a avaliação da fração líquida e do coágulo em dissolução, com relação as suas características macroscópicas e microscópicas e o percentual de espermatozoides vivos/mortos, utilizando o método de coloração eosina/nigrosina. Os dados foram apresentados em média ± EP.

Resultados e Discussão

Foram realizadas um total de 5 coletas. Os volumes médios das frações líquida e coagulada foram de 0,26 ± 0,06 ml e 0,98 ± 0,02 ml, respectivamente. A fração coagulada desfez-se completamente de 1 a 2 hs de incubação em diluidor à base de água de coco a 37° C. As médias das concentrações espermáticas referentes às frações líquidas e coaguladas foram 1,72. 10⁸ ± 0,7 10⁸ e 1,30. 10⁹ ± 0,7 10⁹, respectivamente. Apenas em uma amostra de fração líquida apresentou motilidade 20% e vigor 1. O percentual de vivos de 1-7hs de incubação em diluidor a base de água de coco foi de 93 ± 3% e 80 ± 5%, respectivamente na primeira e última hora de análise. Os resultados sugerem que a amperagem utilizada, de no máximo 100mA, foi eficiente para a coleção de sêmen. O diluidor a base de água de coco foi capaz de manter viabilidade dos espermatozoides de *C. apella* por 7 horas após a coleta. Diante do proposto, sugere-se a necessidade de estudos para avaliar os fatores responsáveis pela diminuição da motilidade das células espermáticas em *C. apella*.

Referências bibliográficas

- Barnabe RC, Guimarães MABV, Oliveira CA, Barnabe AH. Analysis of some normal parameters of the spermogram of captive capuchin monkeys (*Cebus apella*). Braz J. vet. Res. anim. Sci., São Paulo, v.39, n.6, p. 331-333, 2002.
- Uchoa DC, Silva AR, Cardoso RCS, Pereira BS, Silva LDM. Conservação do sêmen canino a 37° em diluentes à base de água de coco. Ciência rural. Santa Maria, v. 32, n.1, p.91-95, 2002.

Palavras chaves: Sêmen, água de coco, *Cebus apella*, Macho, Macaco-prego.

Keywords: Semen, coconut water, *Cebus apella*, Male, Capuchin monkey.



Maturação oocitária *in vitro* de fêmeas adultas de macaco-prego (*Cebus apella*)

In vitro maturation of adults capuchin monkey (*Cebus apella*) oocyte

J.S. Lima¹, K.G. Oliveira¹, L.L. Araújo¹, J. B. Araújo², P.S.P. Pantoja², P.H.G. Castro²,
M.S. Cordeiro¹, O.M. Ohashi¹, S.F.S. Domingues¹

¹Universidade Federal do Pará

²Centro Nacional de Primatas

E-mail: shfarha@ufpa.br

Introdução

Algumas características relacionadas à fisiologia de fêmeas de *Cebus apella* são conhecidas, como a duração do ciclo menstrual entre 18 a 21 dias, dividido nas fases folicular, luteal e menstrual, e ovulação média do 8º ao 11º dia do ciclo menstrual (Nagle *et al.*, 1980, Domingues, 2005). No entanto, não existem trabalhos sobre a maturação *in vitro* (MIV), dificultando o emprego de biotécnicas de reprodução (Domingues, 2005). Nosso objetivo é iniciar estudos sobre a MIV de oócitos obtidos a partir de folículos antrais de *C. apella*.

Material e Métodos

O grupo de estudo foi composto por seis (n=6) fêmeas adultas de *C. apella*, mantidas no Centro Nacional de Primatas (CENP-SVS) em Ananindeua, Pará. A colpocitologia foi utilizada para determinar o primeiro dia do ciclo menstrual (dia 1). As punções foliculares foram realizadas por laparotomia no dia 9 do ciclo, sendo todos folículos antrais com 2-9mm de diâmetro puncionados (Domingues, 2005). O transporte dos oócitos foi realizado em tubos de microcentrifuga contendo fluido folicular. No laboratório de fertilização *in vitro* da UFPA, os oócitos obtidos foram lavados em TCM 199, acrescido de tampão HEPES e submetidos a cultivo *in vitro* por 24 horas, em gotas de 100 µl de meio de MIV (TCM 199, suplementado com EGF 0,5µg/mL, piruvato 0,22, β-mercaptoetanol 50 µM, SFB 10%, PMSG 7UI, hCG 14UI) a 38,5° C, em atmosfera de 5 % de CO₂. Para avaliação da maturação nuclear, os oócitos foram fixados em etanol-ácido acético (3:1) e corados comorceína acética (2%).

Resultados e Discussão

Foram obtidos 17 oócitos, com média de 2,83 oócitos por fêmea. Este resultado foi superior ao relatado anteriormente (Domingues, 2005). Na maturação *in vitro*, a frequência relativa das fases meióticas alcançadas pelos oócitos foram 7% em prófase I, 55% em anáfase I, 15% em telófase I. O resultado demonstra que oócitos obtidos a partir de folículos pequenos (2 mm), médios (4mm) e grandes (> 4mm) de *C. apella* podem ser competentes para retomar a meiose. Os resultados sugerem a necessidade de maior tempo de MIV, como descrito para outros primatas neotropicais (Gilchrist *et al.*, 2005).

Referências Bibliográficas

- Domingues SFS.** Estudo da oogênese e foliculogênese *in vivo* na fase antral em primatas neotropicais da espécie *Cebus apella*: aspectos bioquímicos e estruturais. 135f. 2005. Tese (Doutorado em produção animal) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro. 2005.
- Gilchrist RB, Nayudu MAN, Hodges JK.** Meiotic competence of marmoset monkey oocytes is related to follicle size and oocytes-somatic cell associations. *Biol Reprod*, v. 52, p. 1234-1243, 2005.
- Nagle CA, Riarte A, Quiroga S, Azorero RM, Carril M, Denari JHE, Rosner JM.** Temporal relationship between follicular development, ovulation and hormonal profile in the capuchin monkey (*Cebus apella*). *Biol Reprod*, v. 23, p. 629- 635, 1980.

Palavras-chave: Maturação *in vitro*, oócito, folículos antrais, *Cebus apella*, Macaco-prego.

Keywords: *In vitro* maturation, oocyte, antral follicles, *Cebus apella*, Capuchin monkey.



Desenvolvimento *in vitro* de embriões de camundongo (*Mus musculus*) no estágio de 2 células, vitrificados em diferentes tempos de exposição à solução crioprotetora

In vitro development of mouse 2-cell embryos vitrified after different times of exposition at cryoprotectant solution

C. Malburg, V.B. da Rosa, M. Cordini, V.L.L. Amaral, M. Frajblat

Universidade do Vale do Itajaí
E-mail: carolina_malburg@yahoo.com.br

Introdução

A vitrificação é um método de criopreservação em que embriões são expostos a altas concentrações de crioprotetores por um curto período e são transferidos diretamente para o nitrogênio líquido. O sucesso desta técnica depende do constante aperfeiçoamento dos métodos utilizados principalmente quanto a escolha do crioprotetor e tempo de exposição à solução de equilíbrio. O objetivo deste trabalho foi testar o desenvolvimento *in vitro* de embriões de camundongo (*Mus musculus*) no estágio de 2 células após vitrificação utilizando tempos de 1 e 2 minutos na solução de equilíbrio (solução crioprotetora 1).

Material e Métodos

Os embriões selecionados foram expostos à solução crioprotetora 1 composta por 10% Etilenoglicol (EG) + 10% Propanediol (PROH) e 0,25M sucrose em HTF-hepes® (Life Global, EUA), suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB), por 1 minuto (n = 193) e 2 minutos (n = 171) à temperatura ambiente e transferidos para a solução crioprotetora 2 com 20% de EG + 20% PROH + 0,5M de sucrose em HTF-hepes®, suplementado com 10% de SFB, durante 30 segundos, envasados em palhetas e imersos diretamente no NL. Para o aquecimento, as palhetas foram expostas ao ar e os embriões a soluções decrescentes de sacarose (0,3M e 0,15M). Os embriões foram avaliados, utilizando como critérios sua integridade morfológica e regularidade dos blastômeros; os que sobreviveram ao processo de descongelamento e os embriões do grupo controle - não vitrificados - (n = 157) foram transferidos para o meio Global® (Life Global, EUA), sob óleo mineral e mantidos por 96 horas em estufa a 37°C, com 5% CO₂. Para a análise estatística, foi utilizado o teste qui-quadrado.

Resultados e Discussão

As taxas de formação de 4 células, mórula e blastocisto dos grupos vitrificados foram menores que as do grupo não-vitrificado (controle). Os embriões, expostos durante 1 minuto à solução crioprotetora 1, apresentaram taxas de desenvolvimento embrionário *in vitro* maiores que as dos embriões expostos durante 2 minutos à mesma solução.

Tabela 1: Taxas de formação de 4 células, mórula e blastocisto *in vitro* após vitrificação em diferentes tempos de exposição à solução crioprotetora 1.

Grupo	Embriões Vitrificados	Taxa de sobrevivência	Taxa de 4 células	Taxa de Mórula	Taxa de Blastocisto
Controle	---	157	133 (85%) ^a	130 (83%) ^a	130 (83%) ^a
2-cells 1 min.	193	154 (80%) ^a	112 (58%) ^b	103 (53%) ^b	97 (50%) ^b
2-cells 2 min.	171	151 (88%) ^b	77 (45%) ^c	65 (38%) ^c	60 (35%) ^c

^{abc}: diferentes letras na mesma coluna demonstram diferenças significativas (p<0,05).

Apesar da menor taxa de sobrevivência, a redução do tempo de exposição dos embriões à solução de equilíbrio para 1 minuto proporcionou maiores taxas de desenvolvimento embrionário *in vitro*, o que sugere uma possível diminuição da crioinjúria durante o processo de vitrificação.

Referências bibliográficas

Rall, W.F.; Fahy, G.M.. Ice-free cryopreservation of mouse embryos at -196 degrees C by vitrification. *Nature*, v. 313, p. 573-575, 1985.

Palavras-chave: vitrificação, embriões, camundongo, crioprotetor.

Keywords: vitrification, embryos, mouse, cryoprotector.



Geração de Metabólitos Reativos do Oxigênio (ROS) em diluentes para a criopreservação de sêmen

Oxygen reactive species (ROS) generation in extenders for semen cryopreservation

M.S. Maia^{1,*}, S.D. Bicudo², H.C. Azevedo³, C.C. Sicherle⁴, D.B. de Sousa⁴, L. Rodello⁴

¹EMBRAPA/EMPARN, ²DRRAV – FMVZ/ UNESP Botucatu, ³EMBRAPA- CPTC; ⁴Pós graduando, DRRRAV – FMVZ/ UNESP Botucatu.

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

Introdução

A adição de antioxidantes aos diluidores para congelamento do sêmen tem sido utilizada em várias espécies com o objetivo de minimizar ou reverter os efeitos danosos causados pelos metabólitos reativos do oxigênio (O_2^- , OH, H_2O_2) ao espermatozóide. No entanto, reações que geram radicais livres ocorrem no meio sozinho, independente da presença de células. Portanto, a geração de produtos oxidantes nos diluidores para criopreservação de sêmen deve ser avaliada para evitar os efeitos tóxicos desses compostos sobre o espermatozóide e ajudar a formular diluidores melhores, quanto às suas propriedades antioxidantes.

Material e Métodos

O objetivo desse estudo foi medir os níveis de lipoperoxidação, geração de superóxido (O_2^-) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em quatro diluentes a base de Tris-gema, aditivado ou não dos antioxidantes: Trolox-C, catalase ou a combinação dos dois (TRIS, TRO, CAT e TRO/CAT). A peroxidação dos lipídios foi determinada pelo método espectrofotométrico dos TBARS (substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico), descrito por Buege & Aust (1978), a mensuração da produção de O_2^- foi realizada pelo método da redução do NBT (nitro blue tetrazolium) descrito por Aruoma et al. (1989) e a geração de peróxido de hidrogênio foi medida pelo método colorimétrico do Phenol Red (PICK & KEISARI, 1980). Os dados foram submetidos a ANOVA com comparação de médias pelo teste de Duncan a $P < 0,05$.

Resultados e Discussão

As concentrações de TBARS geradas nos diluidores foram semelhantes ($P > 0,05$) entre si, sendo de $0,49 \pm 0,1$ nmol/mL no TRIS, $0,51 \pm 0,1$ nmol/mL no TRO, $0,70 \pm 0,1$ nmol/mL no CAT e $0,52 \pm 0,1$ nmol/mL no TRO/CAT. A concentração de O_2^- foi maior ($P < 0,01$) no diluidor TRO/CAT ($0,196 \pm 0,07$ nmol/mL) e no TRIS ($0,08 \pm 0,02$ nmol/mL) que nos diluidores TRO ($0,07 \pm 0,03$ nmol/mL) e CAT ($0,04 \pm 0,01$ nmol/mL). A concentração de H_2O_2 também, diferiu significativamente ($P < 0,05$) entre os diluidores e os valores detectados foram: $9,02 \pm 0,24$; $9,11 \pm 0,48$; $7,67 \pm 0,35$ e $8,15 \pm 0,33$ nmol de H_2O_2 /mL/30min, para TRIS, TRO, CAT e TRO/CAT, respectivamente. A geração de TBARS e O_2^- foi baixa em todos os diluidores, enquanto que a geração de H_2O_2 foi alta. A menor concentração de H_2O_2 no diluidor com catalase (CAT) demonstra a eficácia dessa enzima em remover o peróxido de hidrogênio gerado por reações químicas entre os componentes do diluidor. O diluente controle (TRIS) não foi completamente neutro quanto à remoção do H_2O_2 , O_2^- e TBARS, uma vez que conseguiu manter a geração de ROS em níveis semelhantes aos observados nos diluidores com antioxidantes.

Referências Bibliográficas

- Aruoma, O.I.; Halliwell, B.; Hoey, B.M.; Butler, J. The antioxidant action of n-acetylcysteine: its reaction with hydrogen peroxide, hydroxyl radical, superoxide and hypochlorous acid. **Free Radical Biology & Medicine**, v.6, p.593-597, 1989.
- Buege & Aust. Microsomal lipid peroxidation. **Methods in Enzymology**, v.52, p.302-310, 1978.
- Pick, E. & Keisari, Y. A simple colorimetric method for measurement of hydrogen peroxide produced by cells in culture. **Journal of Immunological Methods**, v.38, n. 1-2, p.161-170, 1980.

Palavras-chave: lipoperoxidação, superóxido, peróxido de hidrogênio, ROS, Trolox, catalase, diluidor.

Keywords: lipid peroxidation, superoxide, hydrogen peroxide, ROS, Trolox, catalase, extender.



Eficiência de duas doses de Cloprostenol na indução de luteólise em diferentes dias do ciclo estral em bovinos

Efficacy of two Cloprostenol dosis in causing luteolysis at different days of the bovine estrous cycle

A.C.S. Figueiredo^{1,2}, C.A.C. Fernandes^{1,2}, M.M. Gioso¹, E.R. Oliveira², B.F.L. Alves², E.Oba³

¹Prof. Unifenas, ²Biotran LTDA, ³FMVZ-Unesp-Botucatu
E-mail: cacf@biotran.com.br

Introdução

O efeito luteolítico de diferentes doses de análogos de prostaglandinas tem sido documentado, porém na maioria das vezes se baseia em resultados referentes à manifestação de estro posterior, o que é uma fonte adicional de variação, referente a capacidade de observação de estro em cada estudo ou situação. A variação da sensibilidade do corpo lúteo aos análogos da prostaglandina depende do dia do ciclo estral (Anderson et al., 2001). A utilização de animais em trabalhos de eficiência de luteólise sem a seleção e distribuição equitativa dos mesmos de acordo com o período do ciclo estral, entre os tratamentos, pode levar a resultados distorcidos (Fernandes et al., 2007). O objetivo deste estudo foi avaliar a real eficiência de luteólise de duas doses de cloprostenol sódico em diferentes dias do ciclo estral, pela dosagem de progesterona.

Material e Métodos

Foram realizadas 360 aplicações de um produto a base de cloprostenol (Ciosin) visando a luteólise em novilhas mestiças. Somente foram utilizados animais previamente observados em estro natural. Foram selecionados e classificados de acordo com o dia do ciclo no momento da aplicação. Para cada dia do ciclo estral (entre 06 e 17º dia) foram utilizados 30 animais divididos aleatoriamente em dois tratamentos, recebendo 0,265 (T1) ou 0,530mg (T2) de cloprostenol, via intramuscular. Os animais tiveram o sangue colhido imediatamente antes da aplicação do produto e 48 horas após. As dosagens hormonais de progesterona (P4) foram realizadas com de Kits comerciais Coat-A-Count® (DPC-Medlab). A luteólise foi considerada eficiente como quando a queda da progesterona foi superior a 75%. A eficiência de luteólise em cada um dos dias foi comparada pelo teste de χ^2 .

Resultados e Discussão

Comparando os tratamentos no conjunto dos diferentes dias do ciclo estral avaliados, não foram observadas diferenças entre as doses utilizadas. O tratamento T2 (0,530mg) foi mais eficiente nos animais que se apresentavam, no momento da aplicação, nos dias 6 a 8 do ciclo estral ($P < 0,05$). Nos demais dias (9 a 17), onde a sensibilidade do corpo lúteo é maior, não foram observadas diferenças na eficiência de luteólise entre as doses utilizadas. Os resultados corroboram a descrição da literatura (Fernandes et al., 2007) que indicam que o corpo lúteo é menos sensível aos análogos das prostaglandinas no início do ciclo estral. Conclui-se que o corpo lúteo apresenta diferença de sensibilidade aos análogos da prostaglandina, de acordo com o dia do ciclo estral em que estes produtos são aplicados. A dose menor de luteolíticos é menos eficiente no início do ciclo estral.

Referências Bibliográficas

- Anderson, L.E., Wu, Y., Tsai, S., Wiltbank, M.C.** Prostaglandin F receptor in the corpus luteum: recent information on the gene, messenger ribonucleic acid, and protein. *Biol Reprod*, v.64, p.1041-1047, 2001.
- Fernandes, C.A.C. Vasconcelos, T.D. Oliveira, E.R.** Eficiência de duas doses de doses de Cloprostenol Sódico para luteólise em bovinos. *Hora Vet*, v.2, n.156, p.13-17, 2007.

Palavras-chave: Bovino, cloprostenol, luteólise.

Keywrds: Bovine, cloprostenol, luteolysis.



Eficiência de duas doses de Cloprostenol (Ciosin[®]) no pós-parto de vacas de corte

Efficiency of two dosis of Cloprostenol (Ciosin[®]) in the post-partum of beef cows

C.A.C. Fernandes^{1,2}, T.D. Vasconcelos², J.H.M. Viana³, A.C.S. Figueiredo^{1,2}, E.R. Oliveira², B.F.L. Alves²

¹Prof. Unifenas, ²Biotran LTDA, ³Embrapa-Gado de Leite
E-mail: cacf@biotran.com.br

Introdução

O período que vai do parto ao reinício da atividade reprodutiva é dependente de dois processos fisiológicos: a duração da involução uterina e o tempo necessário para o reinício da atividade ovariana cíclica. Segundo Sheldon et al., (2000) existe grande correlação entre a involução uterina e a atividade ovariana pós-parto. O atraso na involução uterina pode retardar a presença de atividade funcional nos ovários. A partir dos trabalhos publicados por Fernandes et al. (2002) a utilização do cloprostenol sódico no pós-parto de vacas leiteiras se tornou uma realidade. Estes mostraram que além da aceleração da involução uterina, reduziu-se a incidência de infecções, o número de serviços por concepção e o período de serviços. Embora este efeito também ocorra em gado de corte (Fernandes et al., 2004) a indicação do protocolo de mais de uma aplicação neste tipo de exploração não é exequível, devido ao manejo da maioria dos rebanhos de corte no Brasil. Uma alternativa em gado de corte, seria a utilização de doses maiores numa única aplicação. Assim, os objetivos foram avaliar e comparar os efeitos de duas doses de cloprostenol sódico no pós-parto de vacas de corte.

Material e Métodos

Foram utilizadas 191 vacas de corte, num programa de estação de monta, manejadas exclusivamente á pasto, sem qualquer tipo de suplementação. Após o parto, os animais foram distribuídos aleatoriamente em 3 grupos e receberam entre o 2º e 5º dia pós-parto um dos seguintes tratamentos, via intramuscular, em dose única: T1 (controle) 2ml de salina, T2 (2ml Ciosin[®]) 0,530mg de cloprostenol e T3 (4ml Ciosin[®]) 1,060mg de cloprostenol. Os animais foram manejados em conjunto, na presença de rufiões. A observação de cios foi feita duas vezes ao dia. O intervalo parto-1ª IA foi comparado entre os grupos pelo teste de Tuckey.

Resultados e Discussão

O escore corporal médio ao parto dos animais não diferiu entre os grupos de tratamento. A aplicação de Cloprostenol sódico foi eficiente em reduzir o intervalo do parto a 1ª inseminação, independente da dose aplicada em relação ao grupo controle ($P < 0,05$). Não foram observadas diferenças entre as doses de cloprostenol ($P > 0,05$). Os Intervalos Parto a 1ª IA foram de $73,38 \pm 15,56^a$; $64,42 \pm 17,05^b$ e $65,34 \pm 18,31^b$ para Controle, T1 (0,530mg Cloprostenol) e T2 (1,060mg Cloprostenol), respectivamente. Conforme citado por Fernandes et al. (2002) os análogos da prostaglandina são eficientes em reduzir o intervalo do parto á atividade ovariana pós-parto, e com isto melhorar a eficiência reprodutiva dos planteis, também em gado de corte.

Conclusões

Conclui-se que as duas doses de cloprostenol utilizadas sódico são eficientes em antecipar o retorno a atividade reprodutiva pós parto em vacas de corte.

Referências Bibliográficas

- Fernandes, C.A.C., et al.** Efeito do cloprostenol sódico ... A Hora Veterinária, v.126, p.13-17, 2002.
Fernandes, C.A.C. et al. Melhoria da eficiência ... A Hora Veterinária, v.142, p.35-39, 2004.
Sheldon, I.M.; et al. The influence of ovarian activity... Theriogenology, v.54, n.3, p.409-419, 2000.

Palavras Chave: Bovino, cloprostenol, involução uterina.

Key Words: Bovine, cloprostenol, uterine involution.



Uso do Cloprostenol para tratamento de infecções uterinas em bovinos

Use of Cloprostenol for treatment of bovine uterine infections

E.R. Oliveira², T.D. Vasconcelos², B.F.L. Alves², C.A.C. Fernandes^{1,2}, M.M. Gioso¹, J.H.M. Viana³,
A.C.S. Figueiredo^{1,2}

¹Prof. Unifenas, ²Biotran LTDA, ³Embrapa-Gado de Leite - E-mail: cacf@biotran.com.br

Introdução

Descobertas recentes sobre os mecanismos de defesa uterina colocam os eicosanóides como as principais substâncias que modulam esta atividade. Com isto vislumbra-se uma excelente oportunidade para uma nova Tecnologia de tratamento das infecções uterinas, pois os análogos da PGF2 α como o cloprostenol tem atividade sobre a produção destas substâncias no útero. Além disto, provocariam diminuição na progesterona (P4) que predispõe o início das infecções uterinas. Segundo Lewis (2004) a P4 produz substâncias que inibem os mecanismos de defesa uterinos e bloqueiam parcialmente a produção de eicosanóides. Este autor ainda relata que a aplicação de análogos tem capacidade de estimular a produção de PGF2 α e outras substâncias relacionadas no útero, como o Leucotrieno B₄ (LTB₄) que ativa várias funções leucocitárias, principalmente no neutrófilo, a célula mais importante no mecanismo de defesa do útero. Os objetivos deste trabalho foram avaliar e comparar a eficiência de diferentes protocolos de aplicação de prostaglandina para tratamento de infecção uterina pós-puerperal em vacas leiteiras.

Material e Métodos

Foram utilizadas 105 vacas leiteiras de seis rebanhos, com mais de 30 dias pós-parto, apresentando infecção uterina pós-puerperal (útero totalmente involuído). O diagnóstico e classificação da infecção foram feitos por vaginoscopia. De acordo com o grau de infecção os animais foram distribuídos aleatoriamente em quatro grupos, e receberam via IM, os seguintes tratamentos: T1: 2ml de solução salina; T2: dose única de 0,530mg de Cloprostenol (2ml Ciosin[®]); T3: 2 doses 0,530mg de Cloprostenol com intervalo de 24 horas e T4: 2 doses 0,530mg de Cloprostenol com intervalo de 48 horas em. Os animais foram novamente avaliados por vaginoscopia 12 a 18 dias mais tarde. A eficiência entre os tratamentos foi comparada pelo teste de χ^2 .

Resultados e Discussão

O tratamento que mostrou melhor eficiência foi T3, utilizando duas doses de cloprostenol com intervalo de 24 horas ($P < 0,05$). Em relação ao grupo controle T1 (não tratado) e T2 (apenas uma dose), T4 também foi mais eficiente ($P < 0,05$). Segundo Lewis et al. (2004) podem agir de duas formas, reduzindo o efeito imunossupressor da P4, neste caso em animais ciclando, e também de forma direta, neste caso mesmo em animais sem corpo lúteo, ao estimular diretamente a imunidade uterina. Estes resultados demonstram que os análogos da prostaglandina podem ser utilizados no tratamento das infecções pós-puerperais e principalmente em gado de leite, pela ausência de resíduos, é uma excelente alternativa.

Tabela 1: Eficiência do tratamento infecção uterina pós-puerperal em vacas leiteiras utilizando Cloprostenol Sódico (Ciosin[®]) em diferentes protocolos.

Grupo (tratamento)	Total N	Cura	
		N	Efic.(%)
T1: Controle - 2ml Salina	15	4	26,7 ^a
T2: 1 dose (0,530mg)	30	12	40,0 ^a
T3: 2 doses (0,530mg) - 24h intervalo	30	24	80,0 ^b
T4: 2 doses (0,530mg) 48h intervalo	30	17	56,7 ^c

Médias seguidas por letras diferentes na coluna diferem a 5% de probabilidade

Conclusões

Duas doses de Cloprostenol (Ciosin[®]) é eficiente para tratamento de infecções uterina pós-puerperais em bovinos. O melhor protocolo é o de duas aplicações com 24 horas de intervalo.

Referências Bibliográficas

Lewis, G.S. Steroidal regulation of immune defenses. *Animal Reprod. Science.* v.82, p. 281-294, 2004.

Palavras Chave: Bovino, cloprostenol, infecção uterina

Key Words: Bovine, cloprostenol, uterine infection.



Perfis hormonais, diâmetros foliculares e taxas de prenhes após administração de Acetato de Fertirelina para sincronização da ovulação em vacas leiteiras

(*Hormonal profiles, follicular measurements and pregnant rates after administration of Fertirelin Acetate for synchronization of ovulation in lactating dairy cows*)

M.M. Gioso¹, C.A.C. Fernandes², M.A.P. Carvalho³, L. Leal⁴, E. Oba⁴, G.A. Andrade, F. Caldara¹

¹ Unifenas -MG, Brasil, ² Biotran Ltda -MG, Brasil, ³ Médico Veterinário, ⁴ FMVZ/UNESP, Botucatu-SP.
E-mail: mmgioso@yahoo.com.br

Introdução

Vários produtos à base de GnRH são efetivos em protocolos de Inseminação Artificial em Tempo Fixo. O Acetato de Fertirelina é um análogo deste hormônio cujas informações sobre sua ação na dinâmica folicular dos bovinos são poucas, principalmente nas condições brasileiras. Por esta razão, objetivou-se comparar a eficiência de duas doses de Acetato de Fertirelina para sincronização da emergência da onda de desenvolvimento folicular e ovulação, em vacas leiteiras submetidas ao protocolo “Ovsynch”.

Materiais e Métodos

Utilizaram-se 77 vacas, acima dos 60 dias pós-parto e escore corporal entre 2,5-4,0. Os animais apresentavam população folicular e corpo lúteo (CL) característico ou ausência de CL, porém pelo menos um folículo com diâmetro ≥ 10 mm. Estas foram distribuídas aleatoriamente em quatro tratamentos: (1)- 100 μ g de Fertirelina (Fertigen[®], Schering Plough, Brasil) no dia 0, 530 μ g de PGF2 α (Ciosin[®], Schering Plough, Brasil) no dia 8 e 100 μ g de Fertirelina no dia 10; (2)- 100 μ g de Fertirelina no dia 0, 530 μ g de PGF2 α no dia 8 e 50 μ g de Fertirelina no dia 10; (3)- 50 μ g de Fertirelina no dia 0, 530 μ g de PGF2 α no dia 8 e 100 μ g de Fertirelina no dia 10 e (4)- 50 μ g de Fertirelina no dia 0, 530 μ g de PGF2 α no dia 8 e 50 μ g de Fertirelina no dia 10. As avaliações ultra-sonográficas e colheitas de sangue para análises de progesterona (P4) e estradiol (E2) séricos foram realizadas nos dias -1; 0; 2; 8; 10 e 12. As dosagens da P4 e E2 foram executadas por RIA utilizando-se kits comerciais (DPC Medlab[®]). Todos os animais receberam uma IA entre 16-19 h após última aplicação da Fertirelina. Os diagnósticos de gestação, realizados por palpação transretal, aos 60 dias após IA. Para as variáveis taxas de indução de uma nova onda folicular, ovulação e gestação, utilizou-se o teste χ^2 . Para os efeitos dos tratamentos nos diferentes dias de análise sobre as concentrações de P4, E2 e diâmetros foliculares, análise de variância (ANOVA) ou teste Kruskal-Wallis.

Resultados e Discussão

As taxas de sincronização da onda e ovulação foram de 70,0% e 66,2%, respectivamente não apresentando diferença entre os tratamentos ($P > 0,05$), resultados similares aos de Yamada et al. (2002). Os valores de P4 nos dias 0 (1,29 \pm 0,19 ng/mL), 2 (1,39 \pm 0,20 ng/mL), 8 (1,29 \pm 0,15 ng/mL), 10 (0,12 \pm 0,02 ng/mL) e 12 (0,14 \pm 0,03 ng/mL) também foram semelhantes ($P > 0,05$), bem como os valores de E2 nos dias 0 (3,21 \pm 0,27pg/mL), 2 (2,98 \pm 0,23pg/mL), 8 (3,38 \pm 0,17pg/mL), 10 (4,05 \pm 0,26pg/mL) e 12 (2,79 \pm 0,16pg/mL; $P > 0,05$). Porém, no dia 10, as concentrações de E2 foram superiores aos outros dias de análise ($P < 0,05$) o que demonstra o crescimento de folículos dominantes alterando o perfil de curva de produção hormonal. Sobre os diâmetros dos folículos pré-ovulatorios no Dia 10, não houve diferenças entre os tratamentos (1,64 \pm 0,09mm; 1,70 \pm 0,12mm; 1,63 \pm 0,11mm; 1,82 \pm 0,10 mm, respectivamente), estes desenvolvimentos foliculares mostraram-se compatíveis com o fisiológico, segundo Ginther et al. (2001). As taxas de prenhes também foram similares ($P > 0,05$) com média de 28,37%. Em conclusão, o Acetato de Fertirelina foi eficiente em provocar a emergência da onda folicular e induzir a ovulação, seja nas doses de 50 ou 100 μ g.

Referências Bibliográficas

- Ginther, O.J., Beg, M.A., Bergfelt, D.R., Donadeu, F.X., Kot, K. Follicle selection in monovular species. *Biol Reprod.*, v.65, p. 638-647, 2001.
Yamada K, Nakao T, Nakada K, Matsuda G. Influence of GnRH analogue (fertirelin acetate) doses on synchronization of ovulation and fixed-time artificial insemination in lactating dairy cow. *Anim Reprod Sci*, v.74, p.27-34, 2002.

Palavras-chave: Acetato de Fertirelina, “Ovsynch”, vacas leiteiras, sincronização, ovulação.

Key words: Fertirelin Acetate; “Ovsynch”; dairy cattle; synchronization; ovulation.



Inseminação intracornual profunda em bovinos com dose reduzida de sêmen

(*Deep intracornual insemination in cattle with reduced dose of semen*)

C. Meirelles¹, L.E. Kozicki², R.R.Weiss³, M.S. Segui⁴

¹Curso de Pós-graduação em Ciências veterinárias – Universidade Federal do Paraná ciromeirelles@bol.com.br,

kozicki@ufpr.br, rrweiss@bol.com.br

²Pontificia Universidade Católica do Paraná, Curitiba. msegui@uol.com.br

Introdução

A inseminação artificial (IA) é uma técnica amplamente utilizada para rapidamente maximizar a produção bovina dentre outras espécies. No entanto, avanços biotecnológicos devem ser empregados, com vistas à melhoria das técnicas atualmente utilizadas. Um exemplo ímpar disso é a utilização de sêmen sexado na IA de bovinos, que segundo Seidel *et al.* (1999), apresenta tendência de taxas menores de fertilidade, exigindo consequentemente, maior eficiência na técnica da IA propriamente dita. Vários estudos foram conduzidos para se determinar o melhor local de deposição do sêmen (López, 2000). Contudo não há consenso unânime entre os pesquisadores relativo à Inseminação artificial intracornual profunda (IAIP). Assim objetivou-se neste estudo avaliar uma técnica de IAIP comparando-se com a técnica de inseminação transcervical no corpo uterino com dose reduzida de sêmen.

Material e Métodos

No experimento foram utilizadas 89 vacas pluríparas. A verificação do estro foi realizada por observação visual e pelo uso de rufiões. Os animais foram inseminados 12 horas após a observação do estro. Tanto para a IAIP como para a IA padrão, palhetas de sêmen comercial, oriundas de dois diferentes touros, eram divididas literalmente ao meio e aplicada a meia-dose. A concentração média das meias-doses de sêmen, foi de 2,8 milhões de espermatozoides viáveis para um touro da raça Red Angus e de 4,0 milhões para um touro da raça Nelore. Para a execução da IAIP utilizou-se um catéter longo medindo 65 cm, especialmente desenvolvido para esse fim. Na seqüência introduziu-se o sêmen na porção mais profunda do corno ipsilateral ao ovário que continha o foliculo ovulatório. A identificação do foliculo ovulatório foi feita por palpação dos ovários antes da IA. A IA no corpo do útero seguiu a forma padrão. A análise estatística foi realizada de acordo com o teste do Qui-quadrado ($p < 0,05$).

Resultados e Discussão

Os resultados obtidos: 31 vacas gestantes de 46 inseminadas pelo método IAIP (67,4%) contra 21 vacas gestantes de 43 inseminadas pelo método da IA tradicional (48,8%). Observa-se que ao se utilizar a IAIP o percentual de prenhez foi maior porém não significativo ($p > 0,1$). De acordo com Verberckmoes *et al.* (2004) o sêmen depositado próximo à junção útero-tubárica, terá reduzidas as perdas de espermatozoides seja pelo fluxo retrógrado no muco cervical, seja em função da fagocitose, além de proporcionar acréscimo na sobrevivência dos espermatozoides. É possível que o número reduzido de animais testados tenha sido insuficiente, acarretando dessa maneira resultados de não-significância estatística entre as técnicas utilizadas.

Conclusão

A deposição de dose reduzida de sêmen próximo à junção útero-tubárica, não apresentou significativas vantagens sobre a taxa de prenhez em comparação à técnica tradicional de inseminação.

Referências bibliográficas

- Verberckmoes S, Ann VS, Ingrid D P, Dewulf J, Vervaeck C, Kruijff A. Assessment of a new utero-tubal junction insemination device in dairy cattle. *Theriogenology*, v.61, p.103–115, 2004.
- López GF. Site of semen deposition in cattle: a review. *Theriogenology*, v.53, p.1407-1414, 2000.
- Seidel GE Jr, Schenk JL, Herickhoff LA. Insemination of heifers with sexed sperm. *Theriogenology*, v.52, p.1407-1420, 1999

Palavras chave: Inseminação intracornual; dose reduzida sêmen, bovino.

Keywords: Intracornual insemination; low dose semen, bovine.



Isolamento e caracterização de células-tronco embrionárias bovinas

Isolation and characterization of bovine embryonic stem-like cells

P.R.O. Soares^a, R.P. Santos^a, E.R.L. Freitas^a, A.A. Silva^a, L.V. Pereira^b, L.A. Guillo^a

^aInstituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás

^bDepartamento de Genética e Biologia Evolutiva, Universidade de São Paulo

E-mail: guillo@icb.ufg.br

Introdução

O isolamento de células-tronco embrionárias da massa celular interna de blastocistos de camundongos (Evans e Kaufman, 1981) representou um importante passo para a obtenção de animais transgênicos e conseqüentemente para um melhor entendimento de doenças humanas (Wheeler, 2003). Nos anos seguintes células-tronco embrionárias foram também isoladas de animais domésticos, inclusive de bovinos (Keefer et al., 2006). Neste trabalho, apresentamos o isolamento e a caracterização de uma nova linhagem de células-tronco embrionárias bovinas.

Material e Métodos

Os embriões bovinos congelados em vários estágios de desenvolvimento embrionário foram adquiridos da empresa EMBRIOTEC Reprodução Animal Ltda. Descongelamos 04 embriões provenientes de receptoras da raça mestiça, na fase de blastocisto grau 2 e o transferimos para uma solução contendo Tyrode's para remoção da zona pelúcida. A seguir, os embriões foram transferidos para uma placa de cultura (contendo uma camada de fibroblastos embrionários murinos mitoticamente inativados) e incubados com meio DMEM suplementado com 1000 U/ml de fator inibitório de leucemia humano (LIF, Esgro, USA), 20 % (v/v) soro fetal bovino (Hyclone, Logan, USA), 1% de aminoácidos não essenciais (Invitrogen USA), 2 mM de piruvato de sódio, 0,1 mM de 2-mercaptoetanol (Invitrogen, USA), 50 UI/ml de penicilina e 50 µg/ml de estreptomicina (Invitrogen, USA). Os embriões permaneceram nesse meio durante 10 dias, com troca diária do meio, quando foi realizada sua desagregação com uma solução de tripsina/EDTA 0,25%. As células foram caracterizadas quanto à atividade de fosfatase alcalina e por imunofluorescência empregando o anticorpo monoclonal anti-OCT-4 (Chemicon International Inc) e o anticorpo secundário Alexa Fluor 488 anti-mouse IgG (Molecular Probes). A análise dos transcritos de OCT-4 foi verificada por RT-PCR e o produto analisado em gel de agarose 2%.

Resultados e Discussão

Dos quatro embriões manipulados, um deu origem a uma linhagem de células com morfologia semelhante a de células-tronco embrionárias murinas, e com alta atividade de fosfatase alcalina. Também verificamos a expressão do marcador de estado indiferenciado OCT-4, observado por microscopia de fluorescência e por RT-PCR. Sua pluripotência será testada *in vivo* através de ensaio de formação de teratomas em camundongos SCID. Essas células serão úteis para estudos sobre os mecanismos que controlam a proliferação e diferenciação de células-tronco embrionárias humanas, pois vêm sendo consideradas como um modelo mais adequado do que de outras espécies animais para estudos que visem a futura aplicação de células-tronco embrionárias em terapia celular.

Referências bibliográficas

- Evans M, Kaufman M. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. *Nature*, v. 292, p.154-156, 1981.
- Keefer CL, Pant D, Blomberg L, Talbot NC. Challenges and prospects for the establishment of embryonic stem cell lines of domesticated ungulates. *Anim Reprod Sci*, doi:10.1016/j.anireprosci 2006.
- Wheeler MB, Walter EM, Clark SG. Transgenic animals in biomedicine and agriculture: outlook for the future. *Anim Reprod Sci*, v. 79, p. 265-289, 2003.

Palavras-chave: blastocisto bovino, células-tronco embrionárias, isolamento, caracterização.

Keywords: bovine blastocyst, ES-like cells, isolation, characterization.

Fontes de Financiamento: MS/CNPq nº 552593/2005-2.



Efeito da concentração do sêmen e horário de inseminação artificial a tempo fixo sobre a taxa de prenhez em fêmeas bovinas de corte

Effect of semen concentration and moment of fixed timed insemination on pregnancy results in beef cattle females

D.C. Rocha, A. Beskow, D.M. Azeredo, M.I.M. Jobim, R.C. Mattos, R.M. Gregory.

Laboratório de Reprodução Animal, Faculdade de Veterinária, UFRGS.
E-mail: fazrocha@yahoo.com.br

Introdução

O aperfeiçoamento da técnica de IATF é de fundamental importância, uma vez que é uma das alternativas para aumentar o número de ventres inseminados, promovendo o melhoramento genético. O objetivo deste experimento foi avaliar o efeito da concentração da dose inseminante e o horário da inseminação artificial sobre a taxa de prenhez em fêmeas bovinas de corte submetidas a um protocolo de inseminação artificial a tempo fixo.

Material e Métodos

Foram utilizadas 516 fêmeas bovinas. Os animais, das raças Aberdeen Angus (*Bos taurus*) e Braford (*Bos taurus* 5/8 x *Bos indicus* 3/8) eram constituídos de 270 novilhas e 246 vacas multíparas. Os animais foram submetidos a um protocolo de sincronização de estros e ovulação através de implante vaginal contendo 250 mg de Acetato de Medroxi-progesterona (MAP) associado a duas aplicações de Benzoato de Estradiol (BE), sendo a primeira de 2 mg IM por ocasião da inserção do implante e a segunda de 1 mg IM vinte e quatro horas após a retirada do mesmo. Quando da remoção do implante foram administrados 500 mcg de Cloprostenol Sódico. As inseminações foram efetuadas às 48, 54 ou 60 horas após a retirada do implante, utilizando para cada momento duas concentrações distintas de espermatozoides viáveis, 10 e 20 milhões por dose.

Resultados e Discussão

Verificou-se que as fêmeas (em especial as novilhas) inseminadas às 48 horas com 20 milhões de spz/dose apresentaram índice de prenhez significativamente maior do que as inseminadas no mesmo momento com 10 milhões spz/dose. As vacas inseminadas com 10 milhões de spz às 60h apresentaram melhor taxa de prenhez ($p < 0,05$) quando comparadas às inseminadas com 10 milhões de spz às 48h. O percentual de prenhez encontrado nas vacas foi significativamente maior que o das novilhas, assim como o verificado nas fêmeas Aberdeen Angus, comparadas às Braford. A taxa de prenhez de novilhas inseminadas a tempo fixo pode ser incrementada utilizando-se maior número de espermatozoides viáveis por dose inseminante.

Referências bibliográficas

- Baruselli, P. S. et al.** Introdução da IATF no manejo reprodutivo de rebanhos bovinos de corte no Brasil. In: VI Simposio Internacional de Reproducción Animal, Córdoba, 24 a 26 de junho de 2005, *Anais*, p. 151-176, 2005.
- Bó, G.A.; Cutaia, L.; Veneranda, G.** Aplicación de programas de inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) en rodeos de cría manejados en condiciones pastoriles. In: XXXI Jornadas Uruguayas de Buiatría, Paysandú, Uruguay, 2003. *Anais*, p. 31-40, 2003.

Palavras-chave: Fêmeas bovinas de corte, inseminação artificial a tempo fixo, horário da inseminação, concentração espermática.

Keywords: beef cattle females, fixed-time artificial insemination, fixed timed insemination and semen concentration.



Avaliação dos efeitos do flunixin meglumine sobre a taxa de gestação de vacas*

Evaluation of flunixin meglumine effects in cow pregnancy indices

E. Lucacin¹, A. Pinto-Neto², M.F. Mota³, A. Acco⁴, J.F. Fonseca⁵, J. Alberton⁶, E.B. Araújo⁶, M.J. Sbeghen⁶, H.A. Gregianini⁶, P. Bonini-Júnior⁷, G.G. Fonseca⁸, A.V. da Silva²

*Apoio Financeiro: DEGEPP-UNIPAR (Protocolo: 612/05).

¹Mestrando Ciência Animal. MECA-UNIPAR; ²Prof. MECA-UNIPAR; ³Prof. Med. Vet. - UNIPAR; ⁴Profª. UFPR; ⁵Pesq.

EMBRAPA; ⁶Alunos PIBIC-UNIPAR; ⁷Aluno PEBIC-Fundação Araucária;

⁸Aluno PEBIC-CNPq. E-mail: adalgiza@unipar.br

Introdução

No início do período gestacional, a interação entre mãe e concepto depende de mecanismos bioquímicos e endócrinos que determinam a continuidade ou não da gestação. Este período crítico é também conhecido como Reconhecimento Materno da Gestação (RMG), no qual a presença do embrião no útero sinaliza à mãe a necessidade em se manter a gestação e, em resposta, os níveis de progesterona são mantidos altos e adequados para a efetivação da gestação (Thatcher *et al.*, 1997). No entanto, falhas nesse processo podem promover destruição do corpo lúteo, através da liberação de PGF_{2α}, diminuição dos níveis de progesterona e interrupção da gestação, com retorno do animal ao estro (Thatcher *et al.*, 2001). Estratégias para inibir especificamente as enzimas que participam da complexa síntese de PGF_{2α}, como através do uso de antiinflamatórios não esteroidas (PUGH *et al.*, 2004), têm sido alvos de pesquisa de vários autores (Binelli *et al.*, 2005). Baseando-se nesses eventos, pretendeu-se com esse estudo avaliar os efeitos do antiinflamatório flunixin meglumine (FM) sobre a taxa de gestação de vacas submetidas a um protocolo de inseminação artificial em tempo fixo (IATF).

Material e Métodos

Cinquenta e oito bovinos de diferentes raças, mantidos sob pastagem de *Brachiaria sp* e água *ad libitum*, foram submetidos a um protocolo de IATF, e divididos homogêneo em dois grupos experimentais: grupo controle (30 animais) e grupo experimental (28 animais). Os animais do grupo experimental foram submetidos à administração intramuscular de 1,1mg/kg de FM do 11º ao 16º dia do ciclo (IATF = dia zero), enquanto que os animais do grupo controle receberam solução fisiológica. Trinta dias após a IATF, todos os animais foram submetidos ao diagnóstico de gestação (DG) precoce, auxiliado pelo ultra-som, sendo consideradas gestantes as vacas em que se visualizou imagem anecóica da vesícula embrionária, e os batimentos cardíacos. Os animais não gestantes foram submetidos à aplicação de PGF_{2α}, observação de estro, inseminação artificial, retorno aos grupos experimentais de origem e DG, a fim de se repetir o experimento durante o segundo ciclo reprodutivo. Os resultados obtidos foram analisados pelo programa estatístico InStat, e comparados pelo Qui-quadrado, em 5% de significância.

Resultados e Discussão

Os resultados obtidos mostraram que não houve diferença na taxa de gestação, entre os grupos experimentais (p<0,05), sendo 37,84% (24/37) e 38,24% (21/34) para os animais do grupo controle e experimental, respectivamente. Ao se considerar como animais experimentais somente os da raça Nelore, observou-se que animais do grupo experimental apresentaram maior taxa de gestação (61,11% - 11/18) àquela observada nos animais do grupo controle (47,37% - 09/19), porém sem diferença estatística (p>0,05). PUGH *et al.* (2004) relataram que a administração de FM no momento da transferência de embriões (TE) bovinos a receptoras preveniu a luteólise prematura, talvez decorrente da manipulação do procedimento de TE. Embora os autores citados não tenham utilizado o FM durante o período crítico, é possível que essa droga não tenha influenciado uma luteólise prematura, subsidiada pela semelhante taxa de gestação apresentada pelos animais experimentais.

Referências bibliográficas

- Binelli *et al.* *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.16, p.1-6, 2005.
Pugh *et al.* IN: Int. Cong. An. Rep., 15th, 2004. Porto Seguro. *Abstracst...* p.399, 2004.
Thatcher *et al.* *Theriogenology*, v.47, p.131-140, 1997.
Thatcher *et al.* *Theriogenology*, v.56, p.1435-1450, 2001.

Palavras-chave: bovino, gestação, flunixin meglumine.

Keywords: bovine, pregnancy, flunixin meglumine.



Comparação entre métodos de avaliação da morfologia espermática do sêmen bovino congelado

Comparison between methods to assay sperm morphology of bovine frozen semen

P.R. Carrijo¹, L. Zaleski⁵, P.A. Leite¹, T.S. Passos², I.R. Orro², E.V. Costa-e-Silva³, C.E.S.N. Zúccari⁴

¹PIBIC; ²Mestranda em Ciência Animal; ³Depto. Méd.Vet.; ⁴Depto. Zoot.; ⁵Técnico Lab. Reprodução Animal - FAMEZ/Universidade Federal Mato Grosso do Sul/UFMS
E-mail: zuccari@nin.ufms.br

Introdução

A avaliação da morfologia espermática dá informações sobre a função testicular/epididimária e pela correlação existente entre tipo e incidência de anormalidade com a fertilidade *in vivo*, permite eliminar touros com baixo potencial fecundante (Söderquist et al., 1991). Métodos computadorizados estão disponíveis, mas na rotina é usada a análise subjetiva sob microscopia, sendo o contraste de fase o mais utilizado. No entanto, algumas colorações fornecem boa resolução para a detecção dos defeitos espermáticos. O objetivo do presente trabalho foi comparar os métodos do contraste de fase e a coloração com rosa bengala para a avaliação morfológica do sêmen bovino congelado.

Material e Métodos

Amostras de sêmen congelado de 20 touros da raça Nelore foram preservadas em solução de formol salina tamponada, previamente aquecida a 37°C. Na forma de preparações úmidas e sob imersão (aumento de 1000x), as lâminas foram avaliadas pelos métodos do contraste de fase e pela coloração com solução de rosa bengala a 5% sob microscopia de campo claro, por um técnico com ampla experiência, em experimento do tipo cego. Foram contadas 100 células / lâmina (Salisbury e Mercier, 1945) e os defeitos classificados como proposto por Bloom (1973) citado por Barth e Oko (1989). A comparação entre médias foi feita pelo teste t de Student em nível de 5% de significância.

Resultados e Discussão

Os percentuais médios (\pm erro padrão da média) de defeitos maiores, menores e totais, computando-se ambas as técnicas, foram iguais a $11,60 \pm 0,84$; $2,63 \pm 0,34$ e $14,18 \pm 0,84$, respectivamente. Sob microscopia de contraste de fase foram registrados $11,85 \pm 1,17\%$ de defeitos maiores, $2,65 \pm 0,60\%$ de defeitos menores e $14,50 \pm 1,13\%$ de defeitos totais. Na avaliação pelo corante rosa bengala os percentuais médios para defeitos maiores, menores e totais foram de $11,25 \pm 1,24$; $2,60 \pm 0,42$ e $13,85 \pm 1,26$, respectivamente. Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os métodos utilizados na avaliação das diferentes anormalidades morfológicas. Autores recomendam vários corantes para a avaliação morfológica do sêmen (Barth e Oko, 1989; Papa et al., 1990), no entanto parece não haver relato sobre o emprego isolado do rosa bengala para esse fim. De acordo com os resultados obtidos conclui-se que os métodos do contraste de fase e a coloração com rosa bengala são eficazes na avaliação morfológica do sêmen congelado de touros.

Referências bibliográficas

- Barth AD, Oko RJ. *Abnormal morphology of bovine spermatozoa*. Iowa State University Press: Ames, 1989 285p.
Papa FO, Alvarenga MA, Bicudo SD et al. Substituição do amarelo metacromo pelo rosa bengala no método de coloração para a avaliação da morfologia espermática de sêmen descongelado. A&U - Arquitetura e Urbanismo, v. 42, n. 5, p. 445-446, 1990.
Söderquist L, Janson L, Larsson K et al. Sperm morphology and fertility in AI bulls. J. Vet. Med., v.38, p.534-43, 1991.
Salisbury GW, Mercier E. The reliability of estimates of the proportion of morphologically abnormal spermatozoa in bull semen. J. Anim. Sci., v. 4, p.174-8, 1945.

Palavras-chave: morfologia espermática, sêmen, touro.

Keywords: bull, semen, sperm morphology .

Financiamento: CNPq.



Inseminação artificial em tempo fixo (Ovsynch) em vacas Red Sindi

Fixed-time artificial insemination (Ovsynch) in Red Sindi cows

J.D.E.Creusen¹, B.P. Carvalho¹, G.F. Almeida¹, M.R.B. Mello¹

¹Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – Seropédica-RJ
E-mail: jeanine_creusen@hotmail.com

Introdução

A inseminação artificial é uma biotécnica reprodutiva amplamente difundida no mundo, porém no Brasil ainda em expansão devido às características da pecuária nacional, predominantemente extensiva, o que dificulta a observação de cio e conseqüentemente reduz a eficiência da técnica. Com a inseminação artificial em tempo fixo é possível contornar essa limitação com a administração de análogos de hormônios reprodutivos exógenos, com o intuito de sincronizar a onda folicular e induzir a ovulação. Com isso há uma redução na mão-de-obra e concentração das atividades, facilitando o manejo (GIOSO, 2005). Informações sobre a eficiência de protocolos que permitam realizar a inseminação artificial em tempo fixo na raça Red Sindi são escassas. Portanto, o objetivo deste trabalho foi observar a eficiência do protocolo Ovsynch em vacas da raça Red Sindi.

Material e Métodos

O experimento foi realizado no Instituto de Zootecnia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, em dezembro de 2006. Foram utilizadas 19 vacas Red Sindi com idade entre 3 e 12 anos, pertencentes a um mesmo lote, criadas a pasto e com escore corporal entre 3,0 e 4,5 (escala 1-5). Os animais foram submetidos a exame ginecológico prévio sendo que, dos 19 animais utilizados no experimento, 17 apresentavam-se cíclicos e 2 em anestro. O protocolo testado foi o Ovsynch, com a administração no primeiro dia (D-0) de 1 ml (50 µg) de Acetato de fertirelina (Fertigen[®]), no dia 7 (D-7) foi administrado 5 ml (25 mg) de PGF2α (Lutalyse[®]), no dia 9 (D-9) foi administrado 1 ml (50 µg) de Acetato de fertirelina (Fertigen[®]) e inseminação após 16 horas. O diagnóstico de gestação foi realizado por palpação retal, 60 dias após a IA.

Resultados e Discussão

Das 19 vacas inseminadas, 5 apresentaram diagnóstico de gestação positivo, atingindo assim uma taxa de concepção de 26,31%. Esta taxa é inferior à encontrada em outros trabalhos utilizando o mesmo protocolo. ALVAREZ *et al.* (2003), avaliando a eficácia do tratamento Ovsynch em vacas *Bos Taurus* e *Bos Indicus*, encontraram taxas de concepção que variaram de 37 a 44%. A baixa taxa de concepção do presente trabalho pode ser explicada pelo reduzido número de animais utilizados no experimento, por variações ambientais, pela variabilidade individual dos animais ou pela presença de animais em anestro dentro do grupo. O fato de não haver trabalhos na literatura utilizando protocolos de Ovsynch na raça Red Sindi dificulta uma análise mais aprofundada por não termos um referencial. Os dados deste experimento são preliminares sendo que o protocolo empregado neste trabalho está sendo repetido com um número maior de animais e com algumas variações buscando elevar a taxa de concepção e entender melhor as particularidades da raça Red Sindi quando submetida a protocolos de sincronização da ovulação.

Referências bibliográficas

- Gioso, M.M.; Fernandes, C.A.C.; Oba, E.; Vasconcelos, T.D.; Oliveira, E.R. Eficiência de doses reduzidas de Acetato de Fertirelina em programas de IATF (Ovsynch) em vacas leiteiras. In: Anais do XVI Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, Goiânia, Goiás, 2005.
- Alvarez, R.H.; Martinez, A.C.; Carvalho, J.B.P.; Arcaro, J.R.P.; Pires, R.M.L.; Oliveira, C.A. Eficácia do tratamento Ovsynch associado à inseminação artificial pré fixada em rebanhos *Bos tauros* e *Bos indicus*. Pesquisa Agropecuária Brasileira. v. 38, n.2, 2003.

Palavras-chave: Inseminação artificial em tempo fixo, Ovsynch, Red Sindi.

Keywords: Fixed-time artificial insemination, Ovsynch, Red Sindi.



Novas observações sobre o teste de termorresistência em sêmen de tourinhos Tabapuã aos dois anos de idade, com alta recuperação pós-criopreservação

New observations about thermoresistance in semen of two years old Tabapuã bulls with high recover rates after freezing

J.A.M. Martins¹, L.L. Emerick¹, J.C. Dias¹, F.A. Souza¹, M.A. Silva², G.S.S. Correa¹, L.S.A. Camargo²,
V.R. Vale Filho², V.J. Andrade², D.S. Graça², G.L. Emerick¹, M.G. Cangussú¹

¹Aluno de pós-graduação EV-UFMG. e-mail: vejoan@terra.com.br

²Professor da EV-UFMG, Pesquisador EMBRAPA - Gado de Leite

Introdução

O período de sobrevivência espermática pós-criopreservação do sêmen bovino depende da qualidade físico-morfológica do ejaculado, do diluidor e dos processamentos técnicos na congelamento/descongelamento do mesmo, sendo que, quando mal conduzidos, podem levar a perdas estruturais nos gametas, principalmente relacionadas às suas membranas (Ferreira, 2001). Com a maior difusão dos processos de melhoramento genético pelo uso da inseminação artificial, transferência de embriões e fertilização “in vitro”, no Brasil, atualmente tem surgido recomendações para o uso de testes funcionais envolvendo resistência metabólica espermática, pela exposição de amostras de sêmen ao calor contínuo a 38°C/4 h, semelhante à condição em que estes estariam no trato genital da fêmea (Arruda, 1988). O objetivo deste trabalho foi de realizar o teste de termorresistência em sêmen de tourinhos Tabapuã aos dois anos de idade, criados a pasto, com alta recuperação pós-criopreservação

Materiais e Métodos

O sêmen de doze tourinhos Tabapuã selecionados pela CAP foi criopreservado utilizando-se diluidor Nagase, e envasado em palhetas de 0,5 ml com concentração de 20×10^6 (CBRA, 1998). Após o descongelamento (38°C/30 seg) o sêmen foi mantido em tubos de ensaio em banho-maria a 38°C/4h. Aliquotas foram colhidas para avaliações da motilidade espermática de 15 em 15 minutos até se atingir 4 horas (Arruda, 1988). A comparação dos resultados foi realizada pelo teste de Fisher, segundo Sampaio (2002).

Resultados e Discussão

Os resultados do TTR (Tab 1) mostram que os espermatozoides mantiveram-se com a mesma motilidade pós-descongelamento (Mot-pós) de 0 até 60 min de incubação ($P > 0,05$). A partir de 90 min começaram a diminuir porém mantendo-a até 240 min de incubação, mas sendo diferente do primeiro período (0-60 min) ($P < 0,05$). Arruda (1988) encontrou que o TTR a partir de 120 min de incubação foi igual ao de 240 min. Essa diferença pode estar relacionada com a alta pressão de seleção para fertilidade dos tourinhos utilizados.

Tabela 1. Teste de termorresistência (TTR/38°C/4h) em sêmen criopreservado de tourinhos Tabapuã, selecionados pela CAP, aos dois anos de idade, criados a pasto

Tempo (min)	Mot-pós (%)	Tempo (min)	Mot-pós (%)	Tempo (min)	Mot-pós (%)	Tempo (min)	Mot-pós (%)
0	38,1 ^a	60	30,6 ^{ab}	135	20,3 ^b	195	15,3 ^b
15	36,2 ^a	90	26,8 ^b	150	18,7 ^b	210	14,9 ^b
30	33,7 ^a	105	22,0 ^b	165	17,8 ^b	225	14,4 ^b
45	32,5 ^a	120	19,5 ^b	180	17,1 ^b	240	13,3 ^b

Mot Pós: motilidade progressiva retilínea pós-criopreservação. Letras diferentes representam nível de significância $P < 0,05$. Como conclusão, recomenda-se proceder a técnica do TTR até 90 min, porque a resposta será a mesma até 240 min de incubação ($P > 0,05$).

Referências Bibliográficas

- Arruda, R. P. *Avaliação do sêmen congelado de bovinos. Prova lenta e rápida de termorresistência: efeitos sobre a fertilidade*. 1988. 41f. Dissertação (Mestre em Reprodução Animal) – USP, São Paulo.
CBRA. *Procedimentos para exame andrológico e avaliação do sêmen animal*. BH: CBRA, 1998, 49 f.
Sampaio, I.B.M. *Estatística aplicada à experimentação animal*. Belo Horizonte:FEP-MVZ, 2002.

Palavras-chave: avaliação espermática, CAP, criopreservação, touros Tabapuã, TTR.

Keywords: sperm evaluation, BSE-Z, cryopreservation, Tabapuã bulls, TRT.



Sêmen criopreservado de tourinhos Tabapuã criados a pasto selecionados pelo CAP aos dois anos de idade e sua relação com defeitos espermáticos após descongelamento e testes de termorresistência

Frozen semen of Tabapuã young bulls raised on pasture conditions and selected by BSE-Z at two years old and its relation to sperm defects after thawing and thermoresistance test

T.G. Leite³, L.L. Emerick¹, J.A.M. Martins¹, P.E.M. Gonçalves³, L.S.A. Camargo², I.M. Folhadella¹, A.S. Felipe-Silva³, V.J. Andrade², V.R., Vale Filho², M.A. Silva², J.C. Dias¹, P. Machado⁴

¹ Mestre em Medicina Veterinária - EV-UFMG, bolsista do CNPq; e-mail: vejoan@terra.com.br

² Professor da EV-UFMG, Pesquisador EMBRAPA - Gado de Leite

³ Aluno de pós-graduação EV-UFMG; ⁴ Méd. Vet Autônomo

Introdução

A redução da fertilidade em sêmen bovino pós-criopreservação pode ser devido não só à diminuição acentuada da motilidade (Mot Pós) e vigor pós-descongelamento, mas também ao nível de perda da integridade do acrossoma, ou ao aumento de caudas dobradas, devido a falhas no processo de resfriamento (fase de equilíbrio), congelamento ou descongelamento (choque térmico), ou pela modificação na fluidez das membranas (Rasul et al., 2001). O objetivo deste estudo foi de verificar o percentual de defeitos espermáticos imediatamente pós-descongelamento do sêmen de tourinhos Tabapuã criados a pasto e selecionados pelo CAP aos dois anos de idade e pós-testes de termorresistência rápido (TTRr) e lento (TTRl) comparando-os entre si.

Material e Métodos

O sêmen de 12 tourinhos Tabapuã, com dois anos de idade, selecionados pelo CAP >60 pontos (80,8 ± 13,0) (Vale Filho, 1989), foi criopreservado utilizando-se o diluidor Nagase, e envasado em palhetas de 0,5 ml, segundo os padrões do CBRA (1998). Após o descongelamento (38°C/30"), o sêmen foi mantido em tubos de ensaio em banho maria a 45°C/30", para o TTRr, e a 38°C/4 h, para o TTRl. No final de cada teste, alíquotas foram preservadas em formol-salino para avaliação da morfologia em microscopia de contraste de fase (CBRA, 1998).

Resultados e Discussão

Na Tab 1 observa-se que os defeitos no acrossoma (Dacros) e os defeitos maiores (DM) nos espermatozóides foram alterados ($p < 0,05$) em relação aos TTRr e TTRl, entretanto sem se diferenciarem ($p > 0,05$) entre os dois tipos de testes de resistência metabólica. A perda da qualidade do acrossoma pode ser explicada pelas alterações nas membranas acrossomais, semelhantes à capacitação, adquiridas no processo de criopreservação, tornando-as sensíveis, reduzindo sua longevidade.

Tabela 1 – Defeitos espermáticos observados imediatamente após descongelamento do sêmen, TTRr e TTRl em tourinhos da raça Tabapuã com dois anos de idade, criados a pasto e selecionados pela CAP >60 pontos

Defeitos	Pós.Desc	TTRr	TTRl
Dacros	6,0 a	10,8 b	9,8 b
Cdob	9,2 a	15,8 a	11,3 a
DM	11,5 a	16,9 b	16,0 b
Dm	10,6 a	10,1 a	12,0 a
DT	22,1 a	27,0 a	28,0 a

Dacros: defeitos de acrossoma; Cdob: cauda dobrada; DM: defeitos espermáticos maiores; Dm: defeitos espermáticos menores; DT: defeitos espermáticos totais; Pós Desc: imediatamente pós descongelamento; TTRr: teste de termorresistência rápido; TTRl: teste de termorresistência lento; Letras diferentes nas linhas indicam ($p < 0,05$).

Conclui-se que o TTRr pode ser utilizado em detrimento do TTRl, em decorrência da menor demanda de tempo. Em relação aos defeitos espermáticos, o de acrossoma foi o único alterado pelos TTRr e TTRl.

Referências Bibliográficas

- CBRA. *Procedimentos para exame andrológico e avaliação do sêmen animal*. BH: CBRA, 1998. 49 f.
Rasul, Z., Ahmad, N.; Anzar, M. Changes in motion characteristics, plasma membrane integrity, and acrosome morphology during cryopreservation of buffalo spermatozoa. *American Society of Andrology*. V. 22, n. 2, p. 278-284, 2001.
Vale Filho, V.R. Padrões de semen bovino para o Brasil. In: VIII CBRA, BH, v. 1, p. 94-118, 1989.

Palavras-chave: avaliação espermática, CAP, criopreservação, acrossoma, touros Tabapuã, TTR.

Keywords: sperm evaluation, BSE-Z, cryopreservation, defects of acrosome, Tabapuã bulls, TRT.



Aspectos morfológicos da condensação anormal da cromatina evidenciado pela reação de Feulgen no sêmen bovino

Morphological aspects of the chromatin abnormal condensation evidenced by Feulgen reaction in bovine sperm

L.J.F. Campos¹, C.E. Fernandes², A.L. Zart¹, D.N.A. Sodré¹, E. Nogueira³

¹FAMZ, UFMS, Campo Grande, MS; ²Dept. de Patologia, CCBS, UFMS,

³UCDB, Campo Grande, MS

E-mail: cefernandes@nin.ufms.br

Introdução

A reação de Feulgen é usada há mais de 70 anos para o estudo do DNA em diversas amostras biológicas. Consiste em uma reação citoquímica baseada na hidrólise ácida, que permite a exposição dos grupamentos aldeídos ligados ao DNA e a um corante não metilado, a pararosanilina, que se liga a esses grupamentos. Núcleos com alterações na cromatina são corados parcialmente pela pararosanilina mostrando halos ou vesículas que podem ser identificadas em microscopia ótica. Além disso, a reação de Feulgen traz benefícios quando a análise do espermograma bovino por possibilitar maior acuidade na avaliação da forma e contorno da cabeça espermática e pela identificação *in situ* das alterações na condensação da cromatina. O objetivo deste estudo foi avaliar e quantificar diferenças na morfologia da cromatina espermática em amostras de sêmen bovino submetidas à reação de Feulgen.

Material e Métodos

Por ocasião do exame andrológico, foram obtidos esfregaços de sêmen de 61 touros Nelore com idade entre 2 e 5 anos, procedentes de fazendas próximas à Campo Grande, MS. O sêmen foi obtido por eletroejaculação avaliando-se motilidade e vigor em microscopia de campo claro e a morfologia espermática, em microscopia de contraste de fase, após submeter as amostras à reação de Feulgen (BARTH & OKO, 1988). Foram avaliados 200 espermatozoides por lâmina, sendo que aqueles com alterações na cromatina foram classificados de acordo com os seguintes padrões morfológicos: 1) apresentavam um ou mais halos brancos distribuídos em toda a cabeça espermática, incluindo os defeitos de *pouch formation*; 2) apresentavam discreta fragmentação com vacúolos escuros bem definidos, com ou sem a presença de crateras distribuídas aleatoriamente e; 3) cabeças espermáticas com total fragmentação da cromatina, desbotadas e com apenas o contorno celular. Para fins de análise a motilidade e o vigor não foram considerados, uma vez que apresentaram valores satisfatórios sendo todos os touros considerados aptos. Assim, considerou-se apenas a morfologia espermática e as características observadas para a cromatina espermática pela reação de Feulgen.

Resultados e Discussão

A frequência de touros diferiu ($p < 0,05$, $\chi^2 = 8,8$) entre os padrões morfológicos adotados: 1, (n=30, 49,2%); 2, (n=20, 32,8%) e 3, (n=11, 18,0%). Entretanto, não houve diferença ($p > 0,05$) entre as médias de cromatina anormal ($11,9 \pm 1,6\%$; $7,5 \pm 1,2\%$ e $8,0 \pm 2,7\%$) e espermatozoides morfolologicamente normais ($65,8 \pm 2,3\%$; $77,5 \pm 2,8\%$ e $71,7 \pm 3,8\%$) entre os respectivos padrões estudados, indicando que a predominância de um padrão morfológico não implica diretamente na qualidade do espermograma. A reação de Feulgen favorece análise minuciosa das alterações da cromatina além de uma boa repetibilidade. Essa técnica é relativamente fácil de ser executada, de baixo custo e ainda permite que as amostras sejam estocadas com boa qualidade visual por longo tempo. A classificação adotada indica um caráter crescente quanto as alterações na condensação da cromatina, variando desde a presença de pequenas vesículas nucleares até a completa fragmentação nuclear. Sendo assim, é possível que a expressão repetida do padrão três seja um bom indicador de lesões mais graves no epitélio seminífero frente a uma determinada agressão. Embora esses resultados sejam parciais, conclui-se que as alterações na condensação da cromatina podem ocorrer de forma distinta, o que seria proveitoso para estimar e prognosticar possíveis diferenças entre os fatores que afetam a espermatogênese e a qualidade seminal.

Referências bibliográficas

Barth, A.D., Oko, R.J. Abnormal morphology in bovine spermatozoa. Ames: Iowa State University Press; 1989. 285 p.

Palavras-chave: bovino, sêmen, reação de Feulgen, cromatina espermática.

Keywords: bovine, semen, Feulgen reaction, sperm chromatin.



Teste da libido em curral, em touros jovens da raça Guzera (*Bos taurus indicus*) sem experiência sexual prévia

Libido test in pen, in young Guzerat (Bos taurus indicus) bulls without previous sexual experience

J.C. Dias, V.J. Andrade, J.A.M. Martins, L.L. Emerick, V.R. Vale Filho, M.A. Silva

Escola de Veterinária da UFMG / IAPAR / CNPq. E-mail: julianoedias@yahoo.com.br

Introdução

Pesquisas vêm sendo realizadas visando avaliar o comportamento sexual de touros *Bos taurus indicus*, na busca da real capacidade reprodutiva. Desta forma, a avaliação do comportamento sexual através da libido despertou interesse a partir da constatação das diferenças existentes entre os animais (Santos et al., 2004).

Diante dos problemas relacionados ao comportamento sexual de touros zebuínos, o objetivo deste trabalho foi avaliar touros jovens da raça Guzera em teste da libido em curral, em diferentes tempos de observação.

Material e Métodos

Foram estudados 12 touros da raça Guzera de 24 a 34 meses de idade, sem experiência sexual, pertencentes a Fazenda Palestina, município de Unaí-MG. Os animais foram selecionados por avaliação andrológica segundo padrões do CBRA (1998). O esquema do teste da libido utilizado foi o proposto por Vale Filho et al. (1994), com os animais sendo avaliados por cinco, 10 e 15 minutos. Os principais comportamentos padronizados para observação durante o teste e o sistema de classificação foram os preconizados por Pineda et al. (1997). As comparações das pontuações médias dos escores foram feitas como análises não paramétricas usando-se o teste de Friedman, segundo Sampaio (2002).

Resultados e Discussão

Observa-se (Tab. 1), que o aumento no tempo de avaliação do teste da libido de cinco para 15 minutos, diminuiu a porcentagem de touros com libido questionável e aumentou a de animais com libido muito boa, sem, no entanto, alterar a de animais classificados como de libido boa. Não foram encontrados animais classificados com libido excelente nos três tempos de avaliação. Santos et al. (2004) encontraram, ao avaliar touros Nelore com o mesmo critério, por 10 e 15 minutos, diferenças no percentual de classificação, concluindo que o tempo de 15 minutos foi melhor para avaliar a libido nesses animais. Observa-se ainda, que não houve aumento ($p > 0,05$) no escore classificatório médio dos touros nos diferentes tempos de avaliação, diferentemente do relatado por Santos et al. (2004), que encontraram escore de 4,6 e 5,5 para touros Nelore mais velhos, avaliados por 10 e 15 minutos, respectivamente; entretanto, deve-se ressaltar que experiência sexual é importante na melhoria do desempenho reprodutivo de touros jovens. Baseado nos escores classificatórios dos animais sugere-se que cinco minutos são satisfatórios para avaliar a libido de touros jovens Guzera, sem experiência sexual, em teste de curral.

Tabela 1 – Médias e desvios-padrão dos escores e frequências de classificação de touros jovens Guzera em teste da libido, em diferentes tempos de avaliação

Tempo	Escore	Frequência de categorias da libido (%)			
		Questionável	Libido boa	Lib. muito boa	Lib. excelente
5 minutos	3,00 ± 2,30 ^a	75,0	16,7	8,3	0,0
10 minutos	3,00 ± 2,30 ^a	75,0	16,7	8,3	0,0
15 minutos	3,33 ± 2,35 ^a	66,6	16,7	16,7	0,0

Letras iguais na mesma coluna ($p > 0,05$).

Referências Bibliográficas

- CBRA. *Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal*. 2.ed. Belo Horizonte: CBRA, 1998.
- Pineda, N.R. et al. Comparação entre dois testes de avaliação de comportamento sexual (libido) de touros Nelore (*Bos taurus indicus*). *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, v.21, n.4, p.29-34, 1997.
- Sampaio, I.B.M. *Estatística aplicada à experimentação animal*. Belo Horizonte:FEP-MVZ, 2002.
- Santos, M.D. et al. Teste da libido e atividade de monta em touros da raça Nelore. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.56, n.4, p.504-510, 2004.
- Vale Filho, V.R. et al. Classificação andrológica por pontos (CAP), versus libido, na eficiência na fecundação de touros Nelore de 2 e 3 anos de idade, usados em estação de monta bem definida. In: Encontro de Pesquisa da Escola de Veterinária da UFMG, 14, v.1, 1994, Belo Horizonte. *Anais...* Belo Horizonte: UFMG, 1994. P.88.

Palavras-chave: comportamento sexual, fertilidade, libido, touro, zebu.

Keywords: bull, fertility, libido, sexual behavior, zebu.

Pesquisa financiada pela FAPEMIG.



Vagina artificial interna como ferramenta para a avaliação andrológica de touros

Internal artificial vagina as a tool for bulls breeding soundness evaluation

F.B. Cruz¹, L.T. Martins¹, M.P. Cesaro¹, E.S. Ribeiro¹, M. Bertolini¹, A. Mezzalira¹, A.D. Barth²

²University of Saskatchewan, Saskatoon, Saskatchewan, Canadá.

¹Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC / Centro de Ciências Agroveterinárias – CAV, Lages SC
E-mail: mezzalira@cav.udesc.br

Introdução

O Brasil é um dos grandes produtores de carne bovina, sendo sua exploração predominantemente extensiva, onde os acasalamentos se dão por monta natural. Assim, a avaliação da aptidão reprodutiva dos touros é fundamental para se obter maiores taxas de prenhez e maior produtividade. A avaliação convencional dos reprodutores considera apenas o aspecto físico do animal e sua qualidade seminal, enquanto a capacidade de cópula é negligenciada. Na prática, a maioria das coletas são realizadas por eletro ejaculação, o que impede a avaliação deste parâmetro. A coleta do ejaculado e a simultânea avaliação da capacidade de cópula é possível com o sistema de coleta com a vagina artificial interna (VAI) (Barth et al., 2004). Entretanto, não existem dados referentes a utilização da VAI no Brasil. O objetivo deste estudo é determinar a viabilidade da VAI na avaliação da capacidade reprodutiva de touros, à campo e destinados a sistemas extensivos de acasalamento.

Material e Métodos

Foram avaliados 94 animais *Bos taurus taurus*, da raça Devon, com idades variando de 1,6 a 7 anos, e criados de forma extensiva no município de Vargeão, região oeste de Santa Catarina. Como manequins, foram utilizadas vacas demonstrando sinais de estro, nas quais foi introduzida a VAI, no conduto vaginal. Os touros foram submetidos ao exame clínico geral e específico (palpação testicular e determinação da circunferência escrotal - CE), e a seguir submetidos ao procedimento de avaliação do comportamento copulatório e coleta de sêmen com o uso de VAI. Para a avaliação, os touros foram liberados, dois a dois, em um recinto de 25 m², na presença da fêmea contida em brete adequado para realização da monta. Os touros foram avaliados quanto à capacidade de realizar a cópula, num intervalo de até dez minutos. Assim que a cópula era efetuada, removia-se o dispositivo VAI contendo o ejaculado, que era encaminhado para determinação da viabilidade espermática, segundo as normas do CBRA.

Resultados e Discussão

Dos 94 animais avaliados, 86 (91,5%) ejacularam na VAI, que se mostrou eficaz para coleta dos ejaculados em 100% dos animais. Nas avaliações, 62,7% (n=59) foram considerados aptos para uso como reprodutores e 38,3% (n=36) reprovados em pelo menos um dos parâmetros avaliados. Dentre os animais inaptos, 55,5% (n=20) foram desclassificados por apresentarem qualidade seminal insatisfatória; 38,8% (n=14) em virtude da pequena CE; e 22,2% (n=8) por não demonstrarem capacidade de efetuar a cópula completa. Nos touros em que não foi possível realizar a coleta com a VAI, foram identificadas como causas: falta de interesse sexual (n=4), ausência de reflexo ejaculatório (n=1), problemas de aprumos (n=2), e desvio peniano com impossibilidade de penetração vaginal (n=1). Considerando a metodologia convencional, é provável que uma parcela significativa de touros (8,5% / n=8) seria liberada para uso na reprodução, comprometendo a eficiência reprodutiva do rebanho. Os resultados sugerem que o método é eficiente, simples e de baixo custo, determinando um diagnóstico preciso de animais que apresentam algum tipo de limitação no processo copulatório.

Referências bibliográficas

Barth, A.D., et al. Use of internal artificial vaginas for breeding soundness evaluation in range bulls: an alternative for electroejaculation allowing observation of sex drive and mating ability. *Animal Reproduction Science*, v. 84, p. 315–325, 2004.

Palavras-chave: VAI, touro, exame andrológico.

Keywords: IAV, bulls, BSE.



Sperm quality analyzer for bulls (SQA-Vb) automated AI dose preparation

L. Rabinovich, S. Greenberg, U. Shalit

Medical Electronic Systems www.mes-ltd.com

Introduction

In order to provide a standardized product for the AI bull market, accurate and objective semen analysis must be performed on freshly collected samples, AI doses must be consistent and meet market and biological demands and a quality control (QC) program must be in place to insure that the final frozen product meets established standards for insemination. These three goals: Accurate and objective semen analysis; Dosing consistency; Final QC require a level of objectivity that can only be achieved with an automated semen analyzer. The Sperm Quality Analyzer for bulls (SQA-Vb) presents as such a system. The SQA-Vb performs a quantitative evaluation of bull sperm concentration, motility, motile and progressively motile sperm concentration and velocity in approximately 45-seconds. The objective of the study was to determine if the automated SQA-Vb can replace manual semen analysis and manual dose preparation.

Material and Methods

An evaluation of the SQA-Vb was conducted at Sion laboratory in Israel. Both semen samples and latex beads external control material were run. Control results from the automated system were compared to the target ranges specified by the bead manufacturer. Semen samples run on the automated system were compared to manual microscopic test results. A total of 104 fresh, 138 frozen semen and 320 control samples were analyzed to establish: Precision: Coefficients of variation (CV, %) were established by assessing sperm samples run in duplicate and by running controls of a known target value; Analytical accuracy: Correlation coefficients compared automated and manual semen analysis methods. SQA-Vb automated results were compared to the labeled target range for two levels of latex beads; Clinical accuracy: Sensitivity and specificity were established by using cutoffs for concentration, motility and motile sperm concentration run on the SQA-Vb vs. manual results.

Results and Discussion

Table 1 below demonstrates that the SQA-Vb coefficients of variation are below 10% and the correlation to manual results and accuracy are quite high. In addition, the SQA-Vb precisely fits to the control material target range.

Table 1: SQA-Vb Performance Characteristics

Semen Parameter	Sample type	Precision CV, %	Analytical Accuracy	Clinical Accuracy	
				Sensitivity, %	Specificity, %
Sperm Concentration	Fresh semen	3.0	0.93*	90.0	90.0
	Beads	≤ 0.01	42.6 vs. 43.0+/-6.0 x 10 ⁶ /ml** 20.8 vs. 21.0+/-2.9 x 10 ⁶ /ml**		
Motility	Fresh semen	5.0	0.81*	85.0	80.0
Motile Sperm Concentration	Fresh semen	7.0	0.94*		

Table 2 demonstrates three AI dosing methods. It is evident that Motile Sperm Concentration (MSC) and Progressively Motile Sperm Concentration (PMSC) mean values are higher using the SQA-Vb dosing method. In addition, the variability between the AI doses is lower using the SQA-Vb for dose preparation. This is especially seen when dosing by #Motile Sperm.

Table 2: Dosing Comparison between the SQA-Vb and Manual Methods

Statistical Parameter	SQA-Vb dosing by #Motile Sperm		SQA-Vb dosing by # Total Sperm		Manual dosing by #Total Sperm	
	MSC [M/ml]	PMSC [M/ml]	MSC [M/ml]	PMSC [M/ml]	MSC [M/ml]	PMSC [M/ml]
Mean	28.9	13.8	28.6	13.5	18.8	9.3
STD	6.0	3.0	9.0	4.4	8.8	4.0
CV, %	20.9	21.9	31.6	32.3	47.0	42.7

Abbreviations: STD – standard deviation, CV – coefficient of variation, MSC – Motile Sperm Concentration, PMSC – Progressively Motile Sperm Concentration

Conclusions

1. The SQA-Vb is precise and accurately assess bull semen.
2. Use of the SQA-Vb to prepare AI doses decreases the between-dose variability compared to manual methods.

Keywords: SQA-Vb, Sperm Quality Analyzer, Bull Semen.



Efeito do cloprostenol (PGF_{2α}) sobre o aparecimento do primeiro estro pós-parto em Búfalas (*Bubalus bubalis*) leiteiras da raça Murrah

*Effect of the cloprostenol (PGF_{2α}) on the emergence in the first postpartum estrous Murrah in dairy cow buffaloes (*Bubalus bubalis*)*

P.C. Ferraz, A.J. Del Rei

Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Campus Universitário de Itapetinga, BA
E-mail: pcferraz2@hotmail.com

Introdução

Recentes pesquisas (Machado et al., 2003) têm demonstrado que o cloprostenol tem efeito benéfico na involução uterina e no re-início da atividade ovariana pós-parto. O presente estudo objetivou verificar a eficiência da aplicação de diferentes doses do análogo sintético da PGF_{2α} (Cloprostenol) com o aparecimento do primeiro estro pós-parto de búfalas.

Material e Métodos

O experimento ocorreu no período de março a setembro de 2004. Foram utilizadas 45 fêmeas bubalinas pluríparas da raça Murrah, divididas em três grupos contendo 15 búfalas cada – G1, G2 e G3. No grupo G1 (controle) receberam 2 ml de solução fisiológica (NaCl 0,09%) IM 2 dias pós-parto. Os animais do grupo G2 receberam 0,530 mg de Cloprostenol (2 ml IM de Ciosin[®]) em dose única 2 dias pós-parto. No grupo G3, os animais receberam duas doses de 0,530 mg de Cloprostenol sendo a primeira 2 dias pós-parto e uma segunda aplicação de 0,530 mg de Cloprostenol 5 dias após a primeira dose. A observação do comportamento sexual/monta foi realizada três vezes ao dia, às 06 h, às 12 h e às 17 h registrando o salto de um dos três reprodutores portando “buzal marcador”.

Resultados e Discussão

Os animais que receberam duas doses de cloprostenol (G3) retornaram mais rapidamente a ciclicidade ovariana com o aparecimento do primeiro estro pós-parto, no entanto o G1 (controle) e o G2 não apresentaram diferenças estatísticas entre si ($p > 0,05$). O tempo médio para ocorrência do primeiro estro pós-parto foi de $44,2 \pm 16,8$ dias para o G3, de $64,3 \pm 25,8$ dias para o G1 (controle) e de $57,6 \pm 26,7$ dias para o G2. Observou-se que a aplicação de duas doses de cloprostenol foi capaz de reduzir o período de aparecimento do primeiro estro pós-parto em 20,1 dias ($p < 0,10$) em relação ao G1 (controle) e 13,4 dias para o G2, evidenciando uma correlação positiva entre a aplicação do cloprostenol com o reinício da ciclicidade ovariana pós-parto. Os achados obtidos evidenciaram a existência de uma interação entre a aplicação de duas doses do cloprostenol no pós-parto com o restabelecimento da ciclicidade ovariana em búfalas. Resultados similares foram observados por Del Rei et al. (1991) em bubalinos e Fernandes et al. (2002) em bovinos. Pelos resultados observados pode-se concluir que a aplicação de cloprostenol PGF_{2α} no puerpério imediato melhorou o desempenho reprodutivo das búfalas.

Referências bibliográficas

- Del Rei, A.J.M.** et al. Aspectos morfológicos do útero, cérvix e atividade ovariana de búfalas (*Bubalus bubalis*) primíparas e pluríparas após parto normal. In: II Congresso Baiano de Medicina Veterinária. Salvador, 1991. Anais... p. 102
- Fernandes, C.A.C.** et al. Efeito do cloprostenol sódico no pós-parto de vacas leiteiras sobre incidência de infecções uterinas e fertilidade futura. A Hora Veterinária, Porto Alegre, ano 22, n. 127, mai./jun., p. 41-45, 2002.
- Machado, P. F., et al.** Efeito do cloprostenol sódico (Ciosin[®]) sobre parâmetros reprodutivos e produtivos no pós-parto de vacas leiteiras com ou sem retenção de placenta. A Hora Veterinária, Porto Alegre, ano 23, n. 135, set./out., p. 44-46, 2003.

Palavras-chave: Búfalas, cloprostenol, reprodução.

Keywords: Buffaloes, cloprostenol, reproduction.



Contaminação bacteriana e estado de conservação dos botijões de nitrogênio líquido com sêmen, embriões e oócitos bovinos

Bacterial contamination and conservation status of liquid nitrogen containers with semen, embryos and oocytes

M.I.B Rubin, G.A. Pessoa, D.C. Rosa, L.P. Pereira, R.B. Navarro, J. Calegari e C.A.M. Silva

Embryolab – Laboratório de Embriologia Animal – DCGA - Hospital Veterinário
Universidade Federal de Santa Maria Av. Roraima, 1000 97.105-900 Santa Maria-RS, Brasil
E-mail: mararubin@smail.ufsm.br

Introdução

O uso de nitrogênio líquido para a conservação de sêmen é uma prática comum. Alguns botijões são destinados a inseminação artificial nas fazendas ou para o comércio, principalmente em rebanhos bovinos, búfalos, ovinos, caprinos, suínos ou, até, em eqüinos. A manipulação inadequada das palhetas, raques, canisters e também do nitrogênio líquido ocorre e permite a contaminação do nitrogênio. Este tipo de manipulação pode influenciar negativamente a produtividade e a taxa de prenhez. Conhecer as condições sanitárias dos botijões de nitrogênio líquido pode ser um meio importante para se estabelecer programas preventivos de descontaminação e melhorar as taxas de concepção de qualquer rebanho de importância econômica.

Material e Métodos

Neste estudo as amostras foram colhidas de dois canisters ainda sob nitrogênio líquido e do fundo dos botijões (n=12) usados para o armazenamento de sêmen e embriões. As amostras foram identificadas e remetidas em meio de transporte de Stuart-modificado ao Laboratório de Bacteriologia da Universidade Federal de Santa Maria para cultivo e identificação de bactérias aeróbicas. Logo após, os canisters e botijões foram lavados com água, depois com água e detergente neutro Extran[®]-MA02 (Merck) e imediatamente enxaguados e desinfetados. O Grupo A (n=8): enxaguados com glutaraldeído a 2% (Glutaron II[®] - Rioquímica) e, logo após, com etanol a 70%. Grupo B (n=4): enxaguados somente com etanol a 70%. Após, os botijões mantidos à temperatura ambiente para secar e os canisters foram secos em forno de Pasteur a 60°C. Uma segunda amostra foi tirada de cada botijão e canister para avaliar a eficiência do procedimento.

Resultados e Discussão

O *Bacillus cereus* foi isolado de 11 (91.6%) botijões e de seus correspondentes canisters. Adicionalmente, *Bacillus gram negativo oxidase negativos*, *Staphylococcus sp.*, *Streptococcus sp.* e *Escherichia coli* foram isolados em 2 de 12 botijões. Em um deles (8.4%) encontrou-se *Proteus mirabilis*. Após desinfecção, em nenhum botijão encontrou-se evidência da presença de contaminação bacteriana. Este estudo enfatiza a importância da desinfecção rotineira dos botijões para evitar contaminação.

Referências bibliográficas

Bielanski A. Experimental microbial contamination and disinfection of dry (vapour) shipper dewars designed for short-term storage and transportation of cryopreserved germplasm and other biological specimens. **Theriogenology**, v.63, p.1946-1957, 2005(a).

John Morris, G. The origin, ultra structure, and microbiology of the sediment accumulating in liquid nitrogen storage vessels. **Cryobiology**, 2005.

Palavras-chave: sêmen, mamíferos, contaminação, criopreservação, nitrogênio líquido.

Keywords: semen, mammals, contamination, cryopreservation, liquid nitrogen.



Efeito da reutilização de implantes de progesterona sobre o momento e número de ovulações em ovelhas

Effect of reuse the implants of progesterone on the moment and number of ovulations in sheep

**F.Z. Brandão¹, A.S. Cavalcanti¹, A.E. Pina¹, J.H.M. Vianna², A.M. Borges³,
A.L.S. Silva¹, L.A.G. Nogueira¹, J.F. Fonseca⁴**

¹Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ - E-mail: fzbr@vm.uff.br

²Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG

³Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG

⁴Embrapa Caprinos, Sobral – CE

Introdução

Em um programa de manejo reprodutivo ovino, as vantagens do uso da inseminação artificial dependem do controle do estro e da ovulação. Os métodos mais utilizados para a indução e sincronização de estro e estimulação do crescimento folicular em ovelhas envolvem progesterona e a administração de gonadotrofina sérica da égua gestante (Menchaca & Rubianes, 2004). O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito da reutilização de implantes de progesterona sobre o momento e número de ovulações de ovelhas.

Material e Métodos

Foram utilizadas 27 ovelhas das raças Santa Inês e Dorper, onde as mesmas apresentavam peso e escore da condição corporal de 44,65 Kg e 3,23 (0-5), respectivamente. Estas foram divididas aleatoriamente em três grupos experimentais de acordo com o número de vezes de utilização do implante de progesterona, onde: Grupo I: fêmeas que utilizaram implantes novos (n=9); Grupo II: fêmeas que utilizaram implantes utilizados pela a segunda vez (n=10) e Grupo III: fêmeas que utilizaram implantes utilizados pela a terceira vez (n=8). As fêmeas receberam os implantes de progesterona (Easi-Breed CIDR[®], Pfizer do Brasil Saúde Animal, São Paulo, Brasil) por um período de cinco dias, sendo no penúltimo dia, estas receberam 300 UI de eCG (Novormon[®], Tecnopec, São Paulo, Brasil) e 12,5 mg de dinoprost de trometamina (Lutalyse[®], Pfizer do Brasil Saúde Animal, São Paulo, Brasil). Após 24 horas da retirada dos implantes, foram realizados exames ultra-sonográficos para diagnosticar o momento da ovulação, assim como o número de ovulações. Para tal, utilizou-se um aparelho de ultra-sonografia modelo Aloka SSD 500 (Aloka Co., Ltda., Tóquio, Japan), equipado com um transdutor linear de 5,0 MHz, adaptado para o exame transretal em ovelhas. Os exames foram realizados a cada 12 horas, até o diagnóstico das ovulações. O número, a posição relativa e o tamanho dos folículos ovarianos ≥ 3 mm foram devidamente anotados em fichas próprias. Considerou-se como dia da ovulação quando o maior folículo antes identificado, não estava mais presente.

Resultados e Discussão

Quanto à manifestação do estro, 77,78% (7/9); 80,00% (8/10) e 37,50% (3/8), respectivamente, grupo I, II e III, apresentaram comportamento de estro. Em relação à percentagem de animais que ovularam foram observados os seguintes resultados: 77,78% (7/9), 90,00% (9/10) e 100,00% (8/8), na mesma ordem anterior. Os intervalos entre a retirada do implante e a ocorrência da ovulação nos grupos I, II e III foram de $55,14 \pm 4,88$ h; $55,77 \pm 4,41$ h; $54,25 \pm 5,17$ h, não havendo diferença entre os tratamentos ($P > 0,05$). Da mesma forma, não foram observadas diferenças ($P > 0,05$) entre os grupos em relação ao número de ovulações, onde os grupos I, II e III apresentaram as seguintes taxas de ovulações $1,43 \pm 0,59$, $1,67 \pm 0,71$ e $1,37 \pm 0,52$. Godfrey et al. (1997) trabalhando com CIDR novo, determinaram uma taxa de ovulação de $1,4 \pm 0,2$, valores semelhantes aos encontrados neste trabalho. Desta forma, a reutilização dos implantes de progesterona em ovelhas não determinou alterações no momento e no número de ovulações.

Referências bibliográficas

- Ungerfeld, U. & Rubianes, E. 1999.** Effectiveness of short-term progestogen primings for the induction of fertile oestrus with eCG in ewes during late seasonal anoestrus. *Animal Science*, v. 68, p. 349-353.
- Menchaca, A. & Rubianes, E. 2004.** New treatments associated with timed artificial insemination in small ruminants. *Reproduction, Fertility and Development*, v. 16, p. 403-423.

Palavras-chave: CIDR, sincronização de estro, ovinos.

Keywords: CIDR, oestrus synchronisation, sheep.



Uso de protocolos curtos para indução de estro em ovelhas Santa Inês

Use of short-term protocols to estrous induction in Santa Inês ewes

J.M.G. Souza¹, L.M. Gomes², P.L.J. Monteiro Jr², J.H. Bruschi², J.H.M. Viana²,
L.S.A. Camargo², J. F. Fonseca¹

¹Embrapa Caprinos, Sobral – CE, E-mail: joannavet@superig.com.br

²Embrapa Gado de Leite, Coronel Pacheco – MG

Introdução

A ovinocultura tem crescido substancialmente nos últimos anos. As ovelhas são poliéstricas estacionais de dias curtos, ou seja, dependendo da latitude, obtém-se apenas um parto por ano. Assim, existem algumas técnicas que estão sendo implementadas para otimizar a eficiência reprodutiva nesses animais. A progesterona e progestágenos são os fármacos mais empregados nos programas de sincronização do estro ovino e, na maioria das vezes, associados ao eCG (Gordon, 1997). Este estudo comparou a eficácia de dois protocolos de indução de estro em ovelhas com o objetivo de serem implementados em programas de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) em ovinos.

Material e Métodos

O estudo foi realizado em Janeiro de 2007 no município de Coronel Pacheco, MG, localizado a 435m de altitude e 21°35'S e 43°15'W latitude e longitude, respectivamente. Trinta e duas ovelhas da raça Santa Inês, nulíparas (n=15; 34,9±3,5 kg e 3,9±0,5) e pluríparas (n=17; 47,3±7,8 kg e 3,1±0,5) foram equitativamente distribuídas de acordo com peso e escore da condição corporal em dois tratamentos (T1, n=16, 41,3± 9,0 kg, 3,5 ± 0,6; T2, n=16, 41,6±8,7 kg, 3,5±0,7) para indução do estro. Os animais do T1 e T2 receberam dispositivos intravaginais contendo 0,33 g de progesterona (Easi-Breed CIDR[®], Pfizer do Brasil Saúde Animal, São Paulo, Brasil) por 5 e 6 dias (respectivamente) e 5mg de dinoprost (Lutalyse[®], Pfizer do Brasil Saúde Animal, São Paulo, Brasil) latero-vulvar. No momento da retirada do dispositivo (T1) ou 24 horas antes (T2), as ovelhas receberam 300 UI eCG (Novormon 5000[®], Sintex Indústria Bioquímica, Buenos Aires, Argentina) latero-vulvar. As ovelhas foram monitoradas duas vezes ao dia, utilizando carneiros inteiros, após a retirada dos CIDR, até o período de 84h. O início e final do estro foram caracterizados como sendo a primeira e última aceitação de monta. A análise estatística compreendeu a análise de variância para comprovação de diferenças entre variáveis quantitativas, cujas médias foram testadas pelo teste de SNK (5%). Variáveis não-paramétricas foram avaliadas pelo teste do qui-quadrado.

Resultados e Discussão

O percentual de animais em estro não diferiu (P>0,05) entre T1 (81,2 %) e T2 (93,7%). Houve perda de dispositivo em 6 nulíparas (T1=3 e T2=3) e 6 pluríparas (T1=2 e T2=4), das quais uma nulípara (T1) e uma plurípara (T2) não apresentaram estro sincronizado. O intervalo para o estro em nulíparas (42,0±20,4 h) foi semelhante (P>0,05) ao das pluríparas (28,3±13,0 h). Outrossim, a duração do estro não diferiu (P>0,05) entre T1 (26,8±19,1 h) e T2 (24,8±17,3 h), ou entre nulíparas (20,6±13,7 h) e pluríparas (30,9±20,4 h). Verificou-se uma correlação negativa (r=0,57, P<0,001) entre o intervalo para o estro e a duração do estro, como citado por Fonseca et al. (2003) em cabras. Considerando que o intervalo médio entre a retirada do CIDR e o final do estro foi de 60,8 ± 18,0h e sabendo que a ovulação na espécie ovina ocorre preferencialmente no final do estro (Gordon, 1997), sugere-se realizar a IATF 54 horas após a retirada do CIDR. Os resultados do presente estudo demonstraram que ambos os protocolos propostos foram eficientes na indução de estro em ovelhas da raça Santa Inês, dando suporte para seu emprego e em programas de IATF. Adicionalmente, o curto período de permanência do dispositivo garante elevado percentual de estro e sincronia, mesmo naqueles animais que percam seu dispositivo.

Referências Bibliográficas

- Gordon I. 1997. *Controlled reproduction in Sheep and Goats*. Cambridge UK: University Press
Fonseca JF. 2002. *Controle e perfil hormonal do ciclo estral e performance reprodutiva de cabras Alpinas e Saanen*. Viçosa MG: Universidade Federal de Viçosa. PhD Thesis.

Palavras-chave: ovelha, indução de estro, gestação.

Keywords: ewe, estrous induction, pregnancy.



Coleta de sêmen em ovinos em estação ou decúbito lateral utilizando-se diferentes eletroejaculadores

Semen collection in rams standing up or laying down using different electroejaculators

L.F. Lima¹, R. D.Torturella¹, R. Sartori², T.A.S.N. Silva¹, G.M. Campos¹, J.P. Neves¹

¹Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 70910-900 Brasília, DF;

²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Caixa Postal 02372, CEP 70770-900 Brasília, DF;

E-mail: jpneves@unb.br

Introdução

O experimento visou avaliar e comparar um eletroestimulador automático (A-Bioacom, Uberaba, MG) com um outro convencional (C, Duboi, Campo Grande, MS) e dois métodos de contenção, estação (E) e decúbito lateral (D) quanto ao nível de estresse e qualidade seminal em ovinos.

Material e Métodos

Doze carneiros (9 Santa Inês, 2 Ile-de-France e 1 Texel) tiveram sêmen coletado através de eletro-ejaculação duas vezes por semana. Cada animal foi coletado seis vezes com o eletro-ejaculador automático e outras seis com o manual. Além disso, seis coletas em cada animal foram realizadas com o mesmo em estação e seis em decúbito. Portanto, os quatro tratamentos do experimento foram: AE = Eletro-ejaculador automático em estação, ME = Eletro-ejaculador manual em estação, AD = Eletro-ejaculador automático em decúbito e MD = Eletro-ejaculador manual em decúbito. A duração das coletas foi cronometrada para estabelecer-se o tempo entre o início da coleta e a ejaculação. O ejaculado obtido foi avaliado quanto às características seminais. Amostras de sangue foram coletadas por venopunção da jugular imediatamente antes e quinze minutos após a coleta seminal para posterior dosagem plasmática de cortisol. Os dados obtidos nos diferentes tratamentos foram comparados por análise de variância e teste de Tukey e os resultados estão apresentados na forma de média \pm desvio padrão.

Resultados

Dez das 141 coletas realizadas (7,1%), não resultaram em sêmen no ejaculado com 4 minutos de estímulo, sendo que o grupo AD foi o que obteve um maior número ($P < 0,05$) de coletas frustradas (7/35 [20,0%]). Ao avaliar-se subjetivamente o nível de estresse dos animais (0 = ausente, 1 = baixo, 2 = médio, 3 = alto) durante as coletas, os quatro tratamentos não apresentaram diferenças ($P > 0,05$). O tratamento MD mostrou-se mais eficiente ($P < 0,05$) quanto ao tempo para atingir a fração seminal ($42,5 \pm 38,2$ s) comparado ao tratamento AE ($76,7 \pm 46,9$ s). Os demais tratamentos não diferiram entre si. As coletas com os animais em decúbito, apresentaram um maior tempo de fração seminal em segundos (77,66) do que as coletas em estação (66,98). Em relação ao tempo total das coletas de sêmen ($146,6 \pm 47,1$ s, $139,3 \pm 64,5$ s, $127,9 \pm 46,3$ s, $123,0 \pm 56,4$ s para AE, ME, AD e MD, respectivamente) e porcentagem de animais com exposição peniana ($91,2 \pm 28,2$; $91,2 \pm 28,2$; $86,2 \pm 35,1$; $91,2 \pm 28,2$ para AE, ME, AD e MD, respectivamente) não houve diferença entre os tratamentos ($P > 0,05$). O volume seminal no tratamento MD ($1,6 \pm 1,1$ ml) foi maior em relação ao tratamento AE ($1,0 \pm 0,6$ ml) ($P < 0,01$), enquanto que os tratamentos ME e AD não diferiram dos demais. O aspecto do sêmen (1 = aquoso, 2 = leitoso e 3 = cremoso) não mostrou diferença entre os tratamentos aplicados ($P > 0,05$). Considerando unicamente os métodos de contenção, os tratamentos em estação AE e ME apresentaram sêmen com aspecto mais denso do que os tratamentos em decúbito AD e MD ($P < 0,05$). Para as variáveis, turbilhão, motilidade, vigor, total de patologias espermáticas e o número total de espermatozoides no ejaculado não foram verificadas diferenças entre os tratamentos ($P > 0,05$). Quanto ao aumento nos níveis de cortisol plasmático durante as coletas, os quatro tratamentos não diferiram entre si ($P > 0,05$) ($36,0 \pm 16,5$; $34,0 \pm 11,7$; $38,5 \pm 16,6$; $39,0 \pm 14,7$ ng/ml para AE, ME, AD e MD, respectivamente), no entanto ocorreu uma diferença entre indivíduos ($P < 0,01$). Em conclusão, o aparelho automático apresentou resultados similares em relação ao convencional com exceção do tempo para atingir a fração e volume seminal nos parâmetros avaliados no presente estudo. Os métodos de contenção não apresentaram diferenças significativas. Em termos práticos, o aparelho automático permitiu maior facilidade no manuseio do eletrodo e desencadeou a sequência de estímulos elétricos sem necessitar da ação de um operador.

Palavras-chave: Eletro-estimulador, ovino, sêmen, estresse.

Keywords: Electro-stimulator, ovine, semen, stress.

Utilização do exame colpocitológico como parâmetro de avaliação da involução do sistema genital no pós-parto de ovelhas da raça Santa Inês

Colpocitology as an evaluation parameter of the pos-partum genital tract involution in Santa Inês ewes

C.A.A. Clemente¹, M.G.T. Gomes¹, A.S. Carmo¹, F. Varago¹, I. Borges², M. Henry²

¹Alunos de pós-graduação da EV-UFGM; ²Professor Associado da EV-UFGM.
E-mail: mgianordoli@gmail.com

Introdução

A técnica de colpocitologia é baseada na pesquisa de células naturalmente ou artificialmente descamadas e colhidas do epitélio vaginal. Em razão deste epitélio sofrer uma marcante influência dos hormônios reprodutivos, alguns autores observaram predomínio de diferentes tipos celulares (basal, parabasal, intermediária e superficial) em diferentes fases do ciclo estral na espécie ovina (Zourgui et al, 1976). O objetivo do presente trabalho consistiu na caracterização da descamação celular do fundo de saco vaginal como ferramenta para avaliação da evolução do período de involução do sistema genital no pós-parto de ovelhas da raça Santa Inês.

Material e métodos

Foram utilizadas 16 ovelhas gestantes da raça Santa Inês, das quais oito apresentavam gestação simples e oito apresentavam gestação gemelar. A colpocitologia vaginal foi realizada coletando-se amostra de células do fundo de saco vaginal introduzindo-se um swab (Ceconete, Cecon®) até o fôrnix vaginal. Para cada amostra foram feitos dois esfregaços tamponando a extremidade do swab sobre cada lâmina de vidro (Corning®). O esfregaço foi imediatamente imerso em álcool absoluto, por 10 segundos, para fixação celular. A coloração foi realizada no final de cada dia de coleta, utilizando-se o método Panótico rápido (Laborclin®). A metodologia para avaliação diferencial das células foi baseada no trabalho de Schutte (1967).

Resultados e discussão

A variação das células encontradas no pós-parto no fundo de saco vagina não apresentou qualquer padrão que pudesse caracterizar a evolução do período de involução do sistema genital e nem permitiu caracterizar o retorno a ciclicidade. O percentual de células intermediárias antes do parto (47%), diminuiu estabilizando-se em 33% até o fim das avaliações, enquanto a percentagem de células superficiais apresentou patamar entre 20 e 30% ao longo de todo o período avaliado. No gráfico 1 apresenta-se o percentual de presença de leucócitos ao longo dos dias pós-parto.

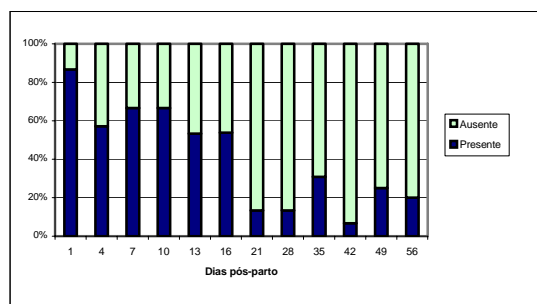


Gráfico 1 – Percentual de presença de leucócitos

A drástica redução na proporção de leucócitos encontrados na colpocitologia a partir do 16º dia pós-parto pode indicar término de inflamação do útero e cérvix, sugerindo recuperação da higidez do sistema genital.

Referências bibliográficas

Schutte AP. 1967. Canine Vaginal Cytology. I – Technique and Cytological Morphology. *J. Small Anim. Pract.*, 8:301-306.

Palavras-chave: citologia vaginal; ovelhas; Santa Inês.

Keywords: vaginal cytology; ewes; Santa Inês.

Agradecimentos: ao apoio financeiro da FAPEMIG e do CNPq.

Avaliação ultra-sonográfica da involução uterina em ovelhas Santa Inês

Ultrasonography evaluation of post-partum uterine involution in Santa Inês ewes

M.G.T. Gomes¹, G.L. Macedo Jr¹, M.I.C. Ferreira¹, D.A. Ferreira¹, I. Borges², M. Henry²

¹Alunos de pós-graduação da EV-UFGM; ²Professor Associado da EV-UFGM.

E-mail: mgianordoli@gmail.com.br

Introdução

O intervalo entre partos está diretamente relacionado à rapidez da involução uterina e ao retorno à ciclicidade das fêmeas permitindo o reinício da atividade reprodutiva. A involução uterina depende de vários fatores, como, as contrações do miométrio, eliminação de infecção bacteriana e regeneração do endométrio. Eventos esses, que vem sendo estudados com mais detalhes no intuito de se conhecer as características e as peculiaridades de acordo com as raças e regiões onde são criados os animais. O objetivo do presente trabalho foi avaliar e caracterizar o período de involução uterina pós-parto de ovelhas da raça Santa Inês que apresentavam gestação simples e gemelar.

Material e Métodos

Foram utilizadas 16 ovelhas gestantes da raça Santa Inês submetidas ao diagnóstico ultrassonográfico de gestação, divididas em dois grupos, onde oito animais apresentavam apenas um feto e oito apresentavam gestação dupla. Os exames ultrassonográficos trans-abdominal ou trans-retal foram realizados utilizando-se um aparelho da marca Aloka® SSD-500 com transdutor linear de 5MHz. A partir do dia do parto, as avaliações foram realizadas de três em três dias até o 21º dia e semanalmente até 56º dia pós-parto. Foi considerado como profundidade uterina a maior distância entre a região dorsal e ventral do órgão. Não sendo individualizadas espessuras de corpo e cornos uterinos.

Resultados e Discussão

De acordo com os resultados encontrados, foram verificadas diferentes taxas de redução uterina entre os partos simples (-0,051 cm/dia) e duplo (-0,030cm/dia), com a estabilização da profundidade uterina ocorrendo, respectivamente, aos 35º e 49º dias pós-parto (P=0,00), como representado no gráfico-1.

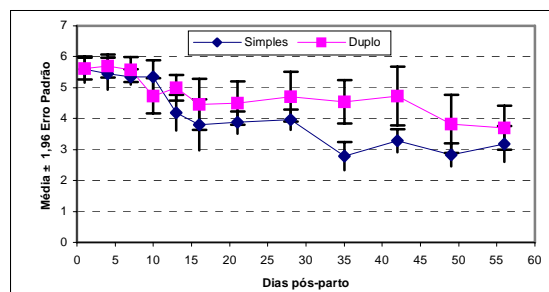


Gráfico-1: Profundidade uterina entre tipos de parto

Utilizando-se da mesma metodologia ultrassonográfica para determinar a redução do tamanho uterino, Godfrey et al. (1998), com ovelhas St. Croix White, e Hauser e Bostedt (2002) com ovelhas alemãs mestiças encontraram estabilização da involução uterina próxima aos 28 e 17 dias pós-parto respectivamente. Utilizando outra metodologia, Akinbami et al. (1996), observaram em ovelhas mestiças Hampshire x Suffolk 66% de perda embrionária após inseminação artificial naquelas que haviam gestado dois cordeiros anteriormente, atribuindo esta perda a involução uterina mais lenta no caso de gestação gemelar. A manutenção da gestação é dependente de involução uterina adequada, como observado por Mckelvey et al. (1989), que consideram que a involução completa do útero após o parto ocorre em torno dos 41 dias, em ovelhas da raça Finn Dorset.

Referências bibliográficas

Hauser, B.; Bostedt, H. Ultrasonographic observations of uterine regression in the ewe under different obstetrical conditions. *J. Vet. Med.*, v. 49, p. 511-516, 2002.

Palavras-chave: involução uterina, ultra-som, ovelha, Santa Inês.

Keywords: uterine involution, ultra-sound, ewes, Santa Inês.

Agradecimentos: ao apoio financeiro da FAPEMIG e do CNPq.



Desempenho reprodutivo de caprinos machos alimentados com dieta contendo grãos de linhaça

Reproductive performance of male goats fed with diet containing whole linseed

E.J. Fuck, G.V. Moraes, S.A. Headley, M. Mataveli

Departamento de Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá/PR
E-mail: egonfuck@sosanimal.com.br

Introdução

Trabalhos com bovinos, ovinos e suínos (Raes et al., 2004), demonstraram que a adição de lipídeos, na ração, causa mudanças metabólicas e hormonais nos animais. O mecanismo fisiológico exato ainda permanece incerto, mas sabe-se que a adição de ácidos graxos poliinsaturados (AGPI) aumenta as concentrações sanguíneas do hormônio do crescimento, insulina, colesterol HDL, triglicérides e progesterona, influenciando os processos reprodutivos (Stanko et al., 1997; Thomas et al., 1997). Objetivou-se avaliar os efeitos dos grãos de linhaça (ricos em ômega 3) adicionados na dieta de caprinos sobre a performance reprodutiva.

Material e Métodos

Os animais das raças Boer e Anglonubiano foram divididos, aleatoriamente, em dois grupos, confinados e submetidos às dietas isoenergética e isoprotéicas com 9,5% de grãos de linhaça e uma dieta controle. Os animais foram acompanhados dos 4 aos 12 meses de idade, avaliando-se o desenvolvimento testicular e histomorfometria, espermatogênese, teor de testosterona sanguínea e fertilidade. As análises estatísticas foram realizadas pela metodologia de BootStrap em um modelo experimental inteiramente casualizado. Para avaliar a espermatogênese, mensurou-se, nas coletas de sêmen, o volume, turbilhão, motilidade progressiva, vigor, pH, concentração de espermatozoides por mm³ de sêmen, patologias primárias e secundárias e os teores sanguíneos de testosterona. Para avaliar a fertilidade utilizou-se um “pool” de sêmen fresco dos melhores ejaculados de cada grupo e inseminaram-se 15 fêmeas para cada grupo, previamente sincronizadas. Para analisar a histomorfometria dos testículos, os animais foram castrados e os testículos, depois de processados, analisados por microscopia para avaliar o número de células de Leydig por testículo e por grama de testículo

Resultados e Discussão

O desenvolvimento testicular avaliado pelo perímetro escrotal inicial, perímetro escrotal final, peso testicular, espermatogênese, fertilidade e histomorfometria e não apresentaram diferenças estatísticas ($P>0,05$) entre os tratamentos. Com isto, concluiu-se, nas condições que o experimento foi realizado, que:

a) A inclusão de 9,5 % de grãos de linhaça na matéria seca da dieta não influenciou o desenvolvimento e a histomorfometria testicular, a espermatogênese, os níveis sanguíneos de testosterona e na taxa de prenhez; b) A inclusão de grãos de linhaça não proporcionou alterações reprodutivas que justifiquem a indicação para uso comercial.

Referências bibliográficas

- Davison, A. C.; Hinkley, D.V.** Bootstrap methods and their applications. Cambridge, New York: Cambridge University Press, 1997. 134 p.
- Stanko, R.L.; Fajerson, P.; Carver, L.A.** Follicular growth and metabolic changes in beef heifers fed incremental amounts of polyunsaturated fat. *Journal of Animal Science*, v. 75, p. 223, 1997.
- Raes, K.; Smet, S.DE ; Demeyer, D.** Effect of dietary fatty acids on incorporation of long chain polyunsaturated fatty acids and conjugated linoleic acid in lamb, beef and pork meat: a review. *Animal Feed Science Technological*, v. 112, p. 199-221, 2004.
- Thomas, M.G.; Bao, B.; Willians, G.L.** Dietary fats varying in their fatty acid composition differentially influence growth in cows fed isoenergetic diets. *Journal of Animal Science*, v. 75, p. 12-25, 1997.

Palavras-chave: espermatogênese, reprodução animal, testosterona, sêmen, ômega-3.

Keywords: animal reproduction, goat, omega-3, pregnancy rate, semen, spermatogenesis.



Efeito da época de coleta do sêmen sobre a taxa de degradação de motilidade do sêmen caprino resfriado a 4 °C durante 48 horas em clima tropical.

Season effect of semen collection on the motility degradation rate of goat semen cooled at 4 °C for 48 hours on tropical environment

G.V. Aguiar¹, C.K.S.Celes², I.C.S. Lima², A.C.N. Campos³, A.A. Araújo³

¹Doutorando do PDIZ (UFC/UFPB/UFRPE); 2 – Aluno de graduação em Zootecnia/UFC;

³Professor do PDIZ (UFC/UFPB/UFRPE)

E-mail: gyselleaguiar@yahoo.com.br

Introdução

Em clima temperado alterações significativas na qualidade do sêmen são atribuídas ao efeito do fotoperíodo quando dos dias longos, recomendando-se que a conservação dos ejaculados seja realizada durante a estação reprodutiva nos dias curtos, para posterior utilização na estação não reprodutiva (Evans e Maxwell, 1990). Entretanto, em regiões tropicais (aproximadamente 3°S), especificamente o Nordeste do Brasil, têm-se atribuído à alimentação, a variação da qualidade seminal de bodes (Pinheiro *et al.*, 1996). O objetivo deste trabalho foi verificar o efeito da época de coleta sobre a taxa de degradação da motilidade espermática (TDM) do sêmen caprino resfriado a 4 °C, conservados durante 48h, em região de clima tropical.

Material e Métodos

Os ejaculados de 17 bodes sem padrão racial definido (SPRD) foram coletados durante as épocas chuvosa (fevereiro a maio/2006) e seca (agosto a novembro/2006), em vagina artificial (6 coletas/animal/época). Após a coleta o sêmen foi diluído a uma concentração final de 200×10^6 spz/ml em solução a base de água de coco acrescido de gema de ovo, em seguida foi resfriado a 4 °C e conservado por 48h. Amostras do sêmen foram avaliadas às 2, 24 e 48h após o resfriamento, sendo submetido ao teste de termorresistência (TTR) em banho-maria a 38 °C, onde os parâmetros de vigor e motilidade foram mensurados aos 5, 60 e 120 minutos de incubação. A TDM foi calculada com base no vigor aos 5 e 120 minutos. Os dados foram submetidos à ANOVA (procedimento GLM/SAS[®] 2000). As médias de motilidade, vigor e TDM foram comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Resultados e Discussão

Vários fatores podem influenciar a qualidade do ejaculado, interferindo na conservação do mesmo sob resfriamento. Catunda (2007) demonstrou haver variação na composição do plasma seminal (PS) de bode entre as épocas chuvosa e seca. Por outro lado, os resultados deste trabalho mostram que a época de coleta influenciou a motilidade, vigor e TDM espermáticas (tabela 1) *in vitro* do sêmen resfriado a 4° C, durante 48h. Isso, provavelmente, devido às variações das concentrações dos componentes bioquímicos encontrados no PS (Catunda, 2007). Contudo, estudos mais aprofundados de correlação entre a bioquímica do plasma seminal e desempenho espermático devem ser conduzidos.

Tabela 1 – Parâmetros do sêmen resfriado (4 °C) de bodes, durante 48 horas, nas épocas chuvosa e seca.

	Chuvosa	Seca
Motilidade (%)	57,44±13,18 ^a	49,79±22,25 ^b
Vigor (0-5)	2,88±2,28 ^a	2,06±0,99 ^b
TDM (%)	28,36±15,04 ^a	52,93±25,27 ^b

* Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre as médias

Referências bibliográficas

- Pinheiro, R. R., Malhado, R., Pinheiro, A. A., Simplicio, A. A. Parâmetros bioquímicos do plasma seminal de 3 tipos raciais de caprinos do Nordeste do Brasil. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 33, Fortaleza, Anais ... Fortaleza, p. 416-418. 1996.
- Evans, G., Maxwell, W.M.C. Inseminación artificial de ovejas y cabras. Editorial ACRIBIA S.A.Zaragoza, España, 187p. 1990.
- Catunda, A.G.V. Composição bioquímica do plasma seminal de caprinos sem padrão racial definido (SPRD) em clima tropical úmido. Dissertação Mestrado, Universidade Federal do Ceará (Zootecnia). Departamento de Zootecnia, Fortaleza, 2007.

Palavras-chave: Sêmen resfriado, bode, época do ano.

Keywords: Cooled semen, buck, season of the year.



Comparação de técnicas de avaliação da morfologia espermática em cabritos Saanen

Comparison of techniques of spermatid morphological evaluation of Saanen kid goats

M.E.F. Oliveira¹, R.M. Ferreira¹, S.F. Souza², M.F. Cordeiro¹, D.S. Melo¹, H. Ayres³, P.H. Franceschini¹,
W.R.R. Vicente¹, R.G. Costa², K.T. Resende¹, I.A.M.A. Teixeira¹

¹UNESP/FCAV, Jaboticabal-SP, Brasil, ²UFPB/CCA, Areia-PB, Brasil, ³USP/FMVZ, São Paulo-SP, Brasil
E-mail: m_emiliafraoli@yahoo.com.br

Introdução

A avaliação morfológica dos espermatozoides é de extrema importância para investigar sua competência morfofuncional. Técnicas de coloração, como o Tripán Blue associado ao Giemsa são empregadas em diversas espécies, visando observar patologias espermáticas, em especial por permitir o estudo minucioso da integridade acrossomal (KOVACS, 1992). Já técnicas de contraste de fase permitem destacar diversas outras patologias, como as gotas citoplasmáticas e a formação de vacúolos, sendo, no entanto, uma técnica que demanda a utilização de microscópio especializado e técnico treinado, o que resulta no encarecimento de sua aplicação. Desta forma, o presente estudo teve como objetivo a comparação de duas diferentes técnicas para avaliação morfológica dos espermatozoides de ejaculados de caprinos jovens da raça Saanen em início de puberdade: a coloração de Tripán Blue associada ao Giemsa e o contraste de fase.

Material e Métodos

O experimento foi realizado no Setor de Caprinocultura e no Laboratório de Reprodução Animal da Universidade Estadual Paulista, Câmpus de Jaboticabal, durante o período de agosto de 2006 a março de 2007. Foram avaliados oito caprinos machos da raça Saanen (totalizando 58 avaliações), desde o desbridamento do pênis (liberação do pênis do prepúcio e do processo uretral da glândula) até a obtenção de ejaculados normais. Quinzenalmente, os animais passaram por coleta de sêmen com eletroejaculador, para avaliação da morfologia espermática por dois diferentes métodos: contraste de fase e coloração com Tripán Blue associado ao Giemsa. Foram avaliados os defeitos maiores (agrupados em patologias de acrossoma, de cabeça, de peça intermediária, de cauda e gota citoplasmática proximal) e os defeitos menores (agrupados em patologias de cabeça, de cauda e implantação e gota citoplasmática distal). Todas as avaliações foram realizadas pelo mesmo médico veterinário. A comparação entre a morfologia espermática obtida em cada método de avaliação foi avaliada por análise de correlação de Pearson, utilizando-se o programa Statistical Analysis Systems (SAS, 2000).

Resultados e Discussão

Foi observada uma elevada correlação entre os métodos de contraste de fase e Tripán Blue associado ao Giemsa, tanto para a avaliação de defeitos maiores gerais ($R = 0,98$; $P < 0,0001$), quanto para as patologias agrupadas dentre esses defeitos: lesão de acrossoma ($R = 0,61$), patologias de cabeça ($R = 0,96$), gota citoplasmática proximal ($R = 0,68$) e patologias de cauda ($R = 0,87$). Dentre os defeitos menores, apenas foi observada correlação para patologias de cabeça ($R = 0,61$). Portanto, pode-se concluir que ambas as técnicas são eficientes e altamente correlacionadas quando utilizadas na avaliação de defeitos maiores (totais ou isolados) e defeitos menores relacionados a patologias de cabeça dos espermatozoides.

Referências bibliográficas

Kovács, A., Foote, R. H. Viability and acrosome staining of bull, boar and rabbit spermatozoa. *Biotechnic histochem.* 67 (3): 119-124, 1992.

Palavras-chave: caprino, exame andrológico, morfologia espermática.

Keywords: goat, andrologic examination, spermatid morphology.



Avaliação histopatológica de testículo de caprinos submetidos à insulação escrotal e suplementados com Selênio + Vitamina E

Histopathological evaluation of goat testis submitted to scrotal insulation and supplemented with Selenium and Vitamin E

G.C. Xavier¹, A.C.M. Maymone², S.M. de Torres², P.C. Soares¹, V.A. Silva Jr¹, M.M.P. Guerra¹

¹Programa de Pós-graduação em Ciência Veterinária (PPGCV), UFRPE

²Graduação em Medicina Veterinária, DMV/UFRPE

Email: gaudaxavier@bol.com.br

Introdução

Na espécie caprina não se tem informações sobre o efeito de temperaturas elevadas e suplementação alimentar com antioxidantes sobre a espermatogênese. A vitamina E e selênio são antioxidantes que impedem a formação de hidroxiperoxídeos e a subsequente peroxidação da glutathione-peroxidase, cuja produção é selênio dependente (Underwood e Suttle, 1999). Com base na utilização destes nutrientes na dieta de caprinos, objetivou-se induzir estresse térmico através de insulação escrotal e observar os efeitos da suplementação com antioxidantes sobre o processo espermatogênico.

Material e Métodos

Doze caprinos machos SRD (T1-controle, n=6; T2-tratado, n=6) foram submetidos à insulação da bolsa escrotal durante 18 dias conforme modelo utilizado por Florentino et al. (2003). Ao final da insulação escrotal, 3 animais de cada tratamento foram orquiectomizados e os testículos avaliados histopatologicamente. O mesmo procedimento foi realizado 42 dias após a retirada da insulação escrotal no restante dos animais. A suplementação com selevit E (selênio + vitamina E) decorreu nos animais do T2 durante todo experimento. Os fragmentos testiculares foram processados rotineiramente para inclusão em resina plástica e corados com azul de toluidina-borato de sódio. Os resultados foram avaliados através de análise descritiva.

Resultados e Discussão

Nos animais do T1, aos 18 dias de insulação foram observadas lesões compatíveis à degeneração caracterizada por apoptose e descamação de células germinativas, vacuolização das células de Sertoli, espessamento da membrana basal e degeneração de células de Leydig, corroborando com Florentino et al. (2003). Nos testículos de caprinos do T2 os achados foram bastante semelhantes aos descritos anteriormente, entretanto, identificou-se túbulos seminíferos com estágios do ciclo do epitélio seminífero. Quarenta e dois dias depois da insulação escrotal observou-se recuperação parcial do processo espermatogênico nos testículos dos animais do T1, porém constatou-se com frequência túbulos seminíferos atrofiados, células germinativas descamadas e degeneradas no lume tubular, vacuolização de células de Sertoli e espessamento de membrana basal. No T2 a espermatogênese, pelo menos qualitativamente, apresentava-se em estado de normalidade após o 42º dia de retirada da insulação escrotal. Conclui-se que a suplementação com selevit E não reverteu ou preveniu os efeitos do estresse térmico sobre o testículo, no entanto, acelerou o processo de recuperação da espermatogênese.

Referências Bibliográficas

Underwood, E.J.; Suttle, N.F. The mineral nutrition of livestock. 3 ed. London: Cab Publishing. 1999, 613p.
Florentino, C.M.; Reis, J.C.; Guerra, M.M.P. Efeito do tempo de insulação escrotal sobre os constituintes do plasma seminal de caprinos (*Capra hircus, L.*) sem raça definida. Rev. Ciênc. Vet. Tróp., v. 6, n.1, p. 39-45, 2003.

Palavras chaves: Selênio, vitamina E, insulação escrotal, espermatogênese, caprino

Keywords: Selenium, vitamin E, scrotal insulation, spermatogenesis, goat.



Efeito da fixação no teste hiposmótico com água destilada

Effect of formol saline fixation in hypoosmotic water test

P.P.N. Snoeck¹, M.I.V. Melo², M. Henry³

¹Curso de Medicina Veterinária UESC-BA, e-mail: paolasnoeck@uesc.br, ²Curso de Medicina Veterinária Betim – PUC MG, e-mail: bel.melo@terra.com.br, ³Curso de Medicina Veterinária UFMG – MG, e-mail: henrym@vet.ufmg.br

Introdução

O teste hiposmótico (HO) é um dos testes que visam avaliar a integridade da membrana plasmática do espermatozóide. Este não está totalmente padronizado para avaliar amostras de sêmen equino congelado e por isso ainda tem estimulado diversos pesquisadores a desenvolver estudos. As pesquisas atuais apontaram maior eficácia do teste HO utilizando água destilada quando a mesma foi comparada ao uso de soluções hiposmóticas a base de açúcares e eletrólitos. Após esta indicação, surgiram questionamentos quanto a melhor proporção sêmen:água destilada, melhor momento de leitura do percentual de formas reativas e por fim, do efeito da fixação do teste HO com água destilada em formol salino tamponado para posterior leitura. O objetivo deste trabalho foi estudar o efeito da fixação em formol salino tamponado, permitindo posterior leitura, quando utilizado o teste hiposmótico em água destilada, em diferentes tempos de incubação, para avaliação da integridade funcional da membrana plasmática de espermatozoides equinos pós-descongelamento.

Material e Métodos

Foram utilizadas 30 doses de sêmen congelado, provenientes de diferentes garanhões. Imediatamente após a descongelamento foram retiradas uma ou mais alíquotas de sêmen e procedeu-se à avaliação das motilidades total e progressiva, e vigor espermático. Foi retirada amostra de sêmen para morfologia espermática. Duas alíquotas de sêmen de cada amostra foram acrescidas de água destilada na proporção 1:15 e foram incubadas por 10 e 15 minutos em banho-maria a 37° C. Após o período de incubação, uma amostra foi avaliada, imediatamente, quanto ao percentual de espermatozoides reativos e a outra foi fixada em formol salino tamponado para posterior leitura. Procedeu-se à leitura conforme Melo e Henry (1999). As médias foram comparadas pelo teste “t de Student” ao nível de probabilidade de 5%.

Resultados e Discussão

Os valores percentuais de espermatozoides reativos ao teste HO, após incubação em diferentes tempos e leitura com e sem fixação em formol salina tamponada pós-incubação não diferiram entre si ($P>0,05$) (Tab.1).

Tabela 1. Percentual de espermatozoides reativos no protocolo com água destilada na proporção 1:15.

Efeito da fixação em formol salina	Tempo de Incubação (minutos)	
	10	15
Amostras fixadas	15,7 ± 14,7	17,2 ± 14,6
Amostras não fixadas	11,2 ± 12,9	13,1 ± 13,9

As pesquisas têm mostrado que o tempo de incubação não influi no resultado do percentual de formas reativas após o teste HO, mesmo quando soluções hiposmóticas são substituídas pela água destilada. Pode-se destacar, então, a vantagem de cada laboratório de tecnologia de sêmen poder escolher o tempo de incubação mais apropriada às suas condições de trabalho, porém, os mesmos devem cuidar para que o teste seja realizado por um período mínimo de 10' em banho-maria. Foi verificado que o teste HO com água destilada pode ser fixado em formol salino sem alterar o percentual de formas reativas. Entretanto, a amplitude observada sugere, para ser conclusivo, que a amostra seja aumentada.

Referências bibliográficas

Melo MIV, Henry M. Teste hiposmótico na avaliação de sêmen equino. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.51, n.1, p.71-78, 1999.

Palavras-chave: Formol, fixação, água destilada, teste hiposmótico.

Keywords: Formol, fixation, water test, hypoosmotic test.



Sincronização do estro e da ovulação de éguas tratadas com Norgestomet, Valerato de Estradiol e Benzoato de Estradiol

Synchronization of Estrus and Ovulation of Mares treated with Norgestomet, Estradiol Valerate and Estradiol Benzoate

J.A. Carvalho, E.C.F. Sousa, C.T.G. Alvares, A.J. Del Rei, C.C. Bartolomeu

Universidade Estadual de Santa Cruz; Universidade Federal Rural de Pernambuco
E-mail: jacar@uesc.br

Introdução

A utilização de biotecnologias reprodutivas são necessárias para se alcançar alto potencial genético nos sistemas de produção equina. A sincronização do estro e da ovulação em um grupo de fêmeas permite que se estime o momento do estro com razoável precisão (JAINUDEEN, WAHID e HAFEZ, 2004). O trabalho teve como objetivo avaliar o efeito do Norgestomet no desenvolvimento folicular durante a utilização do protocolo de sincronização de estro, determinando o intervalo entre o final do tratamento e a exibição do estro e ovulação nas éguas.

Material e Métodos

Foram utilizadas, em novembro de 2005, 10 fêmeas da espécie equina, clinicamente sadias e apresentando bom estado nutricional, com idade entre 3 e 5 anos e peso médio de 443 ± 32 Kg. No Grupo I, cinco éguas receberam implantes auriculares de Crestar® novo no dia zero (D0) do tratamento juntamente com a administração de 5mg de valerato de estradiol e 3mg de norgestomet por via intramuscular na tábua do pescoço. No dia sete (D7) do tratamento os implantes auriculares das cinco éguas foram retirados e no dia nove (D9) foi administrado 2mg de benzoato de estradiol em todas elas para estímulo da ovulação; No Grupo II, cinco éguas receberam a colocação de implantes auriculares Crestar® reutilizados no dia zero (D0) do tratamento juntamente com a administração de 3mg de benzoato de estradiol por via intramuscular na tábua do pescoço. No dia sete (D7) do tratamento as cinco éguas passaram pela retirada dos implantes auriculares juntamente com a administração imediata de 1 mL ($75\mu\text{g/mL}$) de prostaglandina (PGF-2 α) por via intramuscular na tábua do pescoço e no dia nove (D9) receberam a administração de 2mg de benzoato de estradiol para estímulo da ovulação.

Resultados e Discussão

No Grupo I, apenas três éguas responderam ao tratamento hormonal e não houve uma sincronização precisa das manifestações de estro ($48 \pm 17,0$ horas). O intervalo entre o final do tratamento e a ovulação foi de $73 \pm 11,6$ horas. No Grupo II, quatro éguas responderam ao tratamento e a sincronização das manifestações de estro foi mais concentrada ($37 \pm 6,9$ horas). O intervalo entre o final do tratamento e a ovulação foi de $64 \pm 11,0$ horas, para as éguas deste grupo. É possível que os resultados obtidos no Grupo I sejam em decorrência do protocolo de sincronização não administrar prostaglandina ao final do tratamento nas éguas, como no Grupo II, Como o agente luteolítico utilizado no Grupo I foi o valerato de estradiol, é possível que este não seja tão efetivo em éguas como o observado em vacas por ALMEIDA (2003) e, assim, não tenha provocado a lise de um possível corpo lúteo.

Referências bibliográficas

Jainudeen, M. R.; Wahid, H.; Hafez, E. S. E. Indução da ovulação, produção e transferência de embriões. In: HAFEZ, E. S. E. e HAFEZ, B. *Reprodução Animal*. 7^a ed. São Paulo: Manole, 2004. p. 409-434.
Almeida, A. B. Reutilização de implantes de norgestomet em vacas da raça Nelore. 2003. 76fDissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Universidade Estadual de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Pirassununga, 2003.

Palavras-chave: crestar, éguas, estro, fertilidade, protocolos.

Keywords: crestar, estrus, fertility, mare, protocols.



Fertilidade do sêmen congelado de jumentos da raça Pega em éguas

Fertility of frozen semen of the donkeys breed Pega in the mare

I.F. Canisso^{1*}, G.R. Carvalho¹, J.M. Silva Filho³, P.G. Ker¹, A.L. Rodrigues², E.C. Silva²

¹Setor de Equideocultura – Departamento de Zootecnia Universidade Federal de Viçosa.

²Departamento de Veterinária – Universidade Federal de Viçosa.

³Escola de Veterinária – Universidade Federal de Minas Gerais.

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

Introdução

Poucos têm sido os trabalhos com sêmen congelado de jumentos, e poucos são os que se preocupam em realizar teste de fertilidade como forma de se avaliar congelamento. No Brasil o primeiro trabalho de congelamento de sêmen de asininos foi de Viera et al., (1986), que obteve após 20 ciclos estrais de éguas 33% de fertilidade. Arruda et al., 1986 utilizaram 16 ciclos em éguas e obtiveram 44% de fertilidade. Trimeche et al., (1998) fez a inseminação de 26 jumentas, divididas em dois grupos, com e sem remoção do glicerol. No primeiro grupo não foi registrado a ocorrência de gestações, enquanto que no segundo grupo obteve oito gestações; Papa et al., (1999) realizaram a inseminação em três éguas, obtendo duas gestações. Oliveira, (2005) inseminou 53 jumentas com sêmen congelado, não obtendo gestações. Entretanto o mesmo sêmen testado em 10 éguas obteve quatro gestações. O objetivo deste trabalho foi de avaliar a fertilidade do sêmen congelado de jumentos da raça Pega em éguas.

Material e Métodos

Foram realizados 15 congelamentos de três reprodutores da raça Pega com idade média de 8 anos. O sêmen foi colhido com vagina artificial modelo Hannover, utilizando égua em estro. Após a coleta, feitas as avaliações dos parâmetros físicos, o sêmen foi diluído no meio de mínima contaminação Kenney et al (1975), e centrifugado a 650 g/15 minutos. Após desprezo do sobrenadante o pellet foi ressuscitado com dois diluidores de congelamento (Martim et al., 1979) e (Nagase e Niwa, 1964) modificado. A concentração espermática foi ajustada para 100 milhões de células/palheta de 0,5 mL. O sêmen foi resfriado, estabilizado e congelado segundo a metodologia de Fürst et al., (2004). O controle folicular foi realizado a intervalos de seis horas após a presença de folículos de 35 mm, com as inseminações realizadas após a ovulação no ápice do corno uterino ipsilateral, com auxílio de uma pipeta flexível, na dose de 300 milhões de espermatozoides viáveis. Sessenta éguas foram inseminadas e divididas simetricamente entre os jumentos e os dois diluidores. As análises estatísticas foram feitas com o programa SAEG versão 9.1, UFV.

Resultados e Discussão

A motilidade e vigor médio do sêmen fresco foram de 84,66%/4,06; para o sêmen congelado foram: 39,3%/3 e 38,33%/3, respectivamente para diluidor de (Martim et al., 1979) e diluidor de (Nagase e Niwa, 1964) modificado. A fertilidade foi de 50% e 53,3%; 46,15% e 43,33%; aos 13 e 25 dias respectivamente. Não foram observadas diferenças estatísticas para fertilidade e as motilidades pós descongelamento entre os diluidores.

Os resultados de fertilidade são inferiores aos de Papa et al., (1999) e superiores aos de Vieira et al., (1985), Arruda et al., (1986) e Oliveira, (2005), porém todos estes autores utilizaram reduzido número de inseminações, além das condições entre o presente e os demais experimentos serem muito diferentes. Os bons resultados observados com a metodologia empregada, com o diluidor de (Nagase e Niwa, 1964) modificado, propõe - se que este possa ser utilizado como um novo diluidor de congelamento para sêmen de jumentos.

Referências bibliográficas

- Oliveira, J.V. Estudo de metodologia para a criopreservação de sêmen de jumento (*Equus asinus*) por meio de testes laboratoriais e fertilidade. FMVZ – UNESP (dissertação), 2005, 110p.
- Fürst, R.; Carvalho, G.R.; Fürst, M.C.O.; Ruas, J.R.M.; Borges, A.M., Mafilli. Efeito do resfriamento do sêmen equino sobre sua congelabilidade Arq. Bras. Méd. Vet. Zootec., v.57, n5p.599-607, 2005.
- SAEG Sistemas para Análises Estatísticas. Versão 9.1. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa – Minas Gerais.
- Papa, F.O.; Meira, C.; Simon, J.J.; Ferreira, J.C.P.; Dell'Aqua Jr., J.A.; Leme, D.P. Pregnancies in mares using donkey (*Equus asinus*) frozen semen. Arq. Fac. Vet. UFRGS, Porto Alegre, v.27, p.262, 1999.
- Trimeche A.; Renard P.; Tainturier D. A procedure for Poitou jackass sperm cryopreservation. Theriogenology, v.50, p.793-06, 1998.
- Arruda, R.P., Vieira, R.C., Manzano, A. Inseminação artificial de equídeos com sêmen congelado em palhetas de 0,5 ml. In: Anais do XX Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária. Universidade Federal de Mato Grosso – Cuiabá – MT, p.181, 1986.
- Vieira, R. C.; Arruda, R.P., Manzano, A. Inseminação intercornual de equídeos com sêmen congelado em palhetas de 0,5 ml. In: Anais da XXII – Reunião Anual da SBZ - Balneário Camburiu, SC – p.298, 1985.

Palavra chave: jumento, fertilidade, sêmen, congelado, éguas, inseminação.

Key Words: Donkey, fertility, frozen, semen, mare, insemination.



Taxa de concepção de éguas cobertas após a ovulação e submetidas à avaliação do desenvolvimento folicular em intervalos de 12 ou 24 horas

Conception rate of mares bred after ovulation and submitted to evaluation of follicular development every 12 or 24 hours

F.A. Souza¹, A.M. Borges¹, M.S. Palhares¹, W.S. Viana², J.M. Silva Filho¹, J.R.M. Ruas³, G. Pugliesi¹, C.H. Oliveira¹, R. Rossi¹, B.C.M. Silva¹, A.L. Lima⁴, H.M. Aquino Neto¹

¹Escola de Veterinária – UFMG; ²Regimento de Cavalaria Alferes Tiradentes – MG; ³Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais; ⁴Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz - USP
E-mail: femedvet@yahoo.com.br

Introdução

A determinação do dia ou do momento da ovulação permite maximizar o uso do garanhão e propicia melhor manejo reprodutivo das éguas, principalmente naquelas mais susceptíveis à endometrite, por reduzir a quantidade de inseminações ou montas por ciclo estral (vanBuiten et al., 2003). Contudo, na espécie eqüina, a fase folicular é muito variável e inconsistente, o que torna difícil a determinação do final do estro, dificultando a predição do momento da ovulação (Ginther et al., 1972). Na ausência de controle folicular adequado, cobrições podem acontecer muito antes ou acima de 12 horas após a ovulação, período crítico da viabilidade do oócito (Hunter, 1990). O objetivo deste estudo foi avaliar a taxa de concepção de éguas cobertas dentro de, no máximo, 12 ou 24 horas após a ovulação.

Material e Métodos

Utilizou-se 84 ciclos estrais de 50 éguas mestiças, uniformizadas quanto à idade, escore de condição corporal e categoria reprodutiva (potras, éguas solteiras e com potro ao pé), distribuídas aleatoriamente entre dois intervalos de palpação: 24 (P1) e 12 horas (P2) e cobertas por dois garanhões da raça Brasileira de Hipismo: G1 (21 anos) e G2 (18 anos), segundo um esquema fatorial 2 x 2, em seus respectivos tratamentos: T1 (P1G1) - 17 éguas e 25 ciclos estrais; T2 (P2G1) - 20 éguas e 33 ciclos estrais; T3 (P1G2) - 12 éguas e 16 ciclos estrais e T4 (P2G2) - 10 éguas e 10 ciclos estrais. A detecção da ovulação foi realizada por palpação retal e todas as éguas foram cobertas por monta natural.

Resultados e Discussão

A taxa de gestação para o primeiro, segundo e terceiro ciclos estrais foram de: 29,41% (5/17) e 50,00% (4/8) para o grupo P1G1; 25,00% (5/20), 54,54% (6/11) e 100,00% (2/2) para o grupo P2G1; 41,66% (5/12) e 50,00% (2/4) para o grupo P1G2; e de 60,00% (6/10) para o grupo P2G2, respectivamente. A taxa de gestação total/ciclo, para cada um dos quatro tratamentos, foi de 36,0% (9/25), 39,40% (13/33), 43,75% (7/16) e 60,00% (6/10), respectivamente. A taxa de concepção por ciclo estral não diferiu ($p>0,05$) pelo teste do Qui-quadrado entre os grupos de intervalos de palpação retal e entre os garanhões, tanto dentro como entre os tratamentos. Assim, os dados foram reagrupados levando-se apenas em consideração a frequência de palpação retal, e obteve-se 39,02% (16/41) e 44,19% (19/43) de taxa de concepção/ciclo e 55,2% (16/29) e 63,3% (19/30) de taxa de concepção total para os intervalos de palpação de 24 e 12 horas, respectivamente. Desta forma, pôde-se constatar que coberturas realizadas após a ovulação, com controles foliculares a cada 24 horas, na espécie eqüina, mostram-se viáveis. Assim, estratégias de manejo de palpação retal, a cada 12 ou 24 horas, podem ser utilizadas como alternativa para assegurar bons índices de fertilidade, a partir de animais limitados para esta função.

Referências bibliográficas

- Ginther OJ, Whitmore H I, Squires MS.** Characteristics of estrus, diestrus and ovulation in mares and effects and nursing. *American Journal Veterinary Research*, v. 33, n. 10, p. 1935-1939, 1972.
- Hunter RHF.** Gamete lifespans in the mare's genital tract. *Equine Veterinary Journal*, v. 22, n. 6, p. 378-379, 1990.
- vanBuiten A, Westers P, Colenbrander B.** Male, female and management risk factors for non-return to service in Dutch mares. *Preventive Veterinary Medicine*, v. 61, n.1, p.17-26, 2003.

Palavras-chave: cobertura pós-ovulação, eqüinos, monta natural, taxa de concepção.

Keywords: conception rate, equine, natural breeding, post ovulation breeding.



Avaliação de diferentes concentrações espermáticas na inseminação artificial intra-uterina suína

Evaluation of different spermatic concentrations on the intrauterine artificial insemination in swine

A.L.N. Alvarenga, J. Miller, L.D.S. Murgas, D. Lima, G. Oberlender, D.M. Silva, T.S. Gaggini, M.G. Zangerônimo

Departamento de Medicina Veterinária – Universidade Federal de Lavras – Lavras - MG
E-mail: analuisaneves@hotmail.com

Introdução

Atualmente, mais de 50% do total de fêmeas em produção no mundo são inseminadas artificialmente. Esta técnica permite o aumento dos rendimentos dos reprodutores, o controle dos ejaculados e o melhoramento genético. Apesar de inúmeras vantagens, existem fatores que limitam a otimização desta técnica, como por exemplo, a necessidade de um número elevado de espermatozóides por dose. Para permitir reduções neste número, sem comprometer o desempenho reprodutivo subsequente, tem sido pesquisada com sucesso a deposição intra-uterina da dose inseminante (Bortolozzo et al., 2006). O objetivo deste trabalho foi avaliar o desempenho reprodutivo de fêmeas suínas após a inseminação artificial intra-uterina (IAIU), utilizando diferentes concentrações espermáticas.

Material e Métodos

O experimento foi realizado na granja suinícola comercial pertencente à Fazenda São Paulo, situada no município de Oliveira-MG. Foram utilizadas 48 fêmeas pluríparas da linhagem Cambourough 22 (Agroceres - PIC), com ordem de parto de dois a dez. Após o início do estro, as fêmeas foram distribuídas aleatoriamente em quatro tratamentos correspondentes às diferentes concentrações espermáticas: (A) 500 milhões, (B) 1 bilhão, (C) 1,5 bilhão e (D) 2 bilhões de sptz, em 20ml de diluente. Todas as doses inseminantes foram produzidas por *split sample*, sendo as doses utilizadas para os quatro tratamentos produzidas a partir dos mesmos ejaculados. As fêmeas receberam duas inseminações, nos tempos de 24 e 48 horas após a detecção do estro. As variáveis avaliadas foram taxas de retorno ao estro, aborto, taxa de parto e tamanho da leitegada. Os dados foram submetidos à análise de variância pelo SAS, sendo as médias comparadas pelo teste Tukey.

Resultados e Discussão

Foi possível a introdução do cateter no lúmen uterino em 97,9% das fêmeas submetidas à inseminação intra-uterina (47/48). Watson e Behan (2002) observaram que o cateter pôde ser introduzido sem dificuldades em 46 das 51 fêmeas (90,2%). As taxas de retorno ao estro foram iguais às taxas de aborto, sendo 0%, 8,3%, 8,3% e 6,3%, para os tratamentos A, B, C e D, respectivamente. A taxa de prenhez relatada por Dallanora (2004), utilizando a dose de 500 milhões de espermatozóides em 20 ml, foi relativamente baixa (77,3%) se comparada com a taxa de prenhez obtida neste trabalho (100%). As taxas de parto correspondentes aos quatro tratamentos não assumiram valores menores que 80%. Os valores obtidos utilizando as concentrações de 1 bilhão e 2 bilhões de sptz para tamanho da leitegada foram de 10,7 e 9,67 leitões, respectivamente. Os tratamentos A e C apresentaram o mesmo valor (11,1 leitões nascidos), porém não foram estatisticamente diferentes dos tratamentos B e D. Nas condições em que o experimento foi realizado, pode-se concluir que a concentração de 500 milhões de sptz em 20 ml, obteve desempenho reprodutivo similar, se comparado com as demais doses utilizadas, podendo portanto, ser utilizada no emprego da técnica de IAIU.

Referências bibliográficas

- Bortolozzo FP, Mellagi APG, Wentz I, Ravazzolo AP.** Mecanismos de proteção no útero de porcas no período pré e pós-cobertura e transporte espermático no trato genital feminino. In: III Congresso Latino Americano de Suinocultura, 2006, Foz do Iguaçu. Anais...Paulínia-SP:Animal World,2006,v.1,p.289-301.
- Dallanora D.** Desempenho reprodutivo de fêmeas suínas após a inseminação artificial intra-uterina ou tradicional. 2004. 53 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – UFRGS, Porto Alegre, 2004.
- Watson PF, Behan JR.** Intrauterine insemination of sows with reduced sperm numbers: results of a commercially based field trial. *Theriogenology*, v.57, p.1683-1693, 2002.

Palavras-chave: inseminação intra-uterina, desempenho reprodutivo, número de espermatozóides/dose
Keywords: intrauterine insemination, reproductive performance, sperm cell dose.



Efeito da concentração espermática e do tempo de incubação na motilidade, vigor e morfologia de espermatozóides suínos

Effect of sperm concentration and incubation time on motility, vigor and morphology of swine sperm

D. Lima, L.D.S. Murgas, J. Miller, A.L.N. Alvarenga, M.G. Zangeronimo, A.C. Silva, R.S. Araujo

Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Lavras, Lavras – MG
E-mail: danivet2003@yahoo.com.br

Introdução

A inseminação artificial tradicional (intracervical) caracteriza-se pelo uso de doses inseminantes com concentração de 2 a 4 bilhões de espermatozóides, diluídos em 80 a 100 mL de diluente. Pesquisas com inseminação artificial intra-uterina (IAU) confirmam a possibilidade de se reduzir o número de espermatozóides, devido à deposição da dose inseminante na bifurcação dos cornos uterinos (Dallanora, 2004). O objetivo do trabalho foi avaliar a motilidade, o vigor e a morfologia espermáticos de quatro concentrações utilizadas na inseminação artificial intra-uterina.

Material e Métodos

Foram utilizados oito reprodutores suínos da genética Agrocerec Pic, pertencentes à Fazenda São Paulo, localizada em Oliveira (MG). As colheitas de sêmen foram realizadas utilizando-se o método da mão enluvada e apenas a fração rica em espermatozóides foi coletada. O sêmen foi conduzido ao laboratório, para realização das análises macroscópicas: volume, odor, coloração, e microscópicas: concentração, motilidade (%), vigor e morfologia espermática (%). Posteriormente, diluiu-se o ejaculado nas concentrações espermáticas de 500 milhões, 1,0, 1,5 e 2,0 bilhões, em solução de BTS, obtendo-se 20 ml por dose. As doses foram mantidas a temperatura ambiente durante 2 horas e, a seguir, conservadas em estufa (17°C). O sêmen foi avaliado quanto a motilidade, vigor e morfologia espermática, nos tempos zero (*in natura*), 2 e 24 horas após a diluição. Os dados foram submetidos à análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste Tukey, utilizando-se o programa Statistical Analysis System (SAS, 1995).

Resultados e Discussão

Os valores médios da motilidade, vigor e morfologia espermáticos no sêmen suíno estão apresentados na tabela 1. Concluiu-se, que o sêmen diluído nas diferentes concentrações em volume de 20 ml apresentou redução progressiva da qualidade no processo de resfriamento e armazenamento.

Tabela 1: Valores médios de motilidade, vigor e morfologia de espermatozóides de suínos de acordo com a concentração espermática e o tempo de incubação

Parâmetros seminais	Sêmen <i>in natura</i>	Tempo (horas)	Concentração ($\times 10^9$ spzt/dose inseminante)				Média	CV (%)
			0,5	1,0	1,5	2,0		
Motilidade espermática (%)	83,8	2	56,9Aa*	70,0Ab*	74,4Ab*	74,4Ab*	68,9	9,0
		24	39,9Ba*	60,3 Bb*	63,5 Bb*	65,6 Bb*	57,3	
Vigor espermático (0-5)	3,0	2	2,1*	2,3*	2,6*	2,5*	2,4	8,9
		24	1,8*	1,8*	1,9*	2,1*	1,9	
Morfologia espermática(%) ¹	4,3	2	7,4*	9,0*	4,9*	6,5*	6,9	16,1
		24	7,7*	7,1*	7,9*	7,6*	7,6	

Médias seguidas de diferentes letras minúsculas na linha diferem pelo teste Tukey ($P < 0,05$). Médias seguidas de diferentes letras maiúsculas na coluna diferem pelo teste F ($P < 0,05$). Médias seguidas de diferentes letras minúsculas na coluna diferem pelo teste Tukey ($P < 0,05$). ¹ Não houve diferenças pelo teste F ($P > 0,05$) * Médias diferem do sêmen *in natura* pelo teste Dunnet ($P < 0,05$)

Referências Bibliográficas

- Bortolozzo, F.P.; Wentz, I.; Dallanora, D.** Situação atual da inseminação artificial em suínos. *Acta Scientiae Veterinariae*, Porto Alegre, v. 33, n. 1, p. 17-32, 2005.
- Dallanora, D.** Desempenho reprodutivo de fêmeas suínas após a inseminação artificial intra-uterina ou tradicional. 2004. 53 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- SAS.** SAS/STAT Software. Guide for personal computers. Cary, 1995.

Palavras-chave: inseminação artificial intra-uterina, sêmen, suíno.

Keywords: intrauterine artificial insemination, semen, swine.



Performance characteristics of the sperm quality analyzer for porcine (SQA-VP)

U. Shalit, L. Rabinovitch, S. Greenberg

Medical Electronic Systems www.mes-ltd.com

Introduction

Preparing superior quality boar semen samples for artificial insemination requires adherence to a number of factors: Quick throughput testing samples from many boars; accurate analysis of basic semen parameters; precise division of the fresh samples and assurance that the final product performs to predefined quality control standards. One factor, time pressure, becomes a critical element because of the biological nature of porcine semen, the fact that freezing is not an option and once samples are prepared for artificial insemination using extenders the life of the sperm is limited.

All of these requirements: Tight time constraints; high throughput; accurate analysis; precise sample allocation and quality control assurance can be met if an automated semen analysis/dosing/quality control system is implemented. In the porcine industry today, laboratories address only some elements of the process by assessing semen microscopically, spectrophotometrically or using computer assisted technology. The Sperm Quality Analyzer for Porcine (SQA-Vp) and P-Sperm software perform a 45-second quantitative evaluation of both fresh and extended (AI doses) boar semen concentration, motility, motility grading, motile sperm concentration and normal morphology. The objective of this study was to determine if the automated SQA-Vp could meet the requirements of a boar stud facility. The performance of the SQA-Vp was compared to manual assessment and dose preparation.

Material and Methods

An evaluation of the SQA-Vp was conducted at Lahav laboratory in Israel. Fresh semen samples were collected according to the laboratory protocol. Semen was extended and prepared for artificial insemination based on the SQA-Vp and P-Sperm on-screen instructions. Manual sperm concentration was assessed with a Makler counting chamber based on the manufacturer's instructions. Manual motility was assessed under the microscope using a standard slide and Manual morphology was read under the microscope after preparing a stained slide. A total of 58 fresh and extended boar semen samples were assessed in parallel using the automated SQA-Vp vs. a microscope based on WHO'99 guidelines to establish: Precision: Duplicate measurements were run on the SQA-Vp to determine the intra-device Coefficients of Variation (CV); Analytical accuracy: Correlation Coefficients and Passing & Bablok regression plots were utilized; Clinical accuracy: was evaluated by Sensitivity and Specificity that were established using cutoffs for semen parameters assessed on the SQA-Vp vs. manual method.

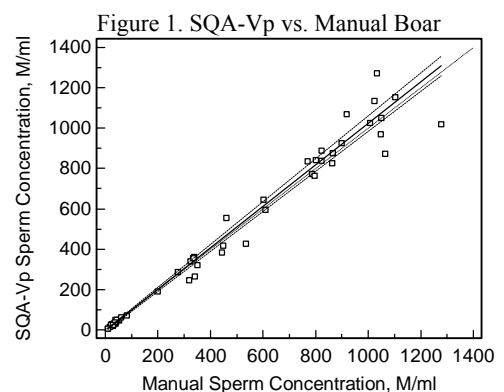
Results and Discussion

The mean values were very close as demonstrated by regression Passing & Bablok statistics. No significant deviation from linearity ($P > 0.10$) was found and the slopes were close to 1.0 for all semen values assessed (Figure 1 represents a regression graph for Sperm Concentration). A high degree of analytical accuracy was demonstrated with no systematic deviation between the automated and manual methods. It was also found that the SQA-Vp coefficients of variation are $\leq 4.0\%$ (high precision). The correlation of the SQA-Vp automated to manual results and clinical accuracy were quite high also (Table 1).

Conclusions

Table 1: SQA-Vp Performance Characteristics Sperm Concentration

Semen Parameter	Precision: CV, %	Correlation to manual method	Clinical Accuracy	
			Sensitivity, %	Specificity, %
Sperm Concentration	2.1	0.99	91.7	95.2
Motility	4.0	0.83	80.0	79.0
Morphology	3.6	0.71	66.7	84.0



1. The SQA-Vp is a fast, precise and accurate automated system that can be effectively used for assessing and dosing boar semen. The P-Sperm software is logical and easy to use and provides and enhances throughput when compared to manual methods.
2. Extended boar semen samples prepared for AI doses can be objectively checked for QC using the SQA-Vp system.

Keywords: SQA-Vp, Sperm Quality Analyzer, Boar Semen, P-Sperm.

Sperm quality analyzer for turkeys (SQA-Vt) sorting and AI dosing applications

S. Greenberg, U. Shalit, L. Rabinovitch

Medical Electronic Systems www.mes-ltd.com

Introduction

Commercial turkey breeding relies on pooling semen from multiple toms. It is generally assumed that the semen from each tom is of an acceptable quality and that all toms are equally fecund. However, when DNA fingerprinting was used to determine the paternity efficiency of seven or more toms after pooling their ejaculates, it was found that 18 of 26 males produced very few, if any, offspring (A. M. Donoghue, 1999 Poultry Science 78:437–443). In light of these findings, objective and accurate turkey semen analysis for tom selection (sorting) and artificial insemination (AI) dose preparation becomes a very important issue. The Sperm Quality Analyzer for turkeys (SQA-Vt) and T-Sperm software is an automated, objective system that analyzes the semen of an individual tom or pooled specimens in order to provide on-line sorting and dosing information. Histograms can be run on the flock to assist with tom selection. The SQA-Vt performs a 45-second quantitative evaluation of total sperm concentration, percent motility and motile sperm concentration. The objective of this study was to evaluate the performance of the SQA-Vt compared to manual methods.

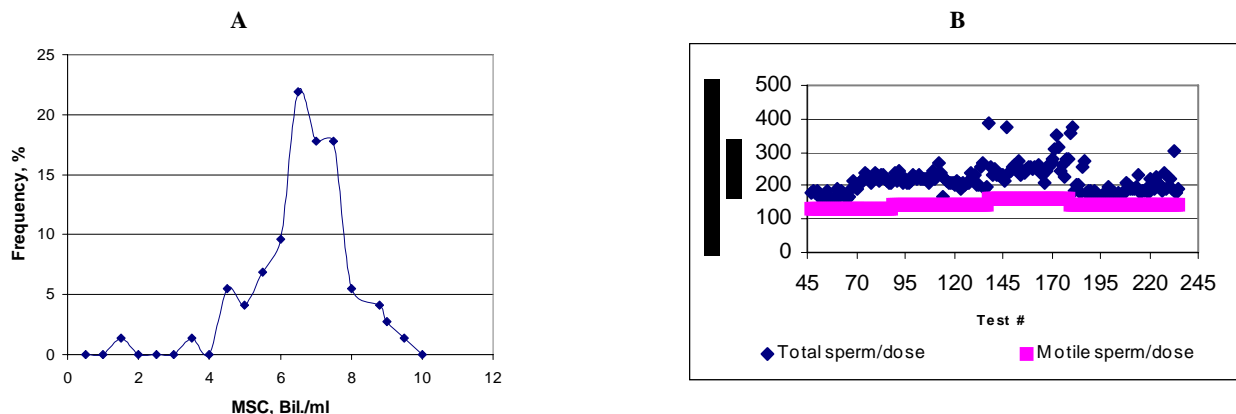
Material and Methods

The study was conducted at Ramit turkey facility and at the Medical Electronic Systems laboratory in Israel. The accuracy of the SQA-Vt was established in “live-dead” semen experiments. The “live-dead” assessment was conducted with pooled fresh turkey semen which was divided into two aliquots. The first aliquot was intact (“live”) and the second aliquot was treated with liquid nitrogen (“dead”). Samples were prepared with varying proportions of “live-to-dead” spermatozoa while maintaining a constant sperm concentration (varying only motile cell concentration and % motility). The samples were tested in parallel on the SQA-Vt and the microscope. Results were plotted. Linear trend lines were established for motility vs. the “live/dead” sperm ratio. In the next experiment, toms were sorted based on the SQA-Vt reported motile cell concentration (MSC) for each individual tom. Ten percent (10%) of toms having the lowest MSC were disqualified as the goal was to evaluate the impact of using pooled semen from the upper 90% of toms for artificial insemination of females. In order to insure standardized dosing, AI samples were generated according to the SQA-Vt onscreen instructions for dose preparation based on MSC rather than volumetric dilution.

Results and Discussion

Figure 1 A demonstrates the vast variability of MSC in the individual tom ejaculates. It is seen from the graph that motile sperm concentration is normally distributed with a maximum value of about 6.5 Bil./ml, corresponding to the physiological range. The distribution demonstrated by Figure 1 A suggests that efficiencies could be gained from sorting the low-end semen quality producers and utilizing the resulting higher quality biological material. Therefore, 10% of the low-end males were withdrawn from the experimental group. Figure 1 B demonstrates consistency of doses prepared based on MSC targets using the SQA-Vt compared to the inconsistent nature of dosing based on total sperm concentration.

Figure 1. MSC distribution in individual tom ejaculates (A) and number of total and motile sperm cells in the AI doses (B) in the experimental group of toms after sorting.



Conclusions

1. The SQA-Vt is an effective automated system for sorting toms and for preparing consistent artificial insemination doses based on total or motile sperm concentration.
2. Use of the SQA-Vt for preparing AI doses decreases the motile sperm per dose variability.

Keywords: SQA-Vt, Sperm Quality Analyzer, Turkey Semen.



Pregnancy termination in bitches with a high dose of the GnRH antagonist, acyline

Interrupción de la preñez en la perra con alta dosis del antagonista de GnRH, acyline

P. Blanco, A. Rube, M. Tórtora, R Rodriguez, Y. Corrada, D. Arias, C. Gobello

Faculty of Veterinary Medicine, National University of La Plata, Argentina

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

Introduction

GnRH antagonists competitively and immediately block GnRH receptors sites at the pituitary gland. Circulating gonadotrophins and gonadal steroids decline to very low concentrations within 2 hours of a single administration of antagonists (Vickery et al., 1989). GnRH antagonists are particularly useful when an immediate inhibitory effect on the gonadal axis is required. In female dogs, a practical reproductive situation that usually requires a rapid intervention is unwanted pregnancy termination (Gobello 2006). Safe, efficient, single dose abortive drugs have not been developed in dogs yet. The objective of this study was test the efficacy and safety of a high dose of the GnRH antagonist, acyline, on canine pregnancy termination in bitches. Additionally, progesterone (P4) serum concentrations before and after treatment were described.

Materials and Methods

Twelve pregnant (30 to 35 days from first mating) bitches were randomly assigned to one of the following pharmacological protocols: acyline (NIH, USA) 330µg/kg sc (ACY; n = 7) or placebo (PLA; n = 5) which were administered the corresponding equal volume of bacteriostatic water sc. The animals were followed up (behavioral changes, vulvar discharge, abortion and local or systemic side effects) daily during 15 days. Blood samples for P4 (Coat-A-Count, DPC®, Los Angeles, USA) serum determinations were collected by peripheral venipuncture before and on days 2, 5, 7 and 14 after treatments. Pregnancy termination was confirmed by ultrasound monitoring on days 8 and 12 or whenever there were clinical suspicion of interruption.

Progesterone serum concentrations and days to pregnancy termination of the different groups were compared by PROC GLM (SAS®). The frequency of bitches achieving pregnancy termination and/or side effects were analyzed by PROC FREQ (SAS®).

Results and Discussion

Significant differences were found for clinical and endocrine effects of treatments ($P < 0.05$). All ACY bitches interrupted their pregnancy by abortion 2 to 12 days after treatment ($LSM \pm SEM 5.1 \pm 1.4$ days). In PLA animals, gestation progressed normally up to the end of the study. None of the bitches presented local nor systemic undesirable effects related to the treatments ($P > 0.05$). Progesterone serum concentrations significantly diminished in the ACY group but not in the PLA ($P < 0.05$). The decreasing rate varied among animals and was related to time of abortion. In all the cases pregnancy termination was preceded or accompanied by a fall of P4 ($< 2\text{ng/mL}$), then P4 remained basal until the end of the study in all the cases.

It was concluded that, in these bitches, acyline safely terminated mid pregnancy decreasing P4 serum concentrations. The outcome of this study identifies the new GnRH antagonists as promising rapid, efficacious and safe drugs for canine reproduction control.

References

- Gobello C.** New GnRH analogs in canine reproduction: A review. *Anim Reprod Sci.* (in press, 2006)
Vickery BH, Mc Rae GI, Goodpasture JC, Sanders LM. 1989. Use of Potent LHRH Analogues for Chronic Contraception and Pregnancy Termination in dogs. *J Reprod Fertil.* 39:175-187, 1989.

Palabras-claves: Perra, aborto, antagonista de GnRH, acyline.

Esterilização de cães com injeção intratesticular de solução à base de zinco – Efeito sobre a concentração de testosterona

Sterilization of dogs with intratesticular injection of a zinc-based solution – Effect on testosterone concentration

E.C.S. Oliveira¹, M.R. Moura², V.A. Silva Jr¹, M.J.C. Sá³, R.H. Douglas⁴, A.P. Marques Jr²

¹UFRPE, Recife-PE. ²EV-UFGM, Belo Horizonte-MG. ³UFMG-CSTR-UAMV, Patos-PB. ⁴B.E.T.Labs, Lexington-Kentucky, USA. E-mail: ecso21@uol.com.br

Introdução

A castração do macho é importante não apenas para o controle de coberturas indesejadas, mas também por promover redução da concentração de andrógenos, o que contribui para a diminuição de alterações andrógeno-dependentes e alterações de comportamento (demarcação pela urina, monta, agressividade). Recentemente, um novo agente esclerosante à base de zinco foi desenvolvido para ser utilizado na esterilização de machos caninos por meio de injeção intratesticular. Este trabalho teve como objetivo avaliar o comportamento do hormônio testosterona em animais submetidos à injeção intratesticular de zinco.

Material e Métodos

A solução utilizada contém 0,1M de gluconato de zinco, cujo pH foi neutralizado em veículo fisiológico não-irritante desenvolvido pela Biorelease Technologies LLC (Birmingham, Alabama, USA), para injeções intratesticulares, sendo a concentração final de 13,1mg de zinco por ml de solução. Foram utilizados 15 cães (5 cães/grupo). O grupo controle recebeu injeções intratesticulares de solução salina. O Grupo 2 foi formado por animais entre 8 meses e 1,5 anos de idade e o Grupo 3 por animais de mais de 2 até 4 anos de idade, que receberam injeções intratesticulares de zinco em seis diferentes doses (0,2 a 1,0ml), segundo o diâmetro testicular do animal (10 a 27mm), que foi mensurado com a utilização de um paquímetro. Amostras de sangue foram coletadas um dia antes da injeção e nos dias 4 e 7 após a mesma. Em seguida, as coletas foram realizadas semanalmente até 150 dias. As amostras foram coletadas uma vez ao dia, pela punção da veia cefálica. A concentração de testosterona plasmática foi mensurada no laboratório B.E.T. Labs (Lexington, Kentucky, USA) por meio da técnica de radioimunoensaio. Foi utilizado o teste t-Student pareado e, no caso de diferença significativa na aplicação do teste F (ANOVA), foram utilizados os testes de comparações pareadas de Tukey.

Resultados e Discussão

Não foi observada diferença entre os grupos ($P > 0,05$), embora seja evidente que, numericamente, os valores de concentração de testosterona encontrados para os grupos tratados tenham começado a declinar uma semana após a injeção de zinco e este comportamento tenha permanecido durante todo o experimento, sendo que no T10 o declínio foi significativo ($P < 0,05$) (Fig 1). Apesar das alterações observadas ao exame histológico dos testículos de cães submetido à injeção de zinco, particularmente nas células de Leydig, (Oliveira et al, 2006), acredita-se que a ausência de significância observada no presente estudo tenha acontecido devido a grande variabilidade individual da concentração de testosterona apresentada pelo mesmo cão, em diferentes momentos do dia. O aumento do número de animais estudados, associado à coleta de várias amostras do mesmo indivíduo durante o dia, em intervalos frequentes, poderia contribuir para o acesso significativo à diminuição da concentração de testosterona no sangue (Mann e Lutwak-Mann, 1981), como sugerido na fig. 1.

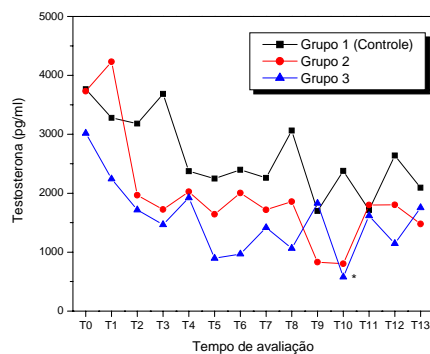


Figura 1. Média da concentração de testosterona plasmática de cães SRD, controle e tratados com injeção intratesticular de solução à base de zinco.

Conclusão

A injeção intratesticular de zinco levou à diminuição da concentração de testosterona entre 40% e 60%, atingindo, em alguns momentos, até 80%, entretanto estes valores ainda estão acima daqueles observados nos cães orquiectomizados.

Referências

- Mann T, Lutwak-Mann C. *Male Reproductive Function and Semen. Themes and Trends in Physiology, Biochemistry and Investigative Andrology*. New York: Springer-Verlag, 1981. p. 495.
Oliveira ECS, Moura MR, Silva Jr VA. et al. Sterilization of dogs with intratesticular injection of a zinc base solution - histopathological evaluation. *Anim Reprod.*, v.3, p.219, 2006.

Palavras-chave: esterilização, zinco, testículo, testosterona, cão. Keywords: sterilization, zinc, testicle, testosterone, dog..



Avaliação preliminar dos parâmetros seminais após criopreservação de sêmen canino em meio tris-gema e em meio sacarose e leite desnatado

Cryopreservation of canine semen using egg yolk-tris or skim-milk-sucrose extender

K.L. Hermann¹, M. Cordini¹, V.L.L. Amaral¹, S.M. Amaral², M. Frajblat¹

¹Laboratório de Biotecnologia da Reprodução – UNIVALI – Itajaí, SC

²Centro Clínico Veterinário – CCV – Itajaí, SC

E-mail: lbr@univali.br

Introdução

A criopreservação de sêmen canino é uma das técnicas utilizadas na área de reprodução desta espécie. O sêmen congelado possibilita a preservação do ejaculado por tempo indeterminado ou enviado para inseminação em outros lugares. O meio diluidor é um dos principais fatores que influenciam a viabilidade do sêmen pós-congelamento, sendo mais utilizado o tris-gema. Porém existe uma demanda pelo aumento da eficiência dos meios utilizados e por novos meios que possibilitem uma boa viabilidade do sêmen pós-congelamento. O meio utilizado para criopreservação de sêmen de camundongos tem como base sacarose e leite desnatado e pode ser usado em cães. O objetivo deste trabalho foi comparar a viabilidade do sêmen canino pós-congelamento quando criopreservado em meio de sacarose e leite desnatado e em meio à base de tris-gema.

Material e Métodos

Foram utilizados 4 ejaculados de dois cães adultos e a coleta da segunda fração espermática foi feita via manipulação peniana. Após a coleta foram realizadas as análises macroscópicas (cor e viscosidade) e as microscópicas (motilidade, concentração e vigor). Ao sêmen foram adicionados o meio de congelamento de camundongo (1:1/2), composto de 0,3M de sacarose e leite desnatado 3% e ao outro tris-gema 20% (CARDOSO *et al*, 2002). Estes foram levados para uma caixa de isopor a 15°C por 40 minutos e a 4°C em congelador de geladeira por 30 minutos. Em cada etapa a motilidade foi analisada. Após 70 minutos de resfriamento a outra porção dos dois meios, contendo 12% de glicerol foi adicionada. As amostras foram envasadas em palhetas de 0.25 µl e expostas ao vapor de nitrogênio a 5 cm por 5 minutos e então mergulhadas em nitrogênio líquido. As palhetas foram descongeladas em água a 37°C por 60 segundos e as análises repetidas. A motilidade entre os tratamentos foi comparada utilizando o teste t-student.

Resultados e Discussão

O sêmen criopreservado em tris-gema apresentou maior motilidade que o criopreservado em leite e sacarose (tabela 1). Apesar da menor ($P < 0,05$) motilidade pós-congelamento com meio leite e sacarose comparada ao meio tris-gema, os resultados de resfriamento (15°C e 4°C) indicam que este meio tem o potencial para ser uma alternativa ao meio tradicional na criopreservação de sêmen canino. Novos trabalhos serão desenvolvidos com o objetivo de testar modificações neste meio com o objetivo de aumentar a motilidade pós-congelamento.

Tabela 1. Parâmetros seminais pós-congelamento de amostras criopreservadas em meio tris ou leite e sacarose

<i>.Meio de congelamento</i>	Mot Inicial (%)	Mot a 15°C (%)	Mot a 4°C (%)	Mot Pós-Congelamento (%)
Tris-Gema	89,3 ± 5,2	82,8 ± 4,9	76,3 ± 6,2	58,3 ± 5,5 ^a
Sacarose + leite desnatado	89,3 ± 5,2	76 ± 4,4	67,5 ± 7,3	44,5 ± 3,3 ^b

^{abc}: diferentes letras na mesma coluna demonstram diferenças significativas ($P < 0,05$).

Referências bibliográficas

Cardoso, R. C. S., Silva, A. R., Uchoa, D. C., *et al*. Criopreservação de sêmen canino com um diluidor à base de água de coco. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.32, n.4, p. 657-661, 2002.

Palavras-chave: Criopreservação, sêmen, cão.

Keywords: Cryopreservation, semen, dog.



Avaliação dos efeitos do polietileno sobre o sêmen de cães

Evaluation of the polyethylene effects on dog semen

C.R.G. Andrade^{1*}, L.C. Silva¹, L.R. Vianna², M.C.G. R. Lage¹, M.I.V. Melo¹, G.R. Valle¹

¹Medicina Veterinária PUC Minas-Betim

²Canil Polícia Militar-MG

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

Introdução

O método mais utilizado para coleta de sêmen em cães é a manipulação digital com mão enluvada e funil acoplado a tubo de ensaio⁽²⁾. No entanto, o uso de equipamentos alternativos pode tornar o método mais eficiente, desde que não sejam tóxicos para o sêmen, como ocorre com alguns materiais⁽¹⁾. Assim, o objetivo deste trabalho foi testar a toxicidade do polietileno sobre o sêmen de cães, a fim de viabilizar o uso de um cone deste material acoplado a um tubo vítreo de centrífuga para a coleta do sêmen canino, evitando qualquer traumatismo peniano e perda de sêmen durante a coleta.

Material e Métodos

Coletaram-se ejaculados de 10 cães Pastores Alemães, mínimo de 6,0mL (1^a, 2^a e 3^a frações), utilizando funil e tubo de centrífuga vítreos. Cada ejaculado foi mantido em banho-maria a 37°C, avaliando-se a motilidade total- MT e o vigor- V em sistema duplo-cego. Em seguida, alíquotas de 2mL foram mantidas em tubos vítreos a 37°C, submetendo-as a 3 tratamentos: controle (C); fluir a amostra pela superfície de um tubo de polietileno (dedo de luva de toque retal – SuperFlex WalMur®) (PP); e manter um fragmento da mesma luva mergulhado na amostra (CP). Passados 10 min., retirado o fragmento do CP, realizaram-se as avaliações de MT e V pelos mesmos avaliadores, sem que conhecessem a amostra que avaliavam. Amostras para patologia espermática- PAT foram obtidas em formol-salina e avaliadas em microscopia de contraste de fase por avaliador único, sem conhecimento da identificação das amostras. A diferença entre os resultados percentuais após e antes dos tratamentos, submetidos à transformação arcsen[√], foram comparados pelo método Kruskal-Wallis e teste t de Student, ao nível de significância de 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 1: Percentual de redução da qualidade seminal (mediana) após tratamentos.

Parâmetro	Motilidade Total			Vigor			Patologia		
	C	PP	CP	C	PP	CP	C	PP	CP
Diferença (%)	20 ^a	10 ^b	14 ^b	26	27	26	17 ^a	17 ^b	15 ^b

a, b para um mesmo parâmetro indica diferença significativa (P<0,05)

Houve redução da MT e V em todos os grupos, em consequência dos 10 min. de incubação (C– 20% e 26%; PP– 10% e 27%; CP– 14% e 26%), sendo as reduções semelhantes entre os grupos, exceto para o grupo C, que teve maior redução da MT. A PAT foi influenciada pelo período de incubação em todos os grupos (C– 17%; PP– 17%; CP– 15%), sendo significativamente maior no grupo C em relação aos demais. Essa diferença, sem relevância biológica, ocorreu em função da menor dispersão dos resultados em C comparada a PP e CP. Infere-se, ainda, que a maior perda na qualidade seminal em C seja consequência de algum efeito benéfico dos tratamentos, merecendo maiores investigações. Os resultados mostram que o contato rápido (PP) ou prolongado (CP) do sêmen com o polietileno não alterou negativamente a qualidade seminal, viabilizando o uso de cones de polietileno confeccionados a partir de luvas de toque retal para a coleta de sêmen em cães.

Referências Bibliográficas

- 1) Althouse, M.S. et al. *JAVMA*, v.199, n. 2, p.227-229, 1991.
- 2) Silva, L.D.M. et al. **Inseminação artificial em cães**. In: Gonçalves, P.B.D. (ed) *Biotécnicas aplicadas à reprodução animal*. São Paulo: Varela, 2002, cap. 5, p. 69-95.

Palavras-chave: cão, polietileno, sêmen, coleta de sêmen.

Keywords: dog, polyethylene, semen, semen collection.

Apoio: PMMG; Probic/PUC Minas e CECCA/PUC Betim



Avaliação clínica, citológica e seminal de gatos domésticos (*Felis catus*) para seleção de reprodutores

Domestic cats (Felis catus) clinical, cytological and seminal evaluation for stud selection

D.K. Vieira, S.M. Suzano, A.M. Silveira, M.V. Pires, J. Libonati

Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Castelo Branco, Rio de Janeiro-RJ

E-mail: anamello@vetlegal.com.br

Introdução

A avaliação dos testículos e do sêmen de reprodutores felinos é atualmente de grande importância para identificar, selecionar e resguardar o potencial genético dos melhores exemplares e auxiliar nas biotécnicas da reprodução animal, principalmente pela urgente necessidade de preservar espécies selvagens ameaçadas de extinção. Torna-se crescente, por isto, o interesse pelo gato doméstico como modelo experimental. Porém, pela extrema sensibilidade dos felinos, faz-se necessário que os exames andrológicos sejam minimamente invasivo, reduzindo tanto o nível de stress quanto o dano tecidual, de forma a não alterar resultados. O objetivo deste trabalho foi realizar exames clínico, seminal e citológico em testículos de gatos, a fim de selecionar os animais não aptos para reprodução e preservar a qualidade espermática.

Material e Métodos

Foram examinados 10 gatos domésticos, de 1 a 4 anos, SRD, oriundos da UCB (RJ). Os dados clínicos e reprodutivos foram anotados em fichas individuais. O exame clínico consistiu em inspeção e palpação da bolsa escrotal (lesões, sensibilidade e presença de ectoparasitos), dos testículos quanto à forma, tamanho, simetria, consistência, mobilidade e sensibilidade e de epidídimos quanto à forma, tamanho e consistência, seguidos do exame do prepúcio e pênis. Os animais foram anestesiados e após a anti-sepsia da bolsa escrotal foi realizada a coleta para a citologia sem aspiração (CSA): o testículo foi imobilizado e puncionado com uma agulha 25 x 7 mm, foram feitos movimentos em várias direções, corando-se o esfregaço pelo método do Giemsa. Em seguida, o sêmen foi coletado pelo método de eletroejaculação. Imediatamente após a coleta o sêmen foi examinado quanto às características macroscópicas (volume, coloração e odor) e microscópicas (motilidade, vigor e morfologia).

Resultados e Discussão

Dos 10 animais, 1 apresentou criptorquidismo unilateral. Os outros não apresentaram alterações clínicas e o perímetro escrotal e tamanho dos testículos variou pouco e de acordo com a idade. O método de CSA permitiu a identificação das células de Sertoli, espermatogônias, espermátócitos primários, espermátides, além de espermatozoides, células em mitose e células de Leydig. Dois animais apresentaram azoospermia. Não foram observados espermátócitos secundários, por entrarem rapidamente na segunda divisão meiótica. Obteve-se ejaculado em 8 dos 10 animais. Houve contaminação por urina em somente um animal sem impedir porém, a visualização dos espermatozoides. A coloração do ejaculado variou entre transparente a esbranquiçado. A motilidade atingiu a média de 90%, o vigor variou entre 3 e 5 e a morfologia de 60,0 a 80,0% de espermatozoides normais, caracterizando sêmen de boa qualidade. O presente trabalho concluiu que as técnicas de avaliação descritas são simples, rápidas, pouco invasivas e de baixo custo, além de avaliar a aptidão para reprodução dos animais.

Referências bibliográficas

- Acland H. M.** *Thomson's Special Veterinary Pathology*. 2 ed. St. Louis: Mosby, 1998. p. 544-60.
- Axner E., Strom B., Linde-Forsberg C., Gustavsson I., Lindblad K., Wallgren M.** 1996. Reproductive disorders in 10 domestic male cats. *Journal of Small Animal Practice*. 37: 394-40.
- Feldman E.C., Nelson R. W.** *Canine and Feline Endocrinology and Reproduction*. 2. ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1996. p. 673- 90.
- Henson, K. L.** *Atlas de Citologia de Cães e Gatos*. São Paulo: Roca, 2003. p. 233-64.
- Johnston S.D., Kustriz M.V.R., Oslon P.N.S.** *Canine and feline Theriogenology*. Philadelphia, W.B. Saunders Company, p.508-521, 2001.
- Vieira D.K., Pires M.V., Castro J.L., Rodrigues R.L., Leal D.L., Suzano S.M.** 2006. Avaliação Clínica, Citológica e Histológica dos Testículos de Cães (*Canis Familiaris*) Orquiectomizados. *Revista Universidade Rural, Série Ciência e Vida*. Seropédica (RJ) 26: 409-410.

Palavras-chave: citologia, testículos, gatos, eletroejaculação.

Keywords: cytology, testis, cats, electroejaculation.



Obtenção de solução não ativadora espermática para o sêmen do surubim do Paraíba *Steindachner parahybae*

Attainment of spermatic non-activator solution for the milt of the surubim do paraiba Steindachner parahybae

G. Souza, R.S. Goldberg, E. Shimoda, M.V. Vidal Júnior, D.R. Andrade

Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF)
E-mail: rubensgold@yahoo.com.br

Introdução

Os espermatozoides de peixes de água doce são imóveis quando no plasma seminal adquirindo motilidade ao entrarem em contato com a água onde ocorre a fertilização devido à redução da osmolaridade (Alavi et al, 2006). Portanto, a manipulação do sêmen visando à fertilização ou criopreservação requer duas etapas: uma pré-diluição em solução não ativadora hiper-osmótica, sob refrigeração (3-5°C), como forma de minimizar o metabolismo celular (Shimoda, 2004) e posterior diluição em solução ativadora hipo-osmótica para análise da motilidade subjetiva ou fertilização dos ovócitos. O objetivo deste trabalho foi verificar a motilidade espermática do sêmen do surubim do Paraíba *Steindachner parahybae*, espécie endêmica do rio Paraíba do Sul, em soluções de NaCl a diferentes osmolaridades e assim obter uma solução pré-diluidora não ativadora para a espécie.

Material e Métodos

Em janeiro de 2007, amostras seminais de 3 indivíduos criados na Estação Experimental do Projeto Piabanha (Itaocara-RJ) foram coletadas mediante massagem abdominal no sentido antero-posterior. Para cada uma foi feita a diluição na proporção de uma gota de sêmen para duas de solução de NaCl em lâmina histológica, em microscópio pré-focalizado (100x). As soluções testadas apresentaram as seguintes osmolaridades: 77, 103, 128, 154, 179 e 205 mM. Amostras contaminadas com sangue, urina ou fezes foram previamente descartadas. Para cada fórmula de diluidor foi verificada a eventual ocorrência de motilidade espermática como forma de avaliar seu potencial uso como solução não ativadora para futuros manejos reprodutivos com a espécie.

Resultados e Discussão

Observou-se que apenas as soluções de NaCl com concentração inferior a 103 mM proporcionaram motilidade espermática, portanto, dentre as concentrações testadas, a de 128 mM corresponde ao limite inferior para a formulação de soluções não ativadoras espermáticas para a espécie. Marques (2001), em estudo sobre diferentes espécies de teleósteos neotropicais de água doce, obteve ativação espermática pela diluição do sêmen em solução de NaCl de 150, 100 ou 75 mM. Dados especificamente sobre o surubim do Paraíba são ainda inéditos.

Referências bibliográficas

- Alavi SM, Cosson J** . Sperm motility in fishes. (II) Effects of ions and osmolality: A review. *Cell Biology International* n.30, p. 1-14, 2006.
- Marques S**. Preservação a curto prazo do sêmen de teleósteos neotropicais de água doce. 2001. 98f. Dissertação (Mestrado em Zoologia) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte-MG 2001.
- Shimoda E**. Análise e Criopresevação do sêmen de piabanha *Brycon insignis Steindachner, 1877*. 2004. 121f. Tese (Doutorado em Produção Animal) – Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes – RJ 2004

Palavras-chave: ativação espermática; molaridade; pré-diluição; sêmen; *Steindachneridion parahybae*.

Keywords: sperm activation; molarity; pré-dilution; milt; *Steindachneridion parahybae*.



Criopreservação espermática por curto prazo do camarão-de-água-doce *Macrobrachium rosenbergii* através da estocagem de animais sob congelamento

*Short term spermatoc cryopreservation of the fresh water prawn *Macrobrachium rosenbergii* through animal's storage under freezing condition*

R.S. Goldberg, F.T. Albuquerque, L.M.Y. Oshiro

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ)
E-mail: rubensgold@yahoo.com.br

Introdução

O sêmen de crustáceos é extrudido na forma de massas gelatinosas denominadas espermatóforos que ficam aderidas ao esterno da fêmea até o momento da desova, os espermatozoides são aflagelados e imóveis, tais características dificultam o desenvolvimento de técnicas de manejos reprodutivos, entre as quais a criopreservação espermática (Gwo, 2000). No camarão *Macrobrachium rosenbergii*, a aplicação dessa técnica é voltada para a aquicultura e compreende as seguintes etapas: extrusão dos espermatóforos, adição de meios diluidores e agentes crioprotetores, o congelamento que pode ocorrer por longo prazo em nitrogênio líquido (-196°C) ou curto prazo em freezer e descongelamento (Goldberg et al, 2000). O objetivo do presente trabalho foi desenvolver técnica alternativa para a conservação do material genético da espécie por curto prazo através da estocagem de animais em freezer.

Material e Métodos

Foram coletados e sacrificados 30 machos adultos do camarão *Macrobrachium rosenbergii* no posto de aquicultura da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Os mesmos foram divididos em 5 grupos de 6 indivíduos e então estocados em freezer sob temperatura de -13° C. Para cada grupo foi estabelecido um tratamento correspondente ao período de estocagem dos animais: 7, 21, 35, 49 e 84 dias após os quais os animais foram descongelados, dissecados e seus canais deferentes triturados por homogeneizador de tecidos. A verificação da viabilidade espermática foi feita por observação ao microscópio ótico (400x) por coloração diferencial com corante pós-vital de eosina citrato. A interdependência entre o tempo de estocagem e as viabilidades espermáticas foi calculada pelo coeficiente de correlação linear de Pearson.

Resultados e Discussão

A frequência percentual média de espermatozoides vivos para todos os tratamentos foi de $79,2 \pm 5,87\%$ sem diferença significativa entre os períodos de estocagem. Tais dados indicam que a técnica empregada é capaz de proporcionar esse resultado por pelo menos 84 dias. A viabilidade espermática conseguida no presente trabalho foi inferior aos 90 % da criopreservação em nitrogênio líquido e superior aos 55% da estocagem dos espermatóforos em freezer a -20°C obtidos por Akarasanon et al (2004) para o mesmo período de estocagem. O resultado indica que a técnica de estocagem dos camarões, inédita na literatura, obteve maior viabilidade espermática dentre as técnicas de congelamento a curto prazo e apresenta potencial de aplicação em manejos reprodutivos da espécie.

Referências bibliográficas

- Akarasanon K, Damrongphol P, Poolsanguan W.** Long-term cryopreservation of spermatophore of the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (de Man). *Aquaculture Research*, v.35, n.15, p. 1415–1420, 2004.
- Goldberg RS, Albuquerque FT, Oshiro LMY.** Criopreservação de material genético do camarão-de-água-doce *Macrobrachium rosenbergii*. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.29, n. 6 (Suplemento 2), p. 2157-2161, 2000.
- Gwo JC.** Cryopreservation of aquatic invertebrate semen: a review. *Aquaculture Research*, v.31, n.3, p.259-271, 2000

Palavras-chave: criopreservação, freezer, espermatóforo, espermatozoides, *Macrobrachium rosenbergii*.

Keywords: cryopreservation, freezer, spermatophore, spermatozoa, *Macrobrachium rosenbergii*.



Criopreservação espermática do camarão-de-água-doce *Macrobrachium rosenbergii* com diluidor à base de gema de ovo de galinha

*Spermatic cryopreservation of the fresh water prawn *Macrobrachium rosenbergii* using a hence egg yolk extender*

L.M.Y. Oshiro, R.S. Goldberg, F.T. Albuquerque

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ)

E-mail: rubensgold@yahoo.com.br

Introdução

A criopresevação espermática em nitrogênio líquido é amplamente utilizada em manejos reprodutivos voltados para a aqüicultura, mas a aplicação da técnica em invertebrados é ainda incipiente. Sua aplicação em camarões *Macrobrachium rosenbergii* compreende as seguintes etapas: inclusão do espermátóforo (massa gelatinosa espermática na qual o sêmen é extrudido) em solução diluidora, tempo de equilíbrio, adição de agentes crioprotetores, estocagem em botijão de nitrogênio líquido (-196° C) e descongelamento. Trabalhos com a referida espécie são escassos na literatura e versam sobre ritmos de congelamento e agentes crioprotetores (Chow et al, 1985 e Akarasanon et al, 2004). O objetivo do presente trabalho foi avaliar a eficácia do uso de solução à base de gema de ovo de galinha e dimetilsulfóxido (DMSO) na criopreservação de espermátóforos desses animais em nitrogênio líquido.

Material e Métodos

Foram utilizados 12 machos adultos do camarão *Macrobrachium rosenbergii*, sendo obtidos de cada um espermátóforos através de eletroejaculação, os quais foram divididos em 2 grupos de 6 unidades correspondentes aos tratamentos recebidos: o de controle, e o submetido ao congelamento em nitrogênio líquido. As unidades para congelamento foram incluídas em solução diluidora à base de gema de ovo de galinha 20%, citrato de sódio 2,94%, ampicilina 0,01%, e dimetilsulfóxido (DMSO) 5%. O tempo de pré-congelamento, conforme utilizado por Chow (1985) na mesma espécie, foi de 10 minutos após os quais o material foi imerso no nitrogênio líquido e acondicionado em botijões durante 60 dias. Os espermátóforos foram então descongelados em água a 37° C durante 1 minuto, macerados através de homogeneizador de tecidos e analisados ao microscópio óptico (400x) para contagem da viabilidade espermática.

Resultados e Discussão

As viabilidades espermáticas médias observadas nos espermátóforos do grupo de controle e congelados, foram respectivamente 90,8 e 64,8% apresentando diferença significativa. Através da criopreservação espermática em nitrogênio líquido com a mesma espécie, Chow et al (1985) obtiveram a inseminação de fêmeas com espermátóforos conservados por 30 dias em solução de glicerol 10%. Akarasanon et al (2004), usando etilenoglicol 20% como crioprotetor, obtiveram viabilidade espermática de 90%. Os resultados do presente trabalho indicam que o uso de solução diluidora à base de gema de ovo de galinha acrescida de DMSO 5%, possui potencial de aplicação em manejos de inseminação artificial com a espécie e que novas combinações entre diluidores e agentes crioprotetores podem proporcionar viabilidades espermáticas ainda maiores.

Referências bibliográficas

- Akarasanon K, Damrongphol P, Poolsanguan W.** Long-term cryopreservation of spermatophore of the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (de Man). *Aquaculture Research*, v.35, n.15, p. 1415–1420, 2004.
- Chow S, Taki Y, Ogasawara Y.** Cryopreservation of the spermatophore of the fresh water shrimp *Macrobrachium rosenbergii*. *Biol Bull.*, n.168, p. 471-475, 1985.

Palavras-chave: criopreservação, espermátóforo, gema de ovo, *Macrobrachium rosenbergii*, nitrogênio líquido.

Keywords: cryopreservation, spermatophore, egg yolk, *Macrobrachium rosenbergii*, liquid nitrogen.



Determinação da relação sêmen-ovócitos utilizada na fertilização de Piracanjuba (*Brycon orbignyanus*)

Determination of Semen-oocytes relation utilized on fertilization of Piracanjuba (Brycon orbignyanus)

C.C. Abreu, A.F.S. Carvalho, V.O. Felizardo, L.D.S. Murgas, G.J. M. Pereira, A.L.N. Alvarenga, J.M.A. Silva, M.M. Drumond

Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Lavras, Lavras - MG
E-mail: camilacabreu@gmail.com

Introdução

A Piracanjuba (*Brycon orbignyanus*) é um peixe tropical, muito apreciado na piscicultura brasileira; entretanto, ameaçada de extinção. Bedore (1999) afirma que não existem exemplares de Piracanjuba nascidos na bacia do Rio Grande, e que qualquer espécime capturado desta bacia provém de programas de repovoamento, como os realizados pela Companhia Energética de Minas Gerais (CEMIG), sendo a reprodução induzida, uma boa alternativa para a preservação de Piracanjuba. O objetivo do presente estudo é estabelecer a melhor relação sêmen-ovócitos para a fertilização desta espécie.

Material e Métodos

Foram utilizados três casais de Piracanjuba selecionados dos tanques de reprodutores da Estação Ambiental de Itutinga (EAI – CEMIG). Os reprodutores selecionados foram hipofisados para obtenção dos gametas, utilizando extrato bruto de hipófise de carpa (EBHC). Adotou-se quatro tratamentos diferentes para a fertilização, onde um grama de ovócitos foi fertilizado com quatro volumes diferentes de sêmen (10µl, 20µl, 30µl e 40µl), na concentração média de $22,5 \times 10^6$ espermatozoides/mm³, com três repetições para cada tratamento. As amostras foram ativadas com 5ml de água e em seguida, levadas para as incubadoras experimentais. As incubadoras possuíam renovação constante de água, à temperatura de 28°C. Após oito horas, analisou-se a taxa de fertilização (ovos viáveis) e 16 horas depois, a taxa de eclosão de ovos. Os dados foram analisados pelo programa SISVAR.

Resultados e Discussão

Os valores médios da taxa de ovos viáveis e taxa de eclosão estão apresentados na tabela 1.

Tabela 1. Médias percentuais das taxas de fertilidade e de eclosão em diferentes proporções sêmen-ovócitos em Piracanjuba.

Tratamentos	Taxa de Fertilidade (%)*	Taxa de Eclosão (%)*
1g de ovócito + 10µl sêmen	58	62
1g de ovócito + 20µl sêmen	58	64
1g de ovócito + 30µl sêmen	55	59
1g de ovócito + 40µl sêmen	62	52

* Não houve diferença significativa entre todas as relações testadas ($P > 0,05$).

As relações sêmen-ovócitos testadas não alteraram as taxas de fertilidade e eclosão. Portanto, para minimizar a quantidade de sêmen utilizado a relação ideal é de 1g de ovócitos para 10µl de sêmen.

Referências bibliográficas

- Bedore, A.G. Características criopreservação do sêmen de Pacu-caranha (*Piaractus mesopotamicus*) e de Piracanjuba (*Brycon orbignyanus*). 1999, 53 p. **Dissertação (Mestrado em Biologia Celular) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.**
- Murgas, L.D.S., G.J.M. Pereira, Miliorini, A.B., Silva, J.M.A, Logato, P.V.R., Lima, D. Toxidade de soluções crioprotetoras utilizadas para o preparo de embriões de Piracanjuba (*Brycon orbignyanus*) antes do congelamento. **43ª Reunião Anual da Soc. Bras. de Zootenia, 2006**

Palavras-chave: peixe, ovócito, sêmen, Piracanjuba.

Keywords: fish, oocyte, semen, Piracanjuba.



Avaliação de diferentes soluções crioprotetoras no congelamento de sêmen de Piracanjuba (*Brycon orbignyanus*)

Evaluation of different crioprotector solutions in semen freezing of Piracanjuba (Brycon orbignyanus)

A.F.S. Carvalho, C.C. Abreu, L.D.S. Murgas, G.J.M. Pereira, A.L.N. Alvarenga, S.L. Arcuri, M.M. Drumond, J.M.A Silva, V.O. Felizardo

Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Lavras, Lavras - MG
E-mail: lilifsc@hotmail.com

Introdução

A Piracanjuba (*Brycon orbignyanus*) é uma espécie de peixe de piracema ameaçada de desaparecer da bacia do rio Grande. O período reprodutivo da Piracanjuba ocorre entre os meses de setembro e outubro, culminando com a desova entre novembro e janeiro. Assim, estudos aprimorando a técnica da criopreservação do sêmen podem contribuir para otimizar o processo reprodutivo desta espécie (Bedore, 1999). O objetivo foi avaliar os efeitos sobre as características seminais pré e pós-descongelamento de sêmen de Piracanjuba, utilizando quatro soluções crioprotetoras diferentes.

Material e Métodos

O trabalho foi realizado de nov./2006 a fev./2007, na Estação Ambiental de Itutinga da Companhia Energética de Minas Gerais (EAI – CEMIG) e no DMV-UFLA. Foram utilizados cinco machos de Piracanjuba do plantel de reprodutores da EAI-CEMIG. Os reprodutores foram submetidos a tratamento hormonal para indução da espermiacção, utilizando extrato bruto de hipófise de carpa (EBHC). O sêmen foi coletado através de massagem abdominal no sentido encéfalo-caudal. Amostras de sêmen, de cada animal, foram diluídas em quatro soluções crioprotetoras diferentes, na proporção de 1:4 (sêmen:solução crioprotetora), acondicionadas em palhetas de 0,5 mL e colocadas em botijão de nitrogênio líquido. A taxa de congelamento foi entre -20° a -50°/minuto. As palhetas foram descongeladas por imersão em banho-maria a 60° C, durante 5 segundos. A partir daí foram feitas análises de motilidade, duração da motilidade, concentração e alterações espermáticas. As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o programa SISVAR.

Resultados e Discussão

Os valores médios das características seminais pré e pós-congelamento do sêmen de Piracanjuba estão apresentados na tabela 1.

Tabela 1. Características seminais pré e pós-descongelamento do sêmen de Piracanjuba.

Soluções crioprotetoras	Pré-congelamento*		Motilidade (%)	Pós-descongelamento*		
	Motilidade (%)	Duração Mot (seg.)		Duração Mot (seg.)	Concentração (x10 ⁵)	Alterações espermáticas (%)
DMSO 8%, Ovo 5% e BTS 5%	85	105	21	63	89	42
Metanol 8%, Ovo 5% e BTS 5%	86	91	11	103	83	40
DMSO 8%, Lactose 5% e BTS 5%	88	77	21	70	119	46
Metanol 8%, Lactose 5% e BTS 5%	94	74	23	66	127	38

*Não houve diferença significativa entre todas as soluções testadas (P>0,05).

O sêmen de Piracanjuba pode ser congelado com soluções contendo DMSO e Metanol como crioprotetores internos e gema de ovo e lactose como crioprotetores externos.

Referências bibliográficas

- BEDORE, A. G. Características criopreservação do sêmen de Pacu-caranha (*Piaractus mesopotamicus*) e de Piracanjuba (*Brycon orbignyanus*). 1999, 53 p. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- MURGAS, L. D. S. et al. Calidad seminal del pez Piracanjuba (*Brycon orbignyanus*) post-descongelacion. 2001, p 3-9. An. Vet. Mur.

Palavras-chave: peixe, congelamento, sêmen, Piracanjuba.

Keywords: fish, freezing, semen, Piracanjuba.



Desenvolvimento de protocolos de congelação de sêmen de jaguatirica (*Leopardus pardalis*) adulta

Development of protocols of semen congelation of adult ocelot (Leopardus pardalis)

G.O. Polli, T.A.R. Paula, B.C. Caldeira, R.M. Mascarenhas, M. Carretta Jr, J.V. Peixoto, M.K. Balarini

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

Introdução

A jaguatirica (*Leopardus pardalis*) é um dos felinos mais populares da América do Sul. No Brasil, apesar das constantes ameaças, ocorre em todas as regiões (Wieloch *et al.* 1997). É uma espécie de porte médio, medindo de 95 a 140 cm de comprimento, incluindo a cauda. Seu peso varia em torno de 7 a 15 kg. O desenvolvimento de protocolos de congelação de sêmen tem como objetivo incluir tal espécie em bancos de germoplasma, sendo de suma importância para a manutenção de uma reserva genética de populações. Este trabalho tem o objetivo de testar diferentes meios e protocolo para congelamento e armazenamento de sêmen.

Material e Método

Foram coletados sêmen de quatro animais machos adultos em condições de cativeiro variando de três a nove anos de idade, dois no CETAS-UFV e outros dois na Fundação Zoobotânica de Belo Horizonte. Os animais foram contidos e mantidos sob anestesia geral dissociativa em associação com anestesia inalatória utilizando Halotano. A coleta foi realizada através de eletroejaculação, com probe longitudinal, de 1,6 cm de diâmetro com eletrodos longitudinais. O protocolo utilizado foi desenvolvido por Wildt *et al* (1983) consistindo de oito séries com tensões diferentes (2v, à 6v) em três seqüências, totalizando 80 estímulos com 3 segundos cada. Uma alíquota do sêmen coletado foi avaliada sob um aumento de 400x no microscópio de luz, foram classificados a motilidade em percentual e o vigor numa escala de 0 a 5. A concentração espermática, foi obtida em câmara de Neubauer, após diluição 1:10 em formol salino tamponado. As patologias foram identificadas a partir da contagem e classificação de 400 células em microscópio de contraste de fase. Após a avaliação, o sêmen foi diluído em meio Tris-Citrato e meio Tes-Tris, envazado em palhetas de 0,5 mL, resfriados à 0,3° C/min até 5° C (1h), congelado em vapor de nitrogênio líquido (15 min) e transferido para um botijão de nitrogênio líquido. Uma palheta em cada etapa foi descongelada a 37° C por 60 segundos, para avaliação da efetividade dos meios de congelação utilizados.

Resultados e Discussão

O volume médio de sêmen coletado foi de 0,25 mL e as características físicas variaram de turvo a leitoso nos ejaculados. Foram observados entre 70% e 80% de motilidade e 4 e 5 de vigor espermático no sêmen fresco. A porcentagem de espermatozoides normais foi de 73,4%, sendo que as patologias mais comumente observadas foram: cauda dobrada, patologias de peça intermediária e cabeça isolada normal. O protocolo de coleta de sêmen, através de eletroejaculação mostrou-se viável e eficaz, obtendo-se as melhores performance entre 5 e 6 volts. Após o descongelamento ambos os meios diluidores apresentaram viabilidade para o congelamento do sêmen, apresentando entre 30 e 50% de motilidade e 2 a 3 de vigor espermático. Sendo que o meio Tes-tris se mostrou ligeiramente superior ao Tris-citrato.

Referência bibliográfica

- Wieloch DR, Veado BV, Furtado DB.** Cadernos da fundação Zôo-botânica. I Animais do Zoológico. Fundação Zôo-Botânico. Belo Horizonte. 1997, 236p.
Wildt DE, Bush M, Howard JG, O'Brien SJ, Meltzer D, Vandyk A, Ebedes H, Brand DJ. Unique seminal quality in the South African cheetah and a comparative evaluation in the domestic cat. *Biology of Reproduction*, v.29, n.4, p.1019-25, 1983.

Palavras-chave: *Leopardus pardalis*, criopreservação, semen.

Keywords: *Leopardus pardalis*, cryopreservation, semen.



Avaliação de protocolos para criopreservação de sêmen em gato-do-mato-pequeno (*Leopardus tigrinus*)

Protocols evaluation for semen cryopreservation in tigrina (Leopardus tigrinus)

R.H. Erdmann¹, J.C. Juvenal², W. Moraes², P. Cubas², A.L. Carvalho³, N. Moreira⁴

¹PUCPR - Toledo

²ITAIPU BINACIONAL

³Faculdade Anglo Americano

⁴UFPR – Campus Palotina

E-mail: renato.erdmann@pucpr.br

Introdução

A biotecnologia da reprodução apresenta um potencial significativo na conservação *ex situ* de espécies ameaçadas, incluindo a formação de bancos de reserva genômica. Atualmente, existem várias descrições de protocolos de congelamento de sêmen em felídeos, entretanto, em gato-do-mato-pequeno (*Leopardus tigrinus*) foram relatados poucos protocolos utilizados em pequeno número de indivíduos. Melhores opções de criopreservação de sêmen em espécies selvagens devem ser pesquisadas, visando maior aplicabilidade, segurança e qualidade na preservação do material genético.

Material e Métodos

Foram realizadas 32 colheitas de sêmen em gato-do-mato-pequeno (*Leopardus tigrinus*, n = 11), em animais mantidos no Criadouro de Animais Silvestres da ITAIPU Binacional, Foz do Iguaçu - PR. As amostras seminais foram obtidas pelo método da eletroejaculação, conforme descrito por HOWARD (1993). Os ejaculados de gato-do-mato-pequeno que apresentaram concentração de espermatozoides acima de $20 \times 10^6/\text{ml}$ e motilidade acima de 60% (n=24) foram submetidos aos protocolos de criopreservação envolvendo dois diluentes, o BIOXCELL (*IMV Technologies*, L'Aigle, França) e o TYB (*Irvine Scientific*, Santa Ana, CA, EUA). Foram também testadas três curvas de criopreservação: uma rápida (RAP) de 20°C a 5°C em 3 h e de 5°C a -196 °C em 2 min; uma (TEB) de 20°C a 5°C em 3 h e de 5°C a -196°C em 20 min; e outra curva realizada pelo equipamento para criopreservação seminal TK-3000 (TK, Tecnologia em Congelamento Ltda., Uberaba, Minas Gerais) de 20°C a 5°C em 1:00 h e estabilizado em 5°C em 1:30 h, com uma taxa de resfriamento de -20°C/min até atingir a temperatura de -120°C para a imersão no nitrogênio líquido. As amostras foram descongeladas 21 dias após e analisadas quanto à motilidade (0-100%), vigor (0-5) e índice de motilidade progressiva (IMP).

Resultados e Discussão

O diluente TYB apresentou uma média (\pm EPM) de motilidade espermática pós-descongelamento de 30,64 \pm 6,58, superior à apresentada com o diluente BIOX (18,23 \pm 6,58) ($p < 0,10$). As três curvas de criopreservação testadas apresentaram resultados similares ($p > 0,10$). Na análise dos resultados pós-descongelamento entre indivíduos, considerando todos os protocolos, foi encontrada diferença significativa ($p < 0,05$) nas médias, indicando que há, também nessa espécie, fatores individuais envolvidos nos resultados de criopreservação de sêmen. Quando foram avaliados os cinco melhores animais, as médias para motilidade espermática pós-descongelamento, em todas as metodologias foram de 41,50 \pm 3,92%; viabilizando a utilização destes protocolos para a preservação de espermatozoides da espécie em questão.

Referências bibliográficas

- Howard, J.G. Semen collection and analysis in nondomestic carnivores. *In: Zoo and Wild Animal Medicine III*, p. 390-399. Ed. ME Fowler. WB Saunders Co, Philadelphia, 1993.
- Tebet, M.J. (2004) Efeito da criopreservação sobre a célula espermática em três espécies de felinos: O gato-do-mato-pequeno (*Leopardus tigrinus*), a jaguatirica (*Leopardus pardalis*) e o gato doméstico (*Felis catus*). Tese de Doutorado. Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho", FMVZ. Botucatu, SP. 2004.

Palavras-chave: *Leopardus tigrinus*, sêmen, criopreservação, felídeos, animais silvestres.

Keywords: *Leopardus tigrinus*, semen, cryopreservation, felids, wild animals.



Avaliação morfológica da viabilidade do auto-enxerto de tecido ovariano em ratas

Morphologic assessment of the viability of autografting of ovarian tissue in rats

M.F. Macedo, M.B. Bezerra, A.L.L. Duarte, M.F. Cordeiro, W.R.R. Vicente, M.R. Pacheco

Universidade Estadual Paulista – UNESP – Campus de Jaboticabal

E-mail: michellymedvet@hotmail.com

Introdução

O auto-enxerto ovariano pode ser definido como ato de enxertar cirurgicamente o ovário íntegro ou fragmentos corticais de seu tecido tendo-se o mesmo animal como doador e receptor, alterando (enxerto heterotópico) ou não (enxerto ortotópico) sua posição anatômica. Esta técnica pode ser útil quando se deseja restaurar ou amplificar a fertilidade de um indivíduo e como modelo de investigação do desenvolvimento folicular a partir dos estágios primordiais. Baseado no fato de não serem vastos os relatos científicos sobre as principais alterações ocorridas e injúrias sofridas a curto e médio prazo, pelo tecido cortical ovariano enxertado sob a cápsula renal, o presente trabalho objetivou avaliar, macroscopicamente, em intervalos de tempo diversos, as mudanças morfológicas presentes, podendo assim determinar mais precisamente qual a relação entre tecido enxertado e órgão receptor.

Material e Métodos

Foram utilizadas 60 ratas da linhagem Wistar, em idade reprodutiva e saudáveis; subdivididas, aleatoriamente, em seis grupos experimentais. Todas as fêmeas foram submetidas à ovariectomia bilateral por incisões sublobares direita e esquerda, após anestesia dissociativa composta por 10 mg de cloridrato de xilazina e 70 mg de cloridrato de cetamina por kg, administrados por via intramuscular. O enxerto medindo aproximadamente 1 mm³ obtido por fragmentação do ovário esquerdo, foi posteriormente inserido, sob a cápsula renal do rim direito exteriorizado através desta incisão. Transcorridas 24 h (grupo A), 72 h (grupo B), 1 semana (sem.) (grupo C), 2 sem. (grupo D), 3 sem. (grupo E), e 4 sem. (grupo F) pós-procedimento cirúrgico de enxertia, os animais foram sacrificados e os tecidos enxertados avaliados quanto à facilidade de sua localização, ocorrência de migração, neovascularização aparente, sinais de infecção, alteração macroscópica do parênquima renal, encapsulamento, rejeição ou morte do tecido enxertado, e ainda quanto ao aspecto macroscópico do útero.

Resultados e Discussão

Houve dois óbitos durante o experimento, sendo um animal pertencente ao grupo A (24h) e um ao grupo C (uma semana) provavelmente em virtude de complicações na recuperação pós-anestésica. Em 89% dos casos foi fácil localizar o tecido enxertado, e em 86% não se verificou processo de migração desse enxerto. A neovascularização pôde ser observada em 74% dos animais, sendo esta característica visível macroscopicamente a partir de 72 h. Não se verificaram sinais de infecção em 96% dos animais; não havendo alteração na morfologia renal, sinais de rejeição ou morte do tecido enxertado em 94% dos casos, estando apenas 6% dos animais do grupo A (24 h) ainda com algum vestígio de processo hemo-dinâmico anormal. Entretanto, em nenhum dos casos foram constatados sinais de encapsulamento do enxerto. Em todas as fases, foram observados folículos antrais, o que indica a manutenção da ciclicidade ovariana com crescimento folicular pós-enxertia. Com relação à macroscopia uterina, em 87% dos casos, o aspecto e o tamanho foram considerados normais para a espécie, reduzido em 8% e aumentado em 5%.

Diante dos resultados expostos, concluímos que o auto-enxerto de tecido ovariano sob a cápsula renal é viável, pois além de fornecer suprimento sanguíneo adequado e de boa qualidade para o tecido enxertado, com curto intervalo de tempo entre a isquemia e a reperfusão teciduais, permite o desenvolvimento folicular satisfatório; não havendo maiores possibilidades de migração, rejeição, morte ou encapsulamento do tecido cortical ovariano enxertado, nem tampouco, danos ao parênquima renal.

Palavras-chave: Auto-enxerto, ovário, cápsula renal, ovariectomia, rata.

Keywords: Autografting, ovary, renal capsule, ovariectomy, rat.



Avaliação do uso de diferentes concentrações de sulfato de amônio na técnica de extração das lipoproteínas de baixa densidade da gema do ovo de galinha

Evaluation of ammonium sulfate's concentrations used for low-density lipoproteins extraction of hens egg yolk

M.M. Neves¹, L.G.D. Heneine², M. Henry¹

¹Setor de Reprodução do Depto de Clínica e Cirurgia Veterinárias – Escola de Veterinária, UFMG

²Fundação Ezequiel Dias – FUNED, MG

E-mail: mmachadoneves@yahoo.com.br

Introdução

A gema de ovo, assim como o glicerol, é um dos mais efetivos agentes contra o choque térmico sofrido pelo espermatozóide no processo de criopreservação. Estudos têm mostrado que as lipoproteínas de baixa densidade (LBD) presentes na gema do ovo são componentes responsáveis pela sua ação protetora, seja por se associar à membrana espermática ou por se ligar às proteínas do plasma seminal (Bergeron e Manjunath, 2006). A extração das LBDs da gema de ovo utilizando sulfato de amônio é um método simples e prático, que permite separá-las de substâncias indesejáveis da gema, além de eliminar possíveis problemas sanitários (Bergeron et al., 2004). O objetivo deste trabalho foi testar diferentes concentrações de sulfato de amônio para serem utilizadas no processo de extração da LBD da gema de ovo.

Material e Métodos

Após separação rigorosa da gema do albúmen, retirou-se, utilizando uma seringa, um volume conhecido de gema, o qual foi misturado em solução salina 0,17M em igual quantidade. A solução foi processada segundo a técnica descrita por Moussa et al. (2002). O plasma da gema, obtido após as centrifugações, foi dividido em cinco grupos experimentais de acordo com a concentração de sulfato de amônio a ser avaliada, sendo os grupos I, II, III, IV e V correspondendo às concentrações de 10%, 20%, 40%, 45% e 50%. A adição do sulfato foi feita lentamente à temperatura de 4°C, sob constante agitação. As soluções foram centrifugadas e os sobrenadantes foram dialisados em água destilada por, no mínimo, 20 horas. As soluções foram novamente centrifugadas, sendo a porção flutuante, correspondente à LBD, avaliada quanto ao teor de matéria seca, a dosagem de proteínas (Método de Lowry) e lípidos (Método de Soxhlet) e ao gel de eletroforese SDS-PAGE.

Resultados e Discussão

A média do teor de matéria seca obtida de acordo com os grupos experimentais de I a V foi de 75, 64, 43, 44 e 39%, respectivamente. A concentração média de proteínas também mostrou uma diminuição à medida que aumentava-se o volume de sulfato adicionado ao plasma da gema, sendo a concentração de 1,517, 1,582, 1,011, 0,675 e 0,79mg/ml, respectivamente para os grupos de I a V. As médias das concentrações de lípidos das LBD's, ao contrário, foram maiores nos grupos III, IV e V, sendo de 28,1, 31,9 e 29,5% da matéria fresca, o que mostra um aumento da taxa de recuperação de LBD's durante o processo de extração. A eletroforese mostrou um aumento na purificação das bandas de LBD de acordo com o aumento de sulfato adicionado, sendo que a de 50% se mostrou mais purificada. Com base nos resultados obtidos, sugere-se que a extração de LBD seja feita utilizando sulfato de amônio a 50%.

Referências bibliográficas

- Bergeron, A.; Manjunath, P.** *Molecular Reproduction and Development*, v. 73, p. 1338-1344, 2006.
Bergeron, A. et al. *Biology of Reproduction*, v. 70, p. 708-717, 2004.
Moussa, M. et al. *Theriogenology*, v. 57, p.1695-1706, 2002.

Palavras-chave: gema do ovo, lipoproteína de baixa densidade, sulfato de amônio, espermatozóide.

Keywords: egg yolk, low-density lipoproteins, ammonium sulfate, spermatozoa.

Agradecimentos: à FAPEMIG pelo apoio financeiro.



Resumos - Índice de autores

authors	page
Abreu CC	239 , 240
Abreu UGP	107
Abreu-e-Lima MCC	90 , 176
Abud LJ	79
Accioly MP	149
Acco A	203
Ackermann CL	191
Adam CL	123
Adrião M	90 , 151 , 176
Aguiar Filho CR	57
Aguiar GV	220
Alberton J	203
Albuquerque FT	237 , 238
Alfieri AA	150
Alkmin DV	107
Almeida GF	205
Almeida J	37
Alvarenga ALN	62 , 63 , 87 , 227 , 228 , 239 , 240
Alvarenga CO	84
Alvarenga MA	163
Alvares CTG	96 , 224
Alvarez RH	9 , 143
Alves AE	181 , 183
Alves BFL	95 , 117 , 196 , 198 , 197
Alves BRC	97 , 167
Alves JF	71
Alves Jr SS	154
Alves PAM	99
Amaral MC	182
Amaral RM	36
Amaral SM	233
Amaral TB	77
Amaral VLL	74 , 194 , 233
Ambrósio CE	19 , 20 , 21 , 91
Amorim AF	34
Amorim EAM	72
Amorim LS	72 , 114
Anchieta MC	131 , 138
Andrade AFC	142
Andrade CRG	234
Andrade DR	236
Andrade ER	150

Andrade GA	199
Andrade RF	85
Andrade VJ	42 , 120 , 129 , 130 , 131 , 138 , 206 , 207 , 209
Angelini M	101
Apparicio M	181 , 183
Aquino Neto HM	226
Araújo AA	40 , 220
Araújo CV	82
Araújo EB	203
Araújo JB	192 , 193
Araújo LL	192 , 193
Araújo MC	38
Araújo RS	228
Arcuri SL	240
Arguello FAPB	110
Arias D	231
Arrivabene M	127
Arruda RP	142
Assaf SS	39
Assumpção MEOA	178
Atique Netto H	28
Ayres H	55 , 124 , 221
Azeredo DM	202
Azevedo EMP	57
Azevedo EO	112
Azevedo H	75
Azevedo HC	148 , 195
Azevedo JR	134
Azevedo NA	16 , 42
Bacelar FHF	108
Balarini MK	64 , 68 , 69 , 70 , 241
Balieiro JCC	94 , 115
Bandeira DA	112
Baptista Sobrinho CA	66
Barbosa CC	177
Barbosa EM	51 , 52
Barbosa LP	73
Barbosa RD	159 , 188
Barnabe RC	66 , 171
Barnabe VH	66 , 170 , 171
Barreiros TRR	134
Barros DS	110
Barth AD	210

Bartolomeu CC	96 , 224
Bartz C	145
Baruselli PS	121 , 122 , 123 , 124 , 143
Bastos A	133
Bastos MR	13
Bastos TX	82
Batista CAPM	149
Beier SL	189
Beletti ME	43 , 44
Bergmann JAG	41 , 116
Bernardes KM	79 , 80
Bertolini LCT	121
Bertolini LR	21
Bertolini M	21 , 210
Beskow A	202
Bezerra EEA	98 , 119
Bezerra FQG	57
Bezerra GA	134
Bezerra JMD	137 , 155
Bezerra MB	243
Bicudo SD	54 , 75 , 86 , 148 , 195
Bilego UO	76
Binsfeld LC	144
Biscarde CEA	54 , 152
Bispo CAS	114
Bittencourt RF	54 , 152
Bittencourt VL	70
Bizinoto AL	15
Blanco IDP	161 , 163
Blanco P	231
Blaschi W	134
Blume H	179 , 180
Bolivar MJL	155
Bomfim CAM	78
Bomm SH	190
Bonini-Jr P	203
Borges AM	141 , 214 , 226
Borges I	217 , 218
Borges LN	17
Borges PHR	179 , 180
Bracarense APFRL	150
Brandão FZ	145 , 214
Brasil OO	149
Breda JC	146
Bruschi JH	215



Bueno Jr CF	103
Bustamante Filho IC	162
Caldara F	199
Caldas JS	146
Caldeira BC	68, 69, 241
Calegari J	213
Caliari MV	11
Camargo LSA	129, 130, 206, 207, 215
Campelo JEG	158
Campos ACN	220
Campos FAP	157
Campos GM	216
Campos LJF	208
Cangussú MG	206
Canisso IF	225
Caramori Jr JG	88
Cardilli DJ	181, 183
Cardoso CP	53
Cardoso FS	36
Cardoso PBS	170, 171
Cardoso RCS	168, 172
Carli L	146
Carmo AS	47, 48, 49, 102, 217
Carmo MT	163
Carreiro SS	121
Carretta Jr M	68, 69, 70, 241
Carrijo PR	204
Carvalho R	78
Carvalho AFS	239, 240
Carvalho AL	242
Carvalho BP	100, 205
Carvalho GR	160, 225
Carvalho HP	88
Carvalho JA	96, 224
Carvalho JAG	158
Carvalho LB	22
Carvalho MAM	67
Carvalho MAP	199
Carvalho NAT	143
Castro ACS	11
Castro ACN	89
Castro EA	128
Castro Jr FG	50
Castro PHG	193
Castro R	101

Castro RS	112
Castro TAMG	50
Cavalcante JMM	149
Cavalcante TV	127
Cavalcanti AS	145, 214
Celes CKS	220
César CNR	151
Cesaro MP	210
Chacur MGM	38
Chalhoub M	152
Chaves MEC	58
Chaves RM	18, 57
Chirinea VH	33, 168, 172, 174, 184
Christilis M	90, 176
Ciarlini LDRP	78
Clemente CAA	48, 49, 217
Coelho CMM	79
Coelho DV	152
Cordeiro MF	55, 221, 243
Cordeiro MS	193
Cordeiro RG	73
Cordini M	194, 233
Corrada Y	231
Correa GSS	129, 131, 138, 206
Cortada CNM	66
Cosentino PNS	110
Costa APR	36
Costa DS	53, 69
Costa FAL	98
Costa FMM	45
Costa GL	79
Costa NA	82
Costa RG	55, 221
Costa-e-Silva EV	14, 46, 106, 204
Costardi ML	77
Cottorello ACP	141
Creusen JDE	205
Crusco SE	170
Cruz FB	140, 210
Cubas P	242
Cunha ICN	61
Curty NA	60
Dal Curtivo CP	190
Dallabrida AL	21
de la Sota RL	175
De Nardo CDD	28

Decuadro G	84
Del Rei AJ	96, 212, 224
Derussi AAP	33, 174
Devito LG	161, 163
Dias ALG	140
Dias JC	129, 130, 206, 207, 209
Dias M	72, 114
Diniz EG	43, 44
Domingos TFS	59
Domingues SFS	192, 193
Douglas RH	232
Drummond M	114
Drummond VO	111
Drumond M	72
Drumond MM	35, 239, 240
Duarte ALL	243
Duarte MS	128
Durigon E	101
Dutra Filho CS	162
Eler JP	115
Eloy AMX	56
Emerick GL	131, 206
Emerick LL	42, 120, 129, 130, 131, 138, 206, 207, 209,
Erdmann RH	190, 242
Ereno Jr JC	136
Ereno RL	10, 39
Esmeraldino AMT	24
Esteves GIF	79
Faria APP	111
Faria PC	89
Farias JLS	118
Faustino LR	149
Feliciano-Silva AED	75
Felipe-Silva AS	42, 129, 138, 207
Felizardo VO	35, 239, 240
Fernandes AA	113
Fernandes CAC	95, 117, 196, 197, 198, 199
Fernandes CB	161, 163, 189
Fernandes CE	75, 208
Fernandes CES	77
Fernandes LO	16, 42
Ferraciú PR	93
Ferraz CN	179



Ferraz HT	76 , 135	Gambarini ML	17 , 76 , 135	Hasegawa MY	84 , 101
Ferraz JBS	115	Garcia AR	82 , 142	Hatamoto-Zervoudakis LK	66 , 88 , 110
Ferraz MS	159 , 188	Garcia JM	132 , 139	Headley SA	219
Ferraz PC	212	Gaudêncio Neto S	140	Heinemann MB	97
Ferreira AM	22	Gerger RPC	21	Heneine LGD	244
Ferreira AR	76 , 80	Giacomeli AM	146	Henry M	47 , 48 , 49 , 102 , 141 , 167 , 217 , 218 , 223 , 244
Ferreira CR	139	Gimenes LU	123 , 124	Hermann KL	233
Ferreira DA	218	Gimenez F	175	Herrera HM	107
Ferreira HN	163	Gioso MM	95 , 117 , 196 , 198 , 199	Higawa LM	111
Ferreira JCP	13	Gobello C	231	Holanda GML	151
Ferreira MB	15 , 16	Goes PAA	170 , 171	Horta MCR	27
Ferreira MBD	42 , 138	Goiozo PFI	77	Jacomini JO	43 , 44
Ferreira MIC	218	Goldberg RS	236 , 237 , 238	Jaume CM	147
Ferreira RM	55 , 221	Gomes LM	215	Jesus VLT	37 , 89 , 99 , 100
Ferreira WM	72	Gomes MGT	48 , 49 , 217 , 218	Jobim MIM	24 , 162 , 202
Ferrell CL	21	Gomes MJP	100	Jorge RS	154
Fiala S	24	Gomes RS	48 , 49	Juliani G	167
Fiala SM	25	Gonçalves JSA	178	Junqueira RM	121
Fidelis AA	180	Gonçalves KS	82 , 142	Justino RC	185
Figueiredo ACS	95 , 196 , 197 , 198	Gonçalves MC	140	Juvenal JC	242
Figueiredo CL	154	Gonçalves PEM	42 , 129 , 130 , 131 , 138 , 207	Katayama KA	14
Figueiredo Filho LAS	158	Gonçalves RFB	149	Ker PG	225
Figueiredo JR	150	Gonçalves RJF	17	Kfoury Jr JR	19
Finger MAP	26	Gonzalez CIM	57	Killian GJ	40
Folhadella IM	129 , 130 , 207	Gordiano HD	152	Kozicki LE	26 , 103 , 133 , 144 , 146 , 164 , 200
Fonseca GG	203	Goulart DS	79	Kronka SN	38
Fonseca JF	145 , 203 , 214 , 215	Graça DS	206	Lagares MAM	167
Fontenele-Neto JD	168	Granemann LC	165 , 166	Lage AP	102 , 141
Fontequé JH	21	Greenberg S	211 , 229 , 230	Lage LV	72 , 114
Forell F	21	Gregianini HA	203	Lage MCGR	234
Frade MC	78	Gregory RM	25	Landim-Alvarenga FC	161 , 163 , 189
Frajblat M	74 , 194 , 233	Gregory JW	162	Lanna LL	65
Franceschini PH	55 , 221	Gregory L	84 , 101	Lara MCCH	101
Franco A	102	Gregory RM	24 , 162 , 202	Leal L	199
Franco LG	80	Grycajuk MCH	93	Leitão MCG	58
Franco MM	128	Guardieiro MM	43 , 44	Leite Netto MC	171
Freitas ERL	201	Guerra FF	12	Leite PA	204
Freitas JA	144	Guerra MMP	58 , 153 , 222	Leite RC	22 , 97 , 113
Froes T	91	Guido MC	93	Leite TG	129 , 130 , 131 , 138 , 207
Fuck EJ	219	Guidotti M	35	Libonati J	235
Fukutaki FM	92	Guillo LA	201	Lima AHR	177
Furtado JR	56	Guimarães CO	80	Lima AL	226
Fuverki RBN	26	Guimarães EC	43 , 44		
Gabriel AMA	37	Guimarães JD	160		
Gaggini TS	62 , 63 , 87 , 227	Gusmão AL	73 , 152		



Lima CS	17	Mâncio AB	109	Mezzalira J	140
Lima D	62, 63, 87, 227, 228	Manzato AJ	148	Miglino MA	19, 20, 21, 91, 154
Lima Filho JL	58	Marangoni NR	12	Milczewski V	146
Lima FPC	41, 116	Marçal WS	104, 105	Miller J	227, 228
Lima ICS	220	Maria DA	19, 20	Mineiro ALBB	98, 119
Lima JS	192, 193	Marques Jr AP	41, 116, 232	Minto BW	189
Lima LC	113	Marques Jr CA	42	Miyasaki MYA	82, 142
Lima LF	216	Marson EP	115	Mollo MR	13
Lima PF	57	Martinez AC	9	Mondadori RG	179, 180
Lima-Neto JF	161	Martins AC	13	Monteiro JC	178
Lira SRS	36	Martins DG	92	Monteiro Jr PLJ	58, 153, 215
Lisboa LA	134	Martins DS	91	Moraes ALS	28
Lopes BC	15, 16, 138	Martins E	53	Moraes AN	21
Lopes DT	76, 135	Martins Filho R	108	Moraes EA	114
Lopes EP	160		129, 130, 131, 138, 206, 207, 209	Moraes GV	219
Lopes FG	114	Martins JAM	152	Moraes JCF	147
Lopes LG	77	Martins LEP	152	Moraes Jr FJ	108
Lopes MD	33, 94, 168, 172, 174, 184, 189	Martins LR	161, 189	Moraes W	242
Lopes PR	30	Martins LT	210	Morais ACT	73
Lopes-Neto BE	177	Martins MIM	184, 185, 186, 187	Morais DB	73
López ML	59, 60	Martins RV	88	Moreira MAB	93
Loureiro FN	156	Martins VMV	53	Moreira N	190, 242
Lourenço Jr JB	82, 142	Mascarenhas RM	65, 68, 69, 70, 241	Morini AC	91
Lourenço TPM	91	Mata SLP	69	Mostachio GQ	181, 183
Lucacin E	203	Mataveli M	219	Mota MF	203
Lucca Neto JA	74	Matos LB	82	Motheo TF	92, 181, 183
Lúcio CF	23, 29, 31, 178	Matta SL	72	Motta WF	114
Lui JF	92	Matta SLP	64, 73	Moura AA	40
Luppi MMCP	91	Mattos RC	24, 25, 162, 202	Moura ACB	85, 156
Macedo GG	14	Maymone ACM	222	Moura MI	79, 80
Macedo Jr GL	218	Maziero RRD	13	Moura MR	116, 232
Macedo MF	243	Medeiros MG	92	Moya CF	10
Macedo NA	45, 98, 108, 188	Meira C	44	Muradás PR	26, 164, 165, 166
Machado MA	169	Meira Jr EBS	84, 101	Muratori MCS	36
Machado P	207	Meirelles C	103, 133, 200		35, 62, 63, 87, 227, 228, 239, 240
Maciel A	97	Meirelles FV	115	Murgas LDS	240
Madeira VLH	177	Mello MMC	149	Murta JEJ	120, 131
Madureira EH	143	Mello MRB	205	Myrrha LW	27
Maia FCL	90	Melo CB	111, 112	Nagao JF	186, 187
Maia MS	148, 195	Melo DS	55, 139, 221	Nagasaku EM	143
Mainardi F	88	Melo EO	128	Nahúm BS	82, 142
Maio JRG	121	Melo MIV	173, 223, 234	Nascimento EF	11
Malburg C	194	Mendes FC	42	Nascimento VA	72, 114
Malison JA	113	Mendonça LF	47	Navarro RB	213
Malschitzky E	24	Mezzalira A	21, 210	Negreiros GO	119
Mancilha RF	122			Neves A	24



Neves AL	96
Neves JP	57 , 216
Neves MM	73 , 244
Nichi M	66 , 170 , 171
Niciura SCM	139
Nogueira E	208
Nogueira ET	109
Nogueira FRC	37
Nogueira GP	9 , 12 , 121
Nogueira JC	11
Nogueira LAG	129 , 131 , 145 , 214
Nonato Jr I	136
Nunes JF	67 , 149 , 153
Nuñez Favre R	175
Oba E	10 , 39 , 54 , 196 , 199
Oberlender G	62 , 63 , 87 , 227
Oddone MC	34
Ohashi OM	193
Oliveira AB	127
Oliveira ACS	136
Oliveira AP	97
Oliveira CA	30
Oliveira CC	71
Oliveira CH	226
Oliveira CM	127
Oliveira CS	132 , 139
Oliveira DJC	12
Oliveira DR	42
Oliveira ECS	232
Oliveira ER	95 , 117 , 196 , 197 , 198
Oliveira ES	120
Oliveira F	43
Oliveira Filho BD	17 , 76 , 135
Oliveira Filho JX	88
Oliveira JA	30 , 150
Oliveira Jr EG	132
Oliveira JVS	173
Oliveira KG	192 , 193
Oliveira KS	169
Oliveira LL	96
Oliveira LS	118
Oliveira MAL	57
Oliveira MEF	55 , 85 , 156 , 221
Oliveira PC	94 , 154

Oliveira RMP	99
Oliveira RV	149
Orro IR	204
Ortigari I	140
Oshiro LMY	237 , 238
Pacheco MR	243
Padilha LC	150 , 186 , 187
Palhares MS	226
Panattoni JF	154
Pantoja PSP	192 , 193
Paranhos AMD	71
Parente JCB	149
Parizotto Jr N	104 , 105
Passos TS	204
Paula TAR	64 , 65 , 68 , 69 , 70 , 241
Pederzoli CD	162
Peixoto ALVA	153
Peixoto GV	64
Peixoto JV	64 , 68 , 69 , 70 , 241
Peixoto RT	27
Penha-Filho MM	85 , 156
Penitente-Filho J	72 , 114
Perecin F	132 , 139
Perecmanis S	111
Pereira BM	95 , 117
Pereira GJM	35 , 239 , 240
Pereira LP	213
Pereira LV	201
Pereira MF	176
Pereira PAC	22
Pereira RG	100
Pereira WLA	85
Peres RFG	125 , 126
Perez Osorio J	48 , 49 , 102 , 167
Pessoa GA	213
Pessuto EC	91
Piagentini M	10 , 39
Pina AE	214
Pinheiro CAL	156
Pinheiro FTS	191
Pinho RO	83 , 160
Pinto MGL	190
Pinto CAS	179 , 180
Pinto ML	30
Pinto-Neto A	203
Pires EA	181 , 183

Pires MFA	15
Pires MV	235
Pires PP	77
Pires RML	9 , 50
Polli GO	241
Pontes JHF	19 , 20 , 136 , 154
Porto ALF	58
Pugliesi G	226
Queiroz CF	155
Queiróz MR	20
Quirino CR	61
Rabelo RE	79 , 80
Rabinovich L	211 , 229 , 230
Rachid MA	173
Ramos A	130
Ramos EM	127
Reginato PF	19 , 20
Rego JPA	118 , 151
Reis SR	120 , 130
Resende Filho O	119
Resende J	152
Resende KT	55 , 221
Resende OA	37
Retamal CA	59 , 60
Reyne J	73
Rezende LC	71
Ribas JAS	61
Ribeiral CB	111
Ribeiro B	152
Ribeiro ES	210
Ribeiro Filho AL	111 , 152
Ribeiro HFL	51 , 52 , 81 , 83
Ribeiro SA	16
Ribeiro VT	64
Rici REG	19 , 20
Rizzo H	84 , 101
Rocha AA	16
Rocha AN	160
Rocha DC	202
Rodello L	148 , 195
Rodrigues AL	225
Rodrigues ALR	86
Rodrigues BLF	52 , 137
Rodrigues CA	122 , 124
Rodrigues JA	23 , 29 , 31 , 178
Rodrigues JL	21
Rodrigues JNM	101



Rodrigues LFS	22 , 85 , 156	Segui MS	103 , 133 , 165 , 200	Simões AR	83 , 155
Rodrigues MP	170 , 171	Seixas LS	111 , 112	Simplicio AA	157
Rodrigues MV	69	Seneda MM	134 , 136 , 150	Siqueira J	54
Rodrigues V	30 , 92	Sgaravatti AM	162	Siqueira JB	160
Rodriguez R	231	Shalit U	211 , 229 , 230 ,	Siqueira LGB	97
Rolim Filho ST	18 , 51 , 52 , 81 , 83 , 137 , 155	Shimoda E	236	Snel-Oliveira MV	179 , 180
Romão JM	67	Sicherle CC	148 , 195	Snoeck PPN	223
Rosa DC	213	Silva ECA	188	Soares AO	51 , 52
Rosa LS	106	Silva AA	201	Soares BD	46
Rosa VB	194	Silva AC	228	Soares LK	80
Rossi R	226	Silva AEDF	157	Soares PC	222
Ruas JRM	226	Silva ALS	145 , 214	Soares PRO	201
Rube A	231	Silva AR	168 , 172	Sobral APV	90
Rubin KCP	136	Silva ARS	78	Sodré DNA	208
Rubin MIB	213	Silva AV	203	Solano GO	137
Rueda PM	14	Silva BCM	226	Solano OG	18 , 155
Ruiz CM	28	Silva CAM	213	Solano RF	18 , 137 , 155
Rumpf R	13	Silva DM	62 , 63 , 87 , 227	Soto GMT	28
Russi LS	106	Silva EC	225	Sotomaior C	146
Sá Filho OG	125 , 126	Silva ECA	159	Sousa DB	28 , 148 , 195
Sá MJC	232	Silva ECB	58	Sousa ECF	224
Sainz RD	21	Silva FF	114	Sousa HLL	85 , 156
Saito ME	21	Silva Filho JM	15 , 225 , 226	Souza AF	188
Sala RV	154	Silva GS	88	Souza AH	122 , 123 , 124
Sales JNS	121	Silva JFS	61	Souza CE	40
Salgueiro CCM	67 , 149 , 153	Silva JM	119 , 159 , 188	Souza CJH	147
Salmito- Vanderley CSB	67	Silva JMA	35 , 239 , 240	Souza DFR	149
Salviano MB	45 , 108 , 158	Silva Jr LS	110	Souza EDF	121
Sanches BV	136	Silva Jr VA	222 , 232	Souza FA	206 , 226
Santiago LL	109	Silva KMG	58	Souza FF	28 , 33 , 172 , 174 , 184
Santos DO	118 , 151 , 157	Silva LAF	79 , 80	Souza G	236
Santos F	152	Silva LC	27 , 234	Souza JAT	45 , 108 , 158
Santos FC	17 , 76 , 135	Silva LCG	23 , 29 , 31 , 178	Souza JC	16 , 144
Santos IW	144 , 165	Silva LDM	32 , 168 , 172 , 177 , 182 , 191	Souza JMG	215
Santos MHB	57	Silva MA	130 , 131 , 206 , 207 , 209	Souza MFA	46
Santos NR	47	Silva MAM	79	Souza SF	55 , 221
Santos PAC	45	Silva Neto AR	67	Stornelli MA	175
Santos RP	201	Silva RAB	158	Stornelli MC	175
Santos TC	19 , 20	Silva RAMS	39	Stynen APR	141
Saraiva NZ	132 , 139	Silva RB	132	Suzano SM	235
Sartori R	13 , 216	Silva SRG	36	Teixeira AA	122 , 124
Satzinger S	182	Silva SV	153	Teixeira AVC	56
Savi PAP	186 , 187	Silva TASN	216	Teixeira IAMA	55 , 221
Savignone CA	175	Silva TFP	191	Teixeira MJCD	90 , 176
Sbeghen MJ	203	Silveira AM	235	Teixeira PPM	85 , 156
Schwartz MG	146			Teles MAD	64



Tetzner TAD	132 , 139
Tittarelli CM	175
Toniolli R	150
Toniollo GH	30 , 92 , 169
Tornisielo VL	21
Torres CAA	72 , 114 , 160
Torres SM	222
Tórtora M	231
Torturella RD	216
Tostes FM	99
Treml TE	164 , 166
Trés JE	37 , 100
Tsuribe PM	161
Tutida L	86
Uchoa DC	177 , 182
Uvo S	136
Valarelli RL	125 , 126
Vale Filho VR	42 , 120 , 129 , 130 , 131 , 138 , 206 , 207 , 209
Vale WG	51 , 52 , 81 , 83
Valim JR	143

Valle GR	11 , 27 , 173 , 234
Vannucchi CI	23 , 29 , 31 , 178
Vannucci FS	143
Vantini R	139
Varago F	217
Vasconcelos EAR	157
Vasconcelos JLM	125 , 126
Vasconcelos JT	39
Vasconcelos RO	67
Vasconcelos TD	95 , 117 , 197 , 198
Veiga GAL	23 , 29 , 31
Velasco G	34
Veras MM	42 , 138
Verburg R	136
Verneque RS	22
Viana JHM	15 , 95 , 97 , 197 , 198 , 215 , 214
Viana WS	226
Vianna LR	234
Vicente WRR	55 , 92 , 181 , 183 , 221 , 243

Vidal Júnior MV	236
Vieira AD	21 , 140
Vieira DK	235
Vieira FG	27
Vieira Filho MA	159 , 188
Vieira MJAF	67
Vieira PHS	104 , 105
Vieira RJ	98 , 119 , 159 , 188
Viu MAO	17 , 76 , 135
Voorwald FA	92
Weiss RR	26 , 103 , 133 , 144 , 164 , 165 , 166 , 200
Welter BM	43 , 44
Wischral A	90 , 151 , 176
Wünsche Jr AG	134
Xavier GC	222
Zaleski L	204
Zangeronimo MG	62 , 63 , 87 , 227 , 228
Zart AL	208
Zatz M	91
Zúccari CESN	14 , 46 , 106 , 204



Índice por espécies

Espécies e categorias de assuntos	Página
Animais de laboratório	
Fisiologia da fêmea	36
Fisiologia do macho	72 , 73 , 74
Produção	114
Biotecnologia e reprodução assistida	194
Metodologias e técnicas aplicadas à reprodução animal	243
Animais silvestres	
Fisiologia do macho	64 , 68 , 69 , 70 , 71
Biotecnologia e reprodução assistida	192 , 193
Metodologias e técnicas aplicadas à reprodução animal	241 , 242
Aves	
Metodologias e técnicas aplicadas à reprodução animal	230
Bovinos	
Fisiologia da fêmea	9 , 10 , 11 , 12 , 13 , 14 , 15 , 16 , 17 , 18 , 19 , 20 , 21 , 22
Fisiologia do macho	37 , 38 , 39 , 40 , 41 , 42 , 43 , 44 , 45 , 46 , 47 , 48 , 49
Patologia da reprodução	75 , 76 , 77 , 78 , 79 , 80
Doenças da reprodução	95 , 96 , 97 , 98 , 99 , 100
Produção	103 , 104 , 105 , 106 , 107 , 108
Genética	115 , 116
Biotecnologia e reprodução assistida	117 , 119 , 120 , 121 , 122 , 123 , 124 , 125 , 126 , 127 , 128 , 129 , 130 , 131 , 132 , 133 , 134 , 135 , 136 , 137 , 138 , 139 , 140 , 141
Metodologias e técnicas aplicadas à reprodução animal	196 , 197 , 198 , 199 , 200 , 201 , 202 , 203 , 204 , 205 , 206 , 207 , 208 , 209 , 210 , 211 , 212 , 213
Bubalinos	
Fisiologia do macho	50 , 51 , 52
Patologia da reprodução	81 , 82 , 83
Biotecnologia e reprodução assistida	142 , 143
Metodologias e técnicas aplicadas à reprodução animal	212
Caninos	
Fisiologia da fêmea	27 , 28 , 29 , 30 , 31 , 32 , 33
Fisiologia do macho	65 , 66
Patologia da reprodução	89 , 90
Biotecnologia e reprodução assistida	168 , 169 , 170 , 171 , 172 , 173 , 174 , 175 , 176 , 177 , 178 , 179 , 180 , 181 , 182 , 183 , 184 , 185 , 186 , 187
Metodologias e técnicas aplicadas à reprodução animal	231 , 232 , 233 , 234
Caprinos	
Fisiologia do macho	55 , 56 , 57
Doenças da reprodução	101
Produção	112
Biotecnologia e reprodução assistida	118 , 157 , 168
Metodologias e técnicas aplicadas à reprodução animal	219 , 220 , 221 , 222
Diversos	
Biotecnologia e reprodução assistida	195
Metodologias e técnicas aplicadas à reprodução animal	244
Equídeos	
Fisiologia da fêmea	24 , 25 , 26
Fisiologia do macho	58 , 59 , 60 , 61
Doenças da reprodução	102
Biotecnologia e reprodução assistida	159 , 160 , 161 , 162 , 163 , 164 , 165 , 166 , 167
Metodologias e técnicas aplicadas à reprodução animal	223 , 224 , 225 , 226
Felinos	
Biotecnologia e reprodução assistida	189 , 190 , 191



Metodologias e técnicas aplicadas à reprodução animal	235
<hr/>	
Ovinos	
Fisiologia da fêmea	23
Fisiologia do macho	53 , 54
Patologia da reprodução	84 , 85 , 86
Produção	109 , 110 , 111
Biotecnologia e reprodução assistida	144 , 145 , 146 , 147 , 148 , 149 , 150 , 151 , 152 , 153 , 154 , 155 , 156 , 188
Metodologias e técnicas aplicadas à reprodução animal	214 , 215 , 216 , 217 , 218
<hr/>	
Peixes	
Fisiologia da fêmea	34 , 35
Fisiologia do macho	67
Produção	113
Metodologias e técnicas aplicadas à reprodução animal	236 , 237 , 238 , 239 , 240
<hr/>	
Suínos	
Fisiologia do macho	62 , 63
Patologia da reprodução	87 , 88
Metodologias e técnicas aplicadas à reprodução animal	227 , 228 , 229
<hr/>	



Lista de participantes

Nome	Cidade/UF	e-mail
Adalgiza Pinto Neto	Umuarama - PR	adalgiza@unipar.br
Ademar Paes de Almeida	Presidente Prudente - SP	
Adriana de Siqueira Rosinelli		
Adriana Paula Possamai	Curitiba - PR	
Adriana Santana Carmo	Belo Horizonte - MG	
Adriano Fernandes Raposo	Londrina - PR	adrianofraposo@hotmail.com
Adriano H. de Souza		
Adrieli Martins	Curitiba - PR	lelous_vet@yahoo.com.br
Alberto Back	Cascavel - Pr	
Albino Kieras Junior	Umuarama - PR	moskatop@hotmail.com
Aldiney Tomaz do Espírito Santo	São Miguel do Guamá - PR	aldineytomaz@oi.com.br
Alessandra Ambrósio Teixeira	Ribeirão Preto - SP	ale_ambrosioteixeira@hotmail.com
Alessandra Lourenço		
Alessandra Ximenes Santos	Belém - PA	alessandra.ximenes@gmail.com
Aleteia R. Senger	Curitiba - PR	ale.senger@ibest.com.br
Alex Johannes van Westering	Tapiratiba - SP	alex@guaxupe.com.br
Alex Júnior Souza de Souza	Belém - PA	ajrsouza@yahoo.com.br
Alexandre Chacon	São Paulo/SP	
Alexandre da Silva Corrêa	Belém - PA	parathebest@yahoo.com.br
Alexandre de Faria Tabet	São Paulo - SP	albert@usp.br
Alexandre Faria Martins França Silva	Guaratinguetá - SP	alexandre_guara@yahoo.com.br
Alexandre Henrily de Souza	São Paulo - SP	ahsouza@usp.br
Alexandre Nolibos Marchetti	Porto Alegre - RS	
Alexandre Rodrigues Silva	Mossoró - RN	alexrs@ufersa.edu.br
Alexandre Rossetto Garcia	Belém - PA	argarcia@cpatu.embrapa.br
Alfredo Guimarães Costa	Curitiba - PR	
Aline Dalmolin	Umuarama - PR	aline_linezinha@hotmail.com
Aline Ferreira Souza de Carvalho	Lavras - MG	lilifsc@hotmail.com
Aline Kehrle	Arujá - SP	alinekehrle@yahoo.com.br
Aline Rafaeli Hoffmann	Palotina - PR	alinerhoffmann@yahoo.com.br
Aline Schafrum Macedo	Curitiba - PR	limacedo@gmail.com
Aline Silva Fujita	Curitiba - PR	alinefujita@gmail.com
Alisson Giacomeli	São José dos Pinhais - PR	alissongiacomeli@hotmail.com
Almir Salgado		
Amilton Paulo Raposo Costa	Teresina - PI	amilfox@uol.com.br
Ana Augusta Pagnano Derussi	Botucatu - SP	ana_pagnano@yahoo.com.br
Ana Beatriz Bertoncello Rodrigues	Bandeirantes - PR	biazuda_09@hotmail.com
Ana Beatriz Ferreira Jobim de Carvalho	Rio de Janeiro - RJ	abjobim@yahoo.com.br
Ana Carolina Gurgel Knopki		
Ana Carolina Muniz	Umuarama - PR	ana_karoll@hotmail.com
Ana Caroline Garrido	Curitiba - PR	
Ana Cláudia Pinto Cottorello	Belo Horizonte - MG	acottorello@hotmail.com
Ana Cristina Nery de Castro	Rio de Janeiro - RJ	anacastro@ufrj.br
Ana Cristina Silva de Figueiredo	Alfenas - MG	tina@biotran.com.br
Ana Izabel Villaverde		
Ana Leticia Kolichski	Curitiba - PR	
Ana Luísa Neves Alvarenga	Lavras - MG	analuisaneves@hotmail.com
Ana Lydia Vasco de Albuquerque Peixoto	Recife - PE	analydia@esser.edu.br
Ana Lys Bezerra Barradas Mineiro	Teresina - PI	lysbarradas@yahoo.com.br



Ana Maria de Mello Silveira	Rio de Janeiro - RJ	anamello@vetlegal.com.br
Ana Paula		
Ana Paula Bertoni Bernardineli	Umuarama - PR	paula_bertoni@hotmail.com
Ana Paula de Lima Maia	Rio de Janeiro - RJ	paulinhamaia@yahoo.com.br
Ana Paula Dias da Silva	Curitiba - PR	ana_zootec@hotmail.com
Ana Paula Menegatti	Juatuba - MG	
Ana Victoria Zeppelini Nascimento	Rio Claro - SP	vickyzn@hotmail.com
Analice de Cesaro Cavaler	Umuarama - PR	analicecavalier@hotmail.com
André Dicezar Scarante Pereira	Umuarama - PR	andredicezar@hotmail.com
André Furugen César de Andrade	Pirassununga - SP	andrefc@usp.br
André Gomiero Rigo	Londrina - PR	agrigo@gmail.com
André Guilhen	Maringá - PR	andreguilhen@ourofino.com
André Luís Rios Rodrigues	Uberaba - MG	arios@terra.com.br
André Luiz Bento Rocha	Umuarama - PR	andrebentorocho@hotmail.com
André Luiz Brandão	Curitiba - PR	
André Penido Oliveira	Belo Horizonte - MG	andre.penido@gmail.com
André Reale Simões		ar_reale@hotmail.com
André Ricardo Ebert		
André Vianna Martins	Teresópolis - RJ	amartins@terenet.com.br
Andréa Castro	Juatuba - MG	
Andréa Maria de Araújo Gabriel	Dourados - MS	andrea.gabriel@ufgd.edu.br
Andrei Antonioni Guedes Fidelis	Brasília - DF	andreifidelis@gmail.com
Andrei Beskow	Porto Alegre - RS	andreivet@yahoo.com.br
Andréia Bittar Saab	Iretama - PR	andrea.saab@bol.com.br
Andréia Molardi Bainy	Curitiba - PR	andrea_mb@ufpr.br
Andrés Henriques	Campinas - SP	
Andressa Ferreira Marques		andressa_vet@hotmail.com
Andrey Pereira Lage		
Ângela Faccin	Curitiba - PR	
Ângela Maria Xavier Eloy	Sobral - CE	angela@cnpq.embrapa.br
Ângelo Robaldo Bragato	Passo Fundo - RS	angelobragato@hotmail.com
Aníbal Souza Felipe da Silva	Belo Horizonte - MG	anibalfelipe@yahoo.com
Anneliese de Souza Traldi	Pirassununga - SP	astraldi@usp.br
Anselmo Micheletti	Lapa - PR	anselmo.fabiola@uol.com.br
Antônio Carlos Fernandes Pinheiro	Colinas do Tocantins - TO	pinheirovet@uol.com.br
Antônio Cavalcante Mota Filho	Mossoró - RN	acmfmedvet@hotmail.com
Antônio César Pacheco Formighieri	Umuarama - PR	
Antônio de Pinho Marques Jr.	Belo Horizonte - MG	ampinho@ufmg.br
Antônio João Scandola		
Antônio Neiva Rego Júnior	Araguaína - TO	juniorvet5@hotmail.com
Antônio Nelson Lima da Costa	Juazeiro do Norte-CE	nelsonvet@ufc.br
Aracéle E. Alves	Jaboticabal - SP	cellealves@yahoo.com.br
Arlicio Fontes L.Borges Machado	Nanuque - MG	
Arlindo de Alencar Araripe Moura	Fortaleza - CE	arlindo.moura@gmail.com
Artur André Cardoso Bertol	Curitiba - PR	
Athos de Assumpção Pastore	Sertãozinho, SP,	dr.athos@netsite.com.br
Augusto Hoffstaedter	Victor Graeff - RS	ahoffstaedter78@yahoo.com.br
Augusto Sandro Franco Ribeiro de Paula	Belo Horizonte - MG	gustimvet@gmail.com
Áurea Wischral	Recife - PE	aurea@dmv.ufpe.br
Aurino Alves Simplício	Mossoró - RN	aa.simplício@uol.com.br
Ayr Sérgio Nunes Hoffmann	Lagoa Vermelha - RS	ayrhoffmann@hotmail.com
Bárbara Armendro Alves	Rio de Janeiro - RJ	pequena1001@bol.com.br



Bárbara Renata Fonte Rodrigues	Belém - PA	barbamedvet@hotmail.com
Beatriz Alves Bringel	Rio de Janeiro - RJ	betlrj@yahoo.com.br
Beatriz Calderari Vianna	São José dos Pinhais - PR	beatrizmedvet@netpar.com.br
Beatriz Cordenonsi Lopes	Uberaba - MG	beatriz@fazu.br
Beatriz Ramos Bertozzo	Campo Grande - MS	beatrizbertozzo@terra.com.br
Belisa Costa Manjud Maluf	Belo Horizonte - MG	
Benedito Dias de Oliveira Filho		
Bernardo Cerbaro	Passo Fundo - RS	becerbarovet@yahoo.com.br
Bettina Karla Kaier		
Bianca Cabral Caldeira	Viçosa - MG	biancaccaldeira@yahoo.com.br
Bratiner Matias Pereira	Alfenas - MG	braitnermp@hotmail.com
Brenda Maria de Amorim	Ananinduva - PA	brenda-amorim@yahoo.com.br
Bruna Ferreira Ribeiro	Belém - PA	bruna_maio@yahoo.com.br
Bruno César Moreira	Cascavel - Pr	brunocesarbrturbo@hotmail.com
Bruno Cesar Ribeiro da Silva Oliveira	Rio de Janeiro - RJ	brunocesarvet@yahoo.com.br
Bruno Diogo Soares	Limeira - SP	vetbdsoares@gmail.com
Bruno Fernandes Ludgero Alves	Alfenas - MG	bfla@biotran.com.br
Bruno Francisco de Souza Casalino	Londrina - PR	brunaitt@hotmail.com
Bruno Guilherme Soriano Moura		brupaulista@bol.com.br
Bruno Luis Filgueiras Rodrigues	Belém - PA	veteribruno@yahoo.com.br
Bruno Pena Carvalho	Volta Redonda - RJ	penarural@yahoo.com.br
Caciliana da Silva Recalde	Campo Grande - MS	caciliana@yahoo.com.br
Cacimar Teresinha de Castro Moraes	Curitiba - PR	velomoraes@uol.com.br
Caio Tinoco Vizioli	Umuarama - PR	caiotv@hotmail.com
Camila Bartz	Niterói - RJ	milabartz@gmail.com
Camila Costa Abreu	Lavras - MG	camilacabreu@gmail.com
Camila Cristine Marcon	Curitiba - PR	camilamarcon@hotmail.com
Camila Infantosi Vannucchi	São Paulo - SP	cacavann@usp.br
Camila Viana de Assis	Vespasiano -MG	camilaviana_assis@hotmail.com
Camilla Giese Carvalho		camilla_giese@hotmail.com
Campo Amor Vieira da Cunha Neto	Umuarama - PR	campoamor_vieira@hotmail.com
Carime Calzavara Flores	Belém - PA	calzavara@superig.com.br
Carinne Renata de Lima Araújo		araujokk@yahoo.com.br
Carlos Alberto Rodrigues	São Carlos - SP	carlos.samvet@terra.com.br
Carlos Antônio de Carvalho Fernandes	Alfenas - MG	cacf@biotran.com.br
Carlos Augusto Alanis Clemente	Belo Horizonte - MG	carlosrepro@yahoo.com.br
Carlos Dantas Libório	Salvador - BA	cdliborio@uol.com.br
Carlos E. Kantek		
Carlos Eduardo Ambrósio	São Paulo - SP	ceambrosio@usp.br
Carlos Eduardo Camargo	Curitiba - PR	kaducamargo_vet@hotmail.com
Carlos Eduardo Molli Pereira da Costa		dudumpe@hotmail.com
Carlos Eduardo Pedroso	Doradina - PR	eduardoprefeito@hotmail.com
Carlos Eurico Fernandes	Campo Grande - MS	cefernandes@nin.ufms.br
Carlos Francisco Bueno Júnior	Piraquara - PR	cfbuenojunior@uol.com.br
Carlos Henrique Cabral Viana	Amparo-SP	chcabral@nutricell.com.br
Carlos Henrique Laske	Curitiba - PR	
Carlos Mafra Pedroso Neto	Curitiba - PR	pedroso@pedroso.com.br
Carlos Scalon	Guarulhos - SP	
Carmo Emanuel Almeida Biscarde		ceabiscarde@yahoo.com.br
Carolina Castelo Branco Barros	Santa Isabel do Rio Preto - RJ	carolinacastello@uol.com.br
Carolina Malburg	Balneário Camboriú - SC	carolina_malburg@yahoo.com.br
Carolina Trentin		



Carolina Turra Agottani	Curitiba - PR	caroturra@hotmail.com
Caroline Antoniazzi Wolf		
Caroline Malhado Pires Barbosa	Salvador - BA	lokampb@hotmail.com
Caroline Salmon Frehse	Curitiba - PR	carolfrehse@hotmail.com
Cássia Panizzon Dal Curtivo	Cascavel - Pr	cassiacurtivo@yahoo.com.br
Catarina Paiva Gadelha		catarina_cpg@yahoo.com.br
Cátia Oliveira Guimarães	Goiânia - GO	catiaoqvvet@hotmail.com
Caubi Carvalho Silva	Juatuba - MG	
Celso Henrique Pupin Meurer	Loanda - PR	celso_loanda@hotmail.com
Charles André Souza Bispo	Viçosa - MG	charles_bispo@yahoo.com
Charles Eiji Rosso	Umuarama - PR	charles_rosso@hotmail.com
Christiana Fabricio de Noronha	Rio de Janeiro - RJ	clonebr@uol.com.br
Cinira Aparecida Prieto	Ariquemes - RO	ciniraprieto@hotmail.com
Cinzia Giacometti	Moreira Sales	cinzia_giacometti@hotmail.com
Ciro Meirelles	Curitiba - PR	ciromeirelles@bol.com.br
Clara Slade Oliveira	Jaboticabal - SP	claraslade@gmail.com
Clarissa Neuman Ramos César	Recife - PE	cla.neuman@gmail.com
Cláudia Barbosa Fernandes	Botucatu - SP	fernanda@fmvz.unesp.br
Cláudia da Cunha Barbosa	Fortaleza - CE	clauvet_cb@yahoo.com.br
Cláudia Haetinger	Pelotas, RS	cloue_haet@hotmail.com
Cláudia Marinovic de Oliveira	Araguaína - TO	clauamarinovic@yahoo.com.br
Cláudia Marques Roldão	Campo Grande - MS	claudiaroldao@hotmail.com
Cláudia Reany Borba	Umuarama - PR	mariaclaudiaborba@hotmail.com
Cláudio Coutinho Bartolomeu	Recife - PE	c.coutinho@uag.ufrpe.br
Clayson S. Cardoso		
Cleovani Rossi Javorski	Palotina - PR	cleorossi@ufpr.br
Clístenes Dolce Silva Marchetto	Cruzeiro do Oeste - PR	cdsm67@hotmail.com
Cristiane Caroline Abade	Umuarama - PR	cricabade@gmail.com
Cristiane de Carvalho Barbas		crisbarbas@hotmail.com
Cristiano Barros de Melo	Brasília - DF	cristus18@hotmail.com
Cristiano Tadeu	Campinas - SP	cristiano@nutricel.com.br
Cristina de Fátima Lúcio	São Paulo - SP	cristinalucio@usp.br
Cristina Odebrecht		
Daiana Mendes Meinen		
Daiane Donin Spessatto	Palotina - PR	daianedonin@yahoo.com.br
Daiane Lopes Camargo	Curitiba - PR	fran.butterfly@ig.com.br
Daiane Moreira Silva	Lavras - MG	daianemoreira@hotmail.com
Dalyana Mayer	Palmeira - PR	dalyana@ibest.com.br
Daniel Augusto Battisti	Pinhalzinho - SC	dani@pzo.com.br
Daniel Augusto Schuh Royer		droyer007@yahoo.com.br
Daniel Couto Uchôa	Fortaleza - CE	danielcouthochoa@terra.com.br
Daniel de Castro Burgos	Salvador - BA	
Daniel de Jesus Cardoso de Oliveira	Araçatuba	danieljco@ibest.com.br
Daniel Guzman	São Paulo - SP	
Daniel Preti		
Daniel Stangarlin de Camargo	Belém - PA	som.ma@superig.com.br
Daniele Bier	Curitiba - PR	
Daniele da Luz	Umuarama - PR	appledani@hotmail.com
Daniele Oga Futino	Brasília - DF	
Daniele Simões da Silva	Itaraé - SP	dani_simoess@hotmail.com
Danilo Gobbo Donoso	Curitiba - PR	danilo_coelho@hotmail.com
Danilo Viana Coelho		



Dayane Cristine da Silva Calixto	Belém - PA	dayane_calixto@hotmail.com
Déborah Pedrosa Galles	São Paulo - SP	deborahgalles@hotmail.com
Degiane Moreira Gomes	Belém - PA	degimorgomes@hotmail.com
Deiler Sampaio Costa	Campo Grande - MS	deiler@nin.ufms.br
Delamar Macêdo	Guarulhos - SP	
Demétrio Reva	Curitiba - PR	vendas@biogenesisbrasil.com.br
Dênia Borges Atílio	Murutinga do Sul - SP	denia.attilio@hotmail.com
Denilson Rogerio Seidel		
Dênis Carlos Vaccaro	Umuarama - PR	denisvcaaro@hotmail.com
Denis Christiano Dýck	Curitiba - PR	denis.dyck.dd@bayer.com.br
Denise Lopes Rodrigues		
Denner C. Malaquias		
Diego Barbizan	Umuarama - PR	barbizan3@hotmail.com
Diego Luiz de Moura Barbosa	Belém - PA	
Diego Lunelli	Curitiba - PR	dilunelli@hotmail.com
Diego Moreira da Silva	Umuarama - PR	diegovet09@hotmail.com
Diego Roscamp de Oliveira	Curitiba - PR	
Diego Vilela Alkmin	Seropédica - Rj	diego_vet@hotmail.com
Diogo Camilo de Campos Marta	Umuarama - PR	diogokampus@hotmail.com
Diogo Gonzales Denicolai	Umuarama - PR	diogogonzales@hotmail.com
Diogo Noriaki Sato		
Diônes Oliveira Santos	Sobral - CE	diones@cnp.embrapa.br
Djalma Cardoso Chueire	Palotina - PR	djalmachueire@hotmail.com
Domitila de Mello Moreira	Curitiba - PR	
Douglas Destefani		
Douglas Lopes Thomas		
Douglas Sasaki Celestino		douglas.celestino@hotmail.com
Edemilso		
Éder Alexandre Barizon Pieroli	Londrina - PR	eder.pieroli@tortuga.com.br
Éder Louza Mendonça	Umuarama - PR	brancotipoa@hotmail.com
Éder Riva	Umuarama - PR	ederriva@hotmail.com
Éderson Gomes Camargo	Curitiba - PR	
Edison Martins	Lages - SC	martinsev@matrix.com.br
Edivaldo Luiz Dutra Vargas Júnior	Umuarama - PR	vargas_junior@yahoo.com.br
Edomar Kiefer	Carambú - PR	pioneiros@uol.com.br
Edson Ramiro da Silva Junior	Uberaba - MG	edsonramiro@terra.com.br
Eduardo Almeida Miranda Faria	Bananal - SP	eduardo_almeidamedvet@yahoo.com.br
Eduardo Anziliero	Umuarama - PR	eduardo_bhc@hotmail.com
Eduardo Caldas Ferro	Umuarama - PR	dudatdb22@hotmail.com
Eduardo de Souza Ribeiro	Lages - SC	mezzalira@cav.udesc.br
Eduardo Hideo Moriya	Curitiba - PR	eduardoatletico@hotmail.com
Eduardo K. Pedroso	Jordanésia - Cajamar	eduardo.pedroso@independencia.com.br
Eduardo Lucacin	Mariluz - PR	elucacin@visaonet.com.br
Eduardo Malschitzky	Porto Alegre - RS	emalschitzky@ibest.com.br
Eduardo Meira Vieira	Umuarama - PR	edumeira@hotmail.com
Eduardo O. Melo	Brasília - DF	comelo@gmail.com
Eduardo Ramos de Oliveira	Alfenas - MG	eduardo@biotran.com.br
Eduardo Salgado	Campinas - SP	salgado@nutricell.com.br
Egon José Fuck	Maringá - PR	egonfuck@sosanimal.com.br
Elena do Nascimento Toazza	Curitiba - PR	
Élia Fernanda M. Campos	Passo Fundo - RS	matharary@hotmail.com
Eliane N. Lima de Andrade	Belém - PR	liamedvet@yahoo.com.br



Eliane Vianna da Costa e Silva	Campo Grande - MS	licsilva@nin.ufms.br
Elio Ravazi de Oliveira	São João do Oeste - SC	sravazi@yahoo.com.br
Elisângela Lago	Curitiba - PR	elisangelalago@yahoo.com.br
Elmo Gomes Diniz	Uberlândia-MG	egdiniz@umuarama.ufu.br
Elsbeth Cornelia Verburg	Curitiba - PR	
Elvis Klein Gunnewiek	Umuarama - PR	elviskg@hotmail.com
Emanuel da Silveira Faleiros		
Emilie Ferreira Laborde	Campo Grande - MS	agrodoisamigos@uol.com.br
Emílio José Reuther		
Enefer Rosana Oberst	Porto Alegre - RS	oberst@ufrgs.br
Enoch Brandão de Souza Meira Júnior	São Paulo - SP	ejmeira@hotmail.com
Érica Perez Marson	Jaraguá do Sul - SC	epmarson@gmail.com
Erick Hauszler	Curitiba - PR	erick@veterinaria.com.br
Érika Christina Santos Oliveira	Recife - PE	ecso21@uol.com.br
Erika Weber		
Eugênio Bailone	Uberlândia - MG	
Evelyn Von Rosen Stahlke	Curitiba - PR	
Everton Reis	São Paulo - SP	
Evoy Zaniboni Filho	Florianópolis - SC	zaniboni@cca.ufsc.br
Ewerton Renê de Oliveira Costa	Curitiba - PR	
Fabiana Cristina Varago	Belo Horizonte - MG	fafavarago@terra.com.br
Fabiana de Andrade Melo Sterza	Londrina - PR	fabiana.sterza@unopar.br
Fabiana Ferreira de Souza	Botucatu - SP	fertcani@fertcani.vet.br
Fabiana Nogueira de Loureiro	Belém - PA	fabylou@gmail.com
Fabiana Pessuto Zanoni	Londrina - PR	fabi_bariri@yahoo.com.br
Fabiana Ventura de Pina	Curitiba - PR	
Fabiano Buss Cruz		
Fabiano Carminatti Zago	Lages - SC	fabianozago@hotmail.com
Fabio de Moraes Francisco	São Paulo - SP	fabio@ivpr.com.br
Fábio Gasparetto	Guaratinguetá - SP	gasparettovet@yahoo.com.br
Fábio Henrique Martins	Curitiba - PR	
Fábio José Carvalho Faria		faria@fjcnin.ufms.br
Fabio Mendonça Carneiro	Rio de Janeiro - RJ	
Fábio Zen Salces	Lages - SC	fabiozs@hotmail.com
Fabrizio Henrique Godoi Jasinski	Curitiba - PR	suplamentos@hotmail.com
Felipe de Jesus Moraes Júnior	Teresina - PI	fmoraesjr@hotmail.com
Felipe Mainardi	Cuiabá - MT	felipemainardi@yahoo.com
Felipe Speranza Faifer	Londrina - PR	felipecfaifer@bol.com.br
Felipe Zandonadi Brandão	Niterói - RJ	fzbr@vm.uff.br
Fernanda Almeida Costa	Umuarama - PR	fcranch@brturbo.com.br
Fernanda Cavalheiro de Oliveira	Umuarama - PR	fer_vitirina@hotmail.com
Fernanda de Queirós Costa	Niterói - RJ	nandaqcvet@gmail.com
Fernanda Ferraz Chiquetti		
Fernanda Gomes Iwersen	Umuarama - PR	feriwersen@yahoo.com.br
Fernanda Maria Tostes	Juiz de Fora - MG	frmedvet@yahoo.com.br
Fernanda Tagawa Pelaez		
Fernando Andrade Souza	Belo Horizonte - MG	femedvet@yahoo.com.br
Fernando Dambrós Pereira	Londrina - PR	fernando_uel@hotmail.com
	Santa Terezinha de Itaipu - RJ	
Fernando de Freitas		viktor_2310@hotmail.com
Fernando Figueiredo Taveira	França - SP	fernandoft@hotmail.com
Fernando Figueirola	São Paulo - SP	fernandofigueirola@terra.com.br



Fernando Pansera Dalla Costa	Curitiba - PR	fernandodallacosta@yahoo.com.br
Fernando Rutz		
Fernando Silveira		
Fernando Vilela Vieira	Uberaba - MG	
Flávia Emilly Rodrigues da Silva	Palotina - PR	flaviaemilly@hotmail.com
Flávia Regina de Azevedo Martini	Curitiba - PR	flavinhamartini@yahoo.com.br
Flávio Capelossa	Santana de Parnaíba - SP	vendas.br@sarstedt.com
Flávio de Castro Guimarães Rios Ignácio	Londrina - PR	flavioignacio09@yahoo.com.br
Flávio Rodrigo Benassuly Maues Pereira	Belém - PA	flavio_maues@yahoo.com.br
Flávio Vieira Meirelles	Pirassununga - SP	meirellf@usp.br
Franciely Benthien da Costa	Curitiba - PR	fran.b.c@pop.com.br
Francine Paula Gemmi	Curitiba - PR	francinegemmi@hotmail.com
Francisco Marcelo Aragão		
Francisco Sandri		
Francymália Queiroz de Queiroga	Castanhal - PA	fqueiroga@hotmail.com
Gabriel Armond Crepaldi	Nova Andradina - MS	gabrielcrepaldi@gmail.com.br
Gabriel Daltoé de Almeida		gabrieldaltoa@hotmail.com
Gabriel Deutsch	Caesarea	gabe@mes-ltd.com
Gabriel Faller Almeida	Rio de Janeiro - RJ	gfallm@yahoo.com.br
Gabriela Bettega Moressi		
Gabriele de Macedo Pinto	Curitiba - PR	
Gentil Vanini de Moraes	Maringá - PR	gvmoraes@uem.br
George Seidel		
Geovani Pedro Guareschi	Sto. Antonio do Sudoeste - PR	gp.guareschi@bol.com.br
Geraldo Camilo Alberton		
Gerson Ney de Oliveira Vianna	Curitiba - PR	gerson.vianna@sulbbs.com.br
Geyza Oliveira de Negreiros	Teresina - PI	gysanegreiros@hotmail.com
Gian Carlo Seganfredo	Passo Fundo - RS	seganfredo_seganfredo@hotmail.com
Gicélia de Fátima Rodrigues de Miranda	Belém - PA	giceliamiranda@yahoo.com.br
Gilberto Henrique Simões	Palotina - PR	gilbertohs@gmail.com
Gilmara Junqueira Machado Pereira	Lavras - MG	gilmarajmp@yahoo.com.br
Gilson Brito de Andrade	Macarani - BA	gilsonvetmac@yahoo.com.br
Gilson Hélio Toniollo	Jaboticabal - SP	toniollo@fcav.unesp.br
Giovana do Nascimento	Cuiabá - MT	gi_nascimento@hotmail.com
Giovana Müller Nadal	Passo Fundo - RS	vetnadal@yahoo.com.br
Giovani Tolotti	Marmeiro - PR	giovanitl@hotmail.com
Giselia Cardoso de Alcântara	Ananindema - PA	gisavet@yahoo.com.br
Glauber Marquart Dorl	Curitiba - PR	glauenzi@yahoo.com.br
Grazielle de Lima Pereira		
Grazielle Velame Andrade	Salvador - BA	grazivelame@hotmail.com
Grazielle Carvalho da Silva	Umarama - PR	digrazianno@yahoo.com.br
Guadalupe Sampaio Ferreira	Belém - PA	guadasampaio@hotmail.com
Guilherme Gonçalves Costa		gauchoggc@yahoo.com.br
Guilherme Martins Custódio		guilherme-gmc@hotmail.com
Guilherme Meyer		
Guilherme Moleiro	Umarama - PR	guilhermemoleiro@hotmail.com
Guilherme Oberlender	Lavras - MG	guilherme_oberlender@yahoo.com.br
Guilherme Peuckert Silveira		
Guilherme Ribeiro Valle	Betim - MG	guilhermerv@pucminas.br
Gustavo Ferrer Carneiro	Jaboatão - PE	gustavo@caroata.com.br
Gustavo Gouveia Fonseca	Xambre - PR	gustavogf86@hotmail.com
Gustavo Miranda Zanotto	Curitiba - PR	



Gustavo Toro	Navasota - TX	
Gyselle Viana Aguiar	Fortaleza - CE	gyselleaguiar@yahoo.com.br
Halim Atique Netto	São José do Rio Pardo - SP	halimnetto@unirp.edu.br
Haroldo Francisco Lobato Ribeiro	Belém - PR	hribeiro@ufpa.br
Héber Luiz Melo Maréco	Belém - PA	hebinhomacapa@bol.com.br
Heide Withoef	Curitiba - PR	vet_wit@yahoo.com.br
Helcimar Barbosa Palhano	Niterói - RJ	helcimar.palhano@spcorp.com
Helder Luiz Pinheiro Fritiz	Umuarama - PR	helderlpf@hotmail.com
Heli Batista de Andrade	Paulínia - SP	
Hélio Blume	Brasília - DF	helio01682@upis.br
Helio Feracin Júnior	Cornélio Procopio	helioferacin@hotmail.com
Hellen Christina Guerreiro de Almeida	Belém - PA	hellalm@hotmail.com
Heloisa R. Marinho Gomes		heloisa276@hotmail.com
Henderson Ayres	São Paulo - SP	hayres65@yahoo.com.br
Henrique Kurtz Lof		
Henrique Larsen Brunow Ventura	Curitiba - PR	
Herbert Luersen de Faria	Campinas da Lagoa - PR	herbert_luersen@hotmail.com
Hernan Baldassarre		
Hugo Leonardo de Oliveira Rossato	Umuarama - PR	rhessoal@olivatti.com.br
Hugo P. Godinho	Belo Horizonte - MG	hgodinho@ufmg.br
Ícaro Waldamir Fiechter	Curitiba - PR	
Igor Frederico Canisso	Viçosa - MG	canissoif@yahoo.com.br
Inácio Afonso Kroetz	Curitiba - PR	
Iris Dalsenter	Curitiba - PR	
Irma Paes de Barros Carstens	Curitiba - PR	
Irton José Boni		
Isabel Corrêa dos Santos	São Paulo/SP	
Isabela Campos Lage	Resende - RJ	i_lage@uol.com.br
Isabella Lunardon	Campo Largo - PR	isabellalunardon@yahoo.com.br
Isadora Damasceno Branco	Curitiba - PR	
Ítalo Ruiz	Curitiba - PR	
Ivan Luiz Coelho Neto	Curitiba - PR	ivancoelho@bighost.com.br
Ivo Walter dos Santos	Palotina - PR	iwalterdossantos@yahoo.com.br
Ivonete do Rocio Alves Pereira	São José dos Pinhais - PR	ivonete.pereira@uol.com.br
Jaci de Almeida	Seropédica - RJ	jacialmeida01@yahoo.com.br
Jackson barga moresco		jacksonmoresco@hotmail.com
Jacy Evandro Ribeiro Neto	Umuarama - PR	cowboyrural@hotmail.com
Jairo Pereira Neves	Brasília - DF	jpneves@unb.br
	Vargem Grande Paulista - SP	jtprudencio@globo.com
Jana Maíra Ventura Prudencio		jananagao@hotmail.com
Janaína Ferreira Nagao	Londrina - PR	jahna@bol.com.br
Janaína Hammerschmidt	Pinhais - PR	janniduovet@yahoo.com.br
Jannifer Silva Caldas	Curitiba - PR	
Jaqueline M. V. Corrêa		
Jaroslav Harasymowycz	Ponta Porã/MS	lauco9@hotmail.com
Jeanne Broch Siqueira	Botucatu - SP	jbsiqueira_@hotmail.com
Jeferson Ferreira da Fonseca	Juiz de Fora - MG	jeferson@cnppl.embrapa.br
Jefferson Campos		
Jéssica Ignácio Pinto	Palotina - PR	je_aps@hotmail.com
Joana Cláudia Mezzalira	Lages - SC	a2am@cav.udesc.br
Joanna Maria Gonçalves de Souza		joannavet@superig.com.br
João Alberto Bellintani	Presidente Prudente - SP	



João Alberto Modesto Rodrigues	Ananindema - PA	felino22pa@hotmail.com
João André de Matos Oliveira	Londrina - PR	japirajuvet@hotmail.com
João Carlos Deschamps	Pelotas - RS	deschamp@ufpel.edu.br
João Cláudio Sassi Júnior	Umuarama - PR	juniorvet2@hotmail.com
João Flávio Panattoni Martins	São João da Boa Vista - SP	coordvet@unifeob.edu.br
João Ivo Perusso de Lima	Londrina - PR	jip_lima@hotmail.com
João Luiz Androukovitch	Curitiba - PR	joaomed.vet@uol.com.br
João Marcelo Novellino Pereira	Rio de Janeiro - RJ	jmnovellino@yahoo.com.br
João Odair Viel Júnior		joaodai@hotmail.com
João Paulo Arcelino do Rêgo	Sobral - CE	zootecnistajp@hotmail.com
João Ribas D'Avila		
João Roberto Becker		jrbvet@gmail.com
Jodascil Gonçalves Lopes	Campo Grande - MS	jodascil@hotmail.com
Joice Reolon	Umuarama - PR	joicereolon@yahoo.com.br
Jordana de Almeida Iglesias		
Jorge André Matias Martins	Belo Horizonte - MG	jammvet@gmail.com
Jorge Damian Diaz		
Jorge Luis Bolivar Monard	Belém - PA	chaco_nitro@hotmail.com
José Adalmir Torres de Souza	Teresina - PI	jadalmir@gmail.com
José Antonio Giachini	Curitiba - PR	
José Antônio Silva Ribas	Niterói - RJ	ribasjas@uol.com.br
José Augusto Carvalho	Ilhéus - Ba	jaugustus@uol.com.br
José Augusto Lucca Neto	Balneário Camboriú - SC	zuzehh@gmail.com
José Bento Sterman Ferraz		
José Buratini Jr.	Botucatu - SP	buratini@ibb.unesp.br
José Carlos Biaggi Dias	Londrina - PR	jc_biaggi@yahoo.com.br
José Carlos de Andrade Moura	Salvador - BA	jcamoura@ufba.br
José Carlos de Souza Júnior	São José de Ubá - RJ	jcjveterinaria@yahoo.com.br
José Carlos dos Santos Breda	Curitiba - PR	
José Carlos Ferrugem Moraes	Bagé - RS	ferrugem@cppsul.embrapa.br
José Eduardo Jardim Murta	Belo Horizonte - MG	jose.eduardo@unimontes.br
José Eugênio Três	Seropédica - RJ	eugeniotres@ufrjr.br
José Lázaro da Rocha	Ibiporã - PR	jlazaro@iapar.br
José Luiz Moraes Vasconcelos	Botucatu - SP	vasconcelos@fca.unesp.br
José Macedo	Santana de Parnaíba - SP	vendas.br@sarstedt.com
José Nélio de Sousa Sales	Lavras - MG	znlogan@yahoo.com.br
José Octavio Jacomini	Uberlândia-MG	jojacomini@ufu.br
José Ricardo Figueiredo	Fortaleza - CE	
José Ricardo Garla de Maio	Ribeirão Preto - SP	jose.maio@ourofino.com
Juan Fernando Moreno	Texas - USA	
Jucinéia Vilaça dos Santos de Oliveira	Belo Horizonte - MG	jucineiavsol@ig.com.br
Júlia Dall' Anese	Palotina - PR	judallanese@uol.com.br
Juliana de Barros Montel	Umuarama - PR	julianamontel@hotmail.com
Juliana Espírito Santo Becker	Curitiba - PR	
Juliana Giovelli Przychynski		
Juliana Neves da Silva Amarante	Umuarama - PR	ursavet@gmail.com
Juliana Rodrigues Mendes	Rio de Janeiro - RJ	julianamendes@estadao.com.br
Juliana Saadi Mendonça	Belém - PA	juzinha_saadi@yahoo.com.br
Juliana Vilela de Carvalho Garcia	Umuarama - PR	ju_ju_vilela@hotmail.com
Julianne Silva de Lima	Belém - PA	julianne@ufpa.br
Juliano César Dias	Belo Horizonte - MG	julianocdias@yahoo.com.br
Juliano Kummer	São Paulo - SP	juliano.kummer@intervet.com



Júlio César Ferraz Jacob	Nova Iguaçu - RJ	juliorep@ufrjr.br
Júlio Cesar Terra Jr.		
Júlio Rafael Bozano		
Kamila Capuano Rocha		kamilarochac@hotmail.com
Kamila Maciel Dias	Lages - SC	kamila.dias@gmail.com
Karen Mascaro Gonçalves da Silva		karenmascaro1@gmail.com
Karine Lodi	Curitiba - PR	
Karine Reiter	Umuarama - PR	crikas.re@hotmail.com
Karolina Knapik	Curitiba - PR	
Karoline Memlak		kaka_km@hotmail.com
Kátia Luiza Hermann	Itajaí - SC	kahluiza@hotmail.com
Kellice Feitosa de Araújo	Belém - PA	kellicearaujo19@hotmail.com
Kelly Ribeiro	Curitiba - PR	kelly_ribeiro@bol.com.br
Kenneth W. Forsythe Jr.		
Kenni Miessa Figueiredo Stofela	Curitiba - PR	keke_stofela@hotmail.com
Kim de Borborema Nunes	Belém - PA	kim_borborema@yahoo.com.br
Kolowyskys Silva de Almeida Dantas	Baturité - CE	Kolowyskys@bol.com.br
Laisa Guimarães Vicenzi		laisa_vicenzi@yahoo.com.br
Larissa dos Santos Seixas	Belém - PA	la_nutvet@yahoo.com.br
Larissa Ellen Carraro	Curitiba - PR	
Larissa Pires Barbosa	Salvador - BA	lpires73@yahoo.com.br
Larissa Rodrigues Galera	Curitiba - PR	
Laryssa Junqueira Franco Campos	Campo Grande - MS	debora.nas@gmail.com
Lawrence Charles Smith		
Leandro Francisco Basile	Toledo-PR	leandrobasile@yahoo.com.br
Leandro Gabriel		
Leandro Gofert	São Paulo - SP	
Leandro Mendes Mascarenhas	Bom Jesus do Itabapoana - RJ	leandrogarou@gmail.com
Leandro Nassar Coutinho	Belém - PA	lnassar@hotmail.com
Leizinara Gonçalves Lopes	Campo Grande - MS	leizinara2@hotmail.com
Lenoir Maria Júnior	Umuarama - PR	febem_vet@hotmail.com
Leonardo Barreto Freire	Paulínia - SP	
Leonardo Barros Corso	Niterói - RJ	leonardocorso@ufrjr.br
Leonardo Bozzi Miglino	Curitiba - PR	miglino@hotmail.com
Leonardo Brandão Matos	Belém - PA	lbmatos@gmail.com
Leonardo Lara e Lanna	Belo Horizonte - MG	leonardollanna@gmail.com
Leonardo Navarro Garbin	Umuarama - PR	leo_veterinaria@hotmail.com
Leonardo Tangleica	Curitiba - PR	
Leticia Misságia Motta	Vitória - ES	lelemissagia@bol.com
Lev Rabinovich	Caesarea	levr@mes-ltd.com
Levy Xavier	Paris - França	xlevy@vet-alfort.fr
Lídia Andreu Guillo	Goiânia - GO	lidiaag@click21.com.br
Lídia dos Santos Pereira	Nova-Iguaçu - RJ	lidiaufrjr@hotmail.com
Liege Cristina Garcia Silva	São Paulo - SP	liegegarcia@usp.br
Ligia Freitas de Lima	Brasília - DF	ligialima@unb.br
Lígia Freitas de Lima		
Lígia Mara da Cruz	Curitiba - PR	
Lígia Vieira Lage dos Santos	Itabuna - BA	lvlsantos@yahoo.com.br
Lilian Gregory	São Paulo - SP	lgregory@usp.br
Lilian Rigatto Martins	Botucatu - SP	lirigatto@yahoo.com.br
Lincoln José Henriques Matozinhos	Castelo - ES	



Lindsay Unno Gimenes	São Paulo - SP	lindsay_unno@yahoo.com
Lívia Aires Lisboa	Londrina - PR	lisboavet@gmail.com
Lívia dos Santos Russi	Campo Grande - MS	russi@nin.ufms.br
Lorena Moreira De Carli	Curitiba - PR	loredacarli@gmail.com
Lorena Cardoso Rezende	Jataí - Goiás	lorisvete@yahoo.com.br
Lourival de Souza e Silva Júnior	Cuiabá - MT	jrmedvet@bol.com.br
Luana Dória Gonçalves de Sousa	Ponta Grossa -PR	ludoria@pop.com.br
Luana Geraldo Meira	Londrina - PR	luana_meira@hotmail.com
Luana Macario da Silva de Lima	Rio de Janeiro - RJ	lumacario@uol.com.br
Lucas Jacomini Abud	Goiânia - GO	lucasabud69@hotmail.com
Lucas Luz Emerick	Belo Horizonte - MG	lucas-emerick@bol.com.br
Lucas Marlon Freiria	Palotina - PR	freiria_lucasm_mv@hotmail.com
Lucas Moreno Di Dio	Dourados - MS	lucasmorenodidio@yahoo.com.br
Lucas Sebben Gaebler	Curitiba - PR	lucasgaelber@hotmail.com
Lucélia Coimbra da Silva	Contagem - MG	luceliacoimbra@yahoo.com.br
Lúcia Daniel Machado da Silva	Fortaleza - CE	lucia.daniel.machado@hotmail.com
Lúcia Helena Rodriguez	Sertãozinho - SP	
Luciana Ângelo de Lima	Campinas - SP	lucianaal@sespo.com.br
Luciana Conceição Maia Amaral	Belém - PA	luci9n9@hotmail.com
Luciana Cristina Padilha	Campinas - SP	padilhalc@yahoo.com.br
Luciana Helena Kowalski	Palotina - PR	manda_inlove@hotmail.com
Luciana Keiko Hatamoto Zervoudakis	Cuiabá - MT	lukeiko@yahoo.com.br
Luciana Sartori	Iretama - PR	lu.sartori@ig.com.br
Luciano S. Lobo	Paraná	
Luciele de Oliveira Ferreira	Barra do Piraí -RJ	lucielefer@yahoo.com.br
Luciene Lomas Santiago	São Paulo - SP	s21luciene@hotmail.com
Lucilene Maldaner Schiefelbein		
Luís Armando Rego Alvarenga	Belém - PA	alvarengaluis@terra.com.br
Luis Carlos Granemann	Curitiba - PR	lcgranemann@sulbbs.com
Luis David Solis Murgas	Lavras - MG	lsmurgas@hotmail.com
Luis Eduardo Bardi Pedro	Guarapuava - PR	luisduardopedro1@hotmail.com
Luis Fabiano Santos da Costa	Xanxerê - SC	
Luis Gustavo Rêis Bertonsello	Cascavel - Pr	
Luiz Arthur Fernandes Tramuja	Curitiba - PR	
Luiz Carlos Binsfeld	Pelotina - PR	
Luiz Ernandes Kozicki	Curitiba - PR	kozicki@ufpr.br
Luiz Felipe Ramos Carvalho	Belo Horizonte - MG	
Luiz Fernando de Souza Rodrigues	Belém - PA	luiz.rodrigues@ufra.edu.br
Luiz Gustavo Ribeiro Rica		
Luiz Micheluci		
Luiz Paulo Hoppe	Porto Alegre - RS	
Luiz Sapede	Guarulhos - SP	
Luiza Fernandes Mendonça	Belo Horizonte - MG	ulizaufmg@yahoo.com.br
Luíza Loureiro de Araújo	Belém - PA	lla_magoo@hotmail.com
Lupércio Antônio Jr.	Guarulhos - SP	
Maira Soares Ferraz	Teresina - PI	mairasferraz@yahoo.com.br
Manoel Adrião	Recife - PE	madriao@dmfa.ufrpe.br
Manuela Madaloni	Curitiba - PR	manumadolini@yahoo.com.br
Mara Iolanda Batistela Rubin	Santa Maria - RS	
Mara Vicelle Ruviaro Christ	Curitiba - PR	
Marc Henry	Belo Horizonte - MG	henrym@ufmg.br
Marcel Barbosa Falleiros	Curitiba - PR	



Marcela Gonçalves Cangussu	Belo Horizonte - MG	mgcangussu@hotmail.com
Marcela Manicardi Possenti	Umuarama - PR	natalie_merlini@hotmail.com
Marcelle Gonçalves de Castro	Rio das Ostras - RJ	celle_medvet@hotmail.com
Marcelly Carolina Herz Grycajuk	Curitiba - PR	celly_grycajuk@yahoo.com.br
Marcelo Agustini	Curitiba - PR	agustini@libero.it
Marcelo Alcindo de Barros Vaz Guimarães	São Paulo - SP	mabvg@usp.br
Marcelo Almeida Bravo	Quito - Equador	drmalmeida@yahoo.com
Marcelo Batista Carneiro	Laranjal - PR	fazendamorroalto1@ibest.com.br
Marcelo Bertolini	Lages - SC	mbertolini@cav.udesc.br
Marcelo Carnelli Frade	Araçatuba	cabomfim@fmva.unesp.br
Marcelo George Mungai Chacur	Pres. Prudente - SP	chacur@unoeste.br
Marcelo Guimarães Fuentes	Umuarama - PR	marcelo_gf12@hotmail.com
Marcelo H. G. Nunes	Curitiba - PR	marcelo.giordano@hotmail.com
Marcelo José da Ascensão Feitosa Vieira	Fortaleza - CE	ascensaof@bol.com.br
Marcelo Luiz Della Giustina		
Marcelo Marangoni	Moreira Sales	marcelonots@hotmail.com
Marcelo Marcos Montagner	Dois Vizinhos - PR	
Marcelo Mocelin	Umuarama - PR	marcelo_banana@hotmail.com
Marcelo Piagentini	Avaré - SP	marceloveti@terra.com.br
Marcelo Zandonadi	Juruena - Mt	tudovet@hotmail.com
Marcia Silveira N. Machado	Xanxerê - SC	marciasm@biorep.ufms.br
Marciane da Silva Maia	Natal - RN	marcianemaia@yahoo.com.br
Marcio de Souza		
Márcio Gianordoli Teixeira Gomes	Belo Horizonte - MG	mgianordoli@gmail.com
Márcio Gilberto Zangeronimo	Lavras - MG	marciozan78@yahoo.com.br
Márcio Luiz Denck Tramontin	Missal - PR	marciotramontin@uol.com.br
Márcio Saporski Segui	Curitiba - PR	msegui@uol.com.br
Marco Antônio Alvarenga	Botucatu - SP	malvarenga@fmvz.unesp.br
Marco Antônio Machado	Londrina - PR	mmachado@uel.br
Marco Roberto Bourg de Mello	Seropédica - RJ	mmello@ufrj.br
Marcos Brandão Dias Ferreira	Uberaba - MG	brandao@epamiguberaba.com.br
Marcos Chalhoub	Salvador - BA	chalhoub@ufba.br
Marcos Vinicius de Oliveira Santos	Umuarama - PR	marcos_brahma@hotmail.com
Maria A.D.Telles Souza		
María Alejandra Stornelli	La Plata - AR	astornel@fcv.unlp.edu.ar
Maria Carolina Guido	São Paulo - SP	mcguido@mcguido.vet.br
Maria Carolina Horn Berta Canibal	Porto Alegre - RS	mcanibal@pop.com.br
Maria Carolina Villani Miguel	São Paulo - SP	mcmiguel@hotmail.com
Maria Coeli Gomes Reis Lage	Belo Horizonte - MG	coeli@pucminas.br
Maria Creuza Nunes Carvalho	Belém - PA	maryvetcarvalho@yahoo.com.br
María Cristina Oddone Franco	Rio Claro - SP	cristina_oddone@yahoo.com
Maria Denise Lopes	Botucatu - SP	
Maria Elisa Alfânio	Campo Largo - PR	mzizam@hotmail.com
Maria Emília Franco Oliveira	Jaboticabal - SP	m_emiliafraoli@yahoo.com.br
Maria Gorete Flores Salles	Fortaleza - CE	mgsalles@yahoo.com.br
Maria Inês Mascarenhas Jobim	Porto Alegre - RS	rcmattos@ufrgs.br
Maria Isabel M.Martins	Londrina - PR	imartins@uel.br
Maria Isabel Vaz de Melo	Belo Horizonte - MG	bel.melo@terra.com.br
Maria Juliana Dias Teixeira	Recife - PE	
Maria Lúcia Gambarini Meirinhos	Goiânia - GO	mlgambarini@hotmail.com
Maria Madalena Pessoa Guerra	Recife - PE	mpguerra@dmv.ufrpe.br
Maria Raquel Pereira Moura	Belo Horizonte - MG	



Mariana Arguello Vanni	Campo Grande - MS	ma_vanni@hotmail.com
Mariana de Paula Rodrigues	São Paulo - SP	maripr@click21.com.br
Mariana Machado Neves	Belo Horizonte - MG	Mmachadoneves@yahoo.com.br
Mariana Martins Drumond	Lavras - MG	mariana@linuxreference.com.br
Mariana Matera Veras	São Paulo - SP	verasine@usp.br
Mariana Nogueira	Curitiba - PR	mary_jipa@hotmail.com
Mariana Rossoni Cemenci	Palotina - PR	mana_rossoni@hotmail.com
Mariane Angélica Pomerening Finger	Colômbio/PR	mari_finger@hotmail.com
Mariane Ceschin Ernandes	São Paulo - SP	mariane_vet@globo.com
Mariane de Almeida	Presdidente Prudente - SP	
Mariângela Allgayer	Canoas - RS	
Marianna Bacellar Teodoro da Silva	Curitiba - PR	maribtsilva@hotmail.com
Maricy Apparicio Ferreira	Jaboticabal - SP	maricyap@fcav.unesp.br
Mariléia S. Benvenuto	Presidente Prudente - SP	
Marilú Martins Gioso		mmgioso@yahoo.com.br
Marina B. Pães de Barros	São Paulo/SP	
Marina Menoncin Weschenfelder	Erechim - RS	mah.weschenfelder@hotmail.com
Marina Parissi Accioly	Fortaleza - CE	marinaparissi@bol.com.br
Mário Cella Neto	Curitiba - PR	mariocellaneto@hotmail.com
Mário Henrique Gomes da Cruz	Umuarama - PR	mariogomes_vet@hotmail.com
Marlon Hugo Blecha de Marcos	Iretama - PR	pila_vet@hotmail.com
Mateus Giroto		
Mateus José R. Paranhos da Costa		mateusjtvvet@yahoo.com.br
Mateus José Tavares Oliveria		
Maurício Barbosa Salviano	Teresina - PI	mbsalviano@hotmail.com
Mauricio Landaeta Lozano	Venezuela	mauriciolandaeta@hotmail.com
Mayara Leal Lima		mayaraleallima@hotmail.com.br
Maycon Richartz	Bandeirantes - PR	mayconrichartz@hotmail.com
Mayla Gonçalves Tavares	Curitiba - PR	
Mayra Elena Ortiz Assumpção	São Paulo - SP	meoaa@usp.br
Maytê Koch Balarini	Viçosa - MG	maytebio@yahoo.com.br
Michel Cardoso Macedo	Lages - SC	xumigacm@hotmail.com
Michel Yoshio A. Miyasaki	Belém - PA	michelmiyasaki@yahoo.com.br
Michele Luise Piementel Lenzi	Curitiba - PR	milenzi@gmail.com
Michele Salmon Frehse	Curitiba - PR	mi_uel2003@yahoo.com.br
Michelly Fernandes de Macedo	Jaboticabal - SP	michellymedvet@hotmail.com
Michely Túlio	Curitiba - PR	michely@vetnil.com.br
Miguel Jose dos Santos Junior	Curitiba - PR	migueljir@brturbo.com.br
Milena Alves Maia	Taubaté - SP	milenamedvet@gmail.com
Milton Martins da Penha Filho	Belém - PA	miltonsmpf@hotmail.com
Miriane Adib Suplicy	Curitiba - PR	
Moacir Carretta Júnior	Viçosa - MG	momocjr@yahoo.com.br
Moisés Calvo	Botucatu - SP	moisescalvo@hotmail.com
Mônica Correia do Amaral		clinica@progenie.vet.br
Mônica Filomena Assis de Souza	Campo Grande - MS	monicavet2003@yahoo.com.br
Mônica Giotto	Curitiba - PR	vendas@biogenesisbrasil.com.br
Mônica Yurie Machado Shiroma	Campo Grande - MS	monicashiroma@yahoo.com.br
Monique Maytê Malho Gomdes	Campo Grande - MS	monique_mayte@hotmail.com
Naiana Mello de Mello		
Naiara Zoccal Saraiva	Jaboticabal - SP	naiaravet@hotmail.com
Naira Sidarta Tomé da Silva	Belém - PA	nairasidarta@hotmail.com
Natacha Deschermayer Beller	Curitiba - PR	



Natali Satiko Nogami	Belém - PA	natali.nogami@bol.com.br
Natalia Schimidt Arruda		matischmidt@terra.com.br
Nathália Curty de Andrade	Campos dos Goytacazes - RJ	ncurtydeandrade@yahoo.com.br
Nathália de Souza Ferreira	Belo Horizonte - MG	nathalia_sf@hotmail.com
Nathália Soares de Salles	Rio de Janeiro - RJ	lianadadora@hotmail.com
Nayara Hoogevonink	Curitiba - PR	nayarahk@hotmail.com
Nei Moreira	Palotina - PR	neimoreira@ufpr.br
Nélcio Antônio Tonizza de Carvalho	Registro - SP	nelcio@aptaregional.sp.gov.br
Nelson Parizotto Júnior	Londrina - PR	nelsonjunior@yahoo.com.br
Nilson de Jesus Baptista Ribas Neto	Curitiba - PR	nilsonribas@hotmail.com
Noellene Leitzke	Curitiba - PR	larson.pdt@bol.com.br
Oiti José de Paula	Belo Horizonte - MG	oiti@gmail.com
Onel Solano Garcia	São Luís - MA	onelsolano@yahoo.com.br
Oswaldo de Almeida Resende	Seropédica - RJ	oaresende@uol.com.br
Oswaldo André Taborda Portella	Curitiba - PR	portella@ufpr.br
Otávio Bernardes	São Paulo - SP	otavio@ingai.com.br
Otávio Lago Costa Pinto	Umuarama - PR	lulago123@terra.com.br
Otávio Mitio Ohashi	Belém - PR	ohashi@ufpa.br
Pablo Paiva	Guarulhos - SP	
Paola da Silva Nascimento		
Paola Lucas da Silva	Curitiba - PR	paola_poly@bol.com.br
Paola Pereira das Neves Snoeck	Ilhéus - Ba	paolasnoeck@uesc.br
Patrícia Barbosa Salla Cardoso	Guarulhos - SP	pbsalla@hotmail.com
Patrícia de Queiroz Ribeiro	Rio de Janeiro - RJ	patyveterinaria@yahoo.com.br
Patricia Nunes Cosentino	Cuiabá - MT	pncosentino@yahoo.com.br
Patrícia P. Silva	Curitiba - PR	
Patricia Reginato Facciotti	São Paulo - SP	paty.facciotti@ig.com.br
Patricia Warzensaky	Curitiba - PR	wpatyw@yahoo.com.br
Patrizia da Silva Barroso	Umuarama - PR	patriziavet@hotmail.com
Paula Andressa Pennacchi Savi	Londrina - PR	p_andressa@hotmail.com
Paula Cristina Matos Uchôa	Curitiba - PR	pcmuchoa@pop.com.br
Paula Fortes Marcomini	Umuarama - PR	paulamarcomini@yahoo.com.br
Paula Graciela Blanco	La Plata - AR	cgobello@netverk.com.ar
Paula Madaloni	Curitiba - PR	
Paula Rosa Carrijo	Campo Grande - MS	paulacarrijo@hotmail.com
Paula Silva de Toledo	Curitiba - PR	
Paulo César Falanghe Carneiro		
Paulo Costa Ferraz	Itapetinga - Bahia	pcferraz2@hotmail.com
Paulo Eduardo Machado Gonçalves	Belo Horizonte - MG	paulo@bhsol.com.br
Paulo Fernando Andrade	Juatuba - MG	
Paulo Ricardo de Camargo	Umuarama - PR	pique_camargo@hotmail.com
Paulo Roberto Rojas Scaldelai	Campo Grande - MS	pauloscaldelai@gmail.com
Paulo Roberto Souza da Silveira		
Paulo Rogério Suman	Avaré - SP	prsumanvet@hotmail.com
Pedro André de Sene Biernaski	Curitiba - PR	
Pedro Cupolillo de Faria	Niterói - RJ	escociabdg@ig.com.br
Pedro Henrique dos Santos Vieira	Londrina - PR	pedrohsvieira@yahoo.com.br
Pedro Henrique Sartori		
Pedro Leopoldo Jerônimo Monteiro Júnior	Recife - PE	pedromonteirojr@hotmail.com
Pedro Paulo Delgado Chamma	Curitiba - PR	pedro_chamma@hotmail.com
Pedro Paulo Maia Teixeira		prescap@bol.com.br
Perci Janzen	São Paulo - SP	



Perla Dagher Cassoli Fleury	São José do Rio Pardo - SP	perlafleury@hotmail.com
Pietro Sampaio Baruselli	São Paulo - SP	barusell@usp.br
Poliane Soutier Duarte	Cruzeiro do Oeste - PR	spolid@hotmail.com
Polianna Hammerschmidt	Palotina - PR	pohammer@gmail.com
Priscila Carvalho de Oliveira	São João da Boa Vista - SP	dirhovet@unifeob.edu.br
Priscila Rampazzo Roessle	São Paulo - SP	pri_rampazzo@yahoo.com.br
Priscilla Ricabone Muradás	Curitiba - PR	muradaspritty@hotmail.com
Quelma Barbosa Maia	Belém - PA	curiosayh@yahoo.com.br
Rafael Alonso Salvador	Itapema - SC	alonso.salvador@gmail.com
Rafael Barbosa Spinato	Erechim - RS	rafaelspinato@yahoo.com.br
Rafael Boeze	Curitiba PR	
Rafael Costa Tavares	Palotina - PR	rafa_ct@hotmail.com
Rafael Gandra Cordeiro	Ubá - MG	rafaelgandra@bol.com.br
Rafael Gazi Barros	Umuarama - PR	anitxacarol@gmail.com
Rafael Herrera Alvarez	Nova Odessa - SP	herrera_iz@yahoo.com.br
Rafael Obrzut		
Rafael Pereira do Prado	Rio de Janeiro - RJ	rafael_medvet@yahoo.com.br
Rafael Silva Gomes	Belo Horizonte - MG	rafaelgomesvet@yahoo.com.br
Rafaela Leite da Silva	Cuiabá - MT	
Rafaela Zanchet da Silva	Umuarama - PR	rafaelazanchet@uol.com.br
Rafaella Cristina Reginatto	Curitiba - PR	rafareginatto@hotmail.com
Raimundo Nonato Braga Lobo	Sobral - CE	lobo@cnpq.embrapa.br
Raphael Faria Rodrigues Deveza	Rio de Janeiro - RJ	phdeveza@gmail.com
Raquel Rodrigues Maia	Rio de Janeiro - RJ	raquel.rodrigues2007@gmail.com
Rebeca Cordeiro Justino	Londrina - PR	rebecacordeiro@gmail.com
Rebeca Marques Mascarenhas	Viçosa - Minas Gerais	rebeca_vet01@yahoo.com.br
Regiane Moreira Gomes	Belém - PA	
Renan de Camargo Ferraz Fuirini	Itapira - São Paulo	renanfuirini@hotmail.com
Renan de Oliveira Carvalho Vilela	Umuarama - PR	renan_vilela86@hotmail.com
Renan de Oliveira Fernandes	São José do Rio Preto - SP	renanveterinario@hotmail.com
Renan Romero da Costa Rank	Umuarama - PR	pinduca_vet@hotmail.com
Renata Benedita Mattos Ricca	Curitiba - PR	alinefujita@hotmail.com
Renata Benício Neves Fuverki	Curitiba - PR	refuverki@inbox.com
Renata Carolina Fernandes Santos	Curitiba - PR	renatafsantos@gmail.com
Renata Cristina Do Rocio Vidal	Curitiba - PR	luluzinha104@hotmail.com
Renata Di Lena Paiva	Curitiba - PR	repaiva@sulbbs.com.br
Renata Kelly Gonzaga Bastos	Belém - PA	renatakgb@hotmail.com
Renata Novak Bentes	Curitiba - PR	
Renato Barros Rambo		rambovet@yahoo.com.br
Renato Benvenuto	Presidente Prudente - SP	
Renato Pereira da Costa Gerger	São Paulo - SP	renatogerger@yahoo.com.br
Renato Valentim	São Paulo/SP	
Renato Wihby Giroto	SC	regiroto@hotmail.com
Reuel Luis Gonçalves	Curitiba - PR	vendas@biogenesisbrasil.com.br
Ricardo Andreazza Cavalcante	Curitiba - PR	ricardo.andreazza@gmail.com
Ricardo de Macêdo Chaves	Recife - PE	ricardochaves@cca.uema.br
Ricardo Macedo Gregory	Viamão - RS	ricardo.gregory@ufrgs.br
Ricardo Rodrigues Pagnoncelli	Lages - SC	ricardopagnoncelli@hotmail.com
Richard Verburg	Londrina - PR	richard_vet@yahoo.com.br
Rick Lenz	Texas - USA	
Rita de Cássia Gomes Pereira		rittacgp@ig.com.br
Rita de Cássia Soares Cardoso	Botucatu - SP	ritacardoso@ufpi.br



Rita Maria Ladeira Pires	Nova Odessa - SP	pires@iz.sp.gov.br
Rita Maria Nogueira Meinert	Curitiba - PR	ritamm@hotmail.com
Robert H. Douglas	Rio de Janeiro - RJ	bet@betlabs.com.br
Roberta Coelho Barranco	Curitiba - PR	roberta.barranco@yahoo.com.br
Roberta de Azevedo Cardoso da Silva	Rio de Janeiro - RJ	robertadeazevedo@yahoo.com.br
Roberta Garbelini Gomes	Londrina - PR	robs_vet@hotmail.com
Roberta Machado Ferreira	Jaboticabal - SP	robertinhavet@yahoo.com.br
Roberta Maria	Palotina - PR	beta.maria@gmail.com
Roberta Wagner	Curitiba - PR	
Roberto Carvalho		
Roberto João Bronner Junior	Curitiba - PR	brunner80@hotmail.com
Roberto Malfato Colognese	Umuarama - PR	roberto_colognese@hotmail.com
Roberto Sartori Filho	Brasília - DF	sartori@cenargen.embrapa.br
Roberto Sbrano Coelho		crivhj@uol.com.br
Robson Carlos Antunes	Uberlândia-MG	robson@famev.ufu.br
Rodrigo Albuquerque Bertoni	Campo Grande - MS	ripa_ms@hotmail.com
Rodrigo César Manrique Corrêa	Curitiba - PR	
Rodrigo Costa Mattos	Porto Alegre - RS	rodrigo.mattos@pq.cnpq.br
Rodrigo de Almeida Costa		
Rodrigo de Oliveira Uvo	Vila Velha - ES	rodolfo_87@hotmail.com
Rodrigo Lechugo Valarelli	São Paulo - SP	rodrigo.valarelli@pfizer.com
Rodrigo Matheus da Silva	Umuarama - PR	rodrigomatheus27@hotmail.com
Rodrigo Nunes de Oliveira	São Paulo - SP	fernandofiguerola@terra.com.br
Rodrigo Quirino Nogueira Péchy	Birigui - SP	rodrigopechy@hotmail.com
Rodrigo Ribeiro Rêgo	Brasília - DF	lucia26@terra.com.br
Rogério Carvalho de Abreu Lima	Ponta Grossa -PR	rc.abreulima@uol.com.br
Romildo Romualdo Weiss	Curitiba - PR	rrweiss@bol.com.br
Rômulo Cerqueira Leite	Belo Horizonte - MG	cbr@cbra.org.br
Rômulo José Vieira	Teresina - PI	rvieira@ufpi.br
Rômulo Menna Barreto Valença	Marechal Deodoro - AL	rmbvalenca@ig.com.br
Ronaldo Balan	Umuarama - PR	ronaldo.balan@hotmail.com
Ronaldo Luiz Ereno	Ribeirão do Sul - SP	erenoronaldo@ig.com.br
Ronilda Gomes Bonawitz	Castro - PR	rbonawitz@br10.com.br
Rose Eli Grassi Rici	São Paulo - SP	roseeli@usp.br
Rosselle Dall' Stella	Pinhais - PR	zoorosselle@yahoo.com.br
Rubens C. P. da Silva	Cornélio Procopio	rubinho@geraembryo.com.br
Rubens Paes de Arruda	Pirassununga - SP	arrudarp@usp.br
Rubens Sterental Goldberg	Rio de Janeiro - RJ	rubensgold@uol.com.br
Rute Maria de Paula Oliveira	Lima Duarte	rute_mpo@hotmail.com
SaintClaire Canedo	Curitiba - PR	vendas@biogenesisbrasil.com.br
Samanta Yumi S. Wachholz	Primavera do Leste - MT	
Sâmia Rubielle Silva de Castro	Belém - PA	samiarubielle@hotmail.com
Samir Saldanha Nicolau	São Paulo - SP	samir.nicolau@gmail.com
Samuel Figueirêdo de Souza	Jaboticabal - SP	samuel_vet@hotmail.com
Samuel Figueirêdo de Souza		
Sanderley Santos		
Sandra Mara da E. Fiala	Pelotas, RS	sandrafiala@yahoo.com.br
Sarah Barboza Martins	Umuarama - PR	sa_bm@hotmail.com
Sebastião Faria Jr.		
Sebastião Tavares Rolim Filho	Belém - PA	sebastiaorolim@yahoo.com.br
Sérgio Félix		
Sérgio Luiz Benvenuto	Presidente Prudente - SP	



Sérgio Mangano de Almeida Santos	Londrina - PR	sergio.uel@bol.com.br
Sérgio Tacano		
Sérgio Tosi Cardim	Umuarama - PR	stcardim@hotmail.com
Severino Henrique de Lima	João Pessoa - PB	
Silvana Heinrich	São Paulo/SP	
Silvia Leuch		
Sílvia Luísa de Rivera	Almirante Tamandaré - PR	silmile@hotmail.com
Simone Milano Naime	Curitiba - PR	simonenaima@pop.com.br
Simone Schuartz		si_schu@hotmail.com
Slow Batista Barbosa	Belém - PA	slowbatista@bol.com.br
Solange de Jesus		
Solano Lucas Andrade Basso	Campo Largo - PR	solanobasso@gmail.com
Sony Dimas Bicudo	Botucatu - SP	sony@fmvz.unesp.br
Suzana Moreira Marques	Paranavaí - PR	franciscojmarques@yahoo.com.br
Sylvia M. L. Gamarra	Curitiba - PR	sylviamlg@hotmail.com
Tácia Gomes Bergstein	Curitiba - PR	
Taiza Jucela Schiavini	Passo Fundo - RS	taiza_veterinaria@hotmail.com
Tamarini Rodrigues Arlas	Porto Alegre - RS	arlas@gsurf.com.br
Tanja Melanie Groh	Sete Lagoas - MG	tgroh1@excite.com
Tarcízio Antônio Rêgo de Paula	Viçosa - MG	tarcizio@ufv.br
Tassiana Ferreira de Mello	Campo Grande - MS	jammello@terra.com.br
Tathiana Ferguson Motheo	Jaboticabal - SP	ihtat@yahoo.com.br
Tathiane Magalhães Chaves Ferreira	Rio de Janeiro - RJ	tathyrural@ig.com.br
Tatiana Celano Tarantini	Seropédica - RJ	tatinha_vet@yahoo.com.br
Tatiana Josefa Schneider	Curitiba - PR	
Tatiane Almeida Drummond Tetzner	Jaboticabal - SP	tatiane_tetzner@yahoo.com.br
Terezinha Herrmann		
Thainá Gonçalves de Andrade	Belém - PA	thaina_andrade_@hotmail.com
Thaís Ângela Turra	Curitiba - PR	thaturra@hotmail.com
Thais Schwarz Gaggini	Lavras - MG	thaischwarz@hotmail.com
Thaisa Francielle Souza Domingos	Campos dos Goytacazes - RJ	thaisadomingos@yahoo.com.br
Théo Borges Rodrigues		
Thiago Melo	Gama - DF	
Thiago Sebber Romanelli	Londrina - PR	thiago_roma@hotmail.com
Tiago Aparecido Stragliotto	Umuarama - PR	cademinha@hotmail.com
Tiago Carmagnani Prada	São Paulo - SP	tiagocarman@hotmail.com
Tiago Machado dos Santos		
Tiago Marques Mantovani		tmmantovani@hotmail.com
Tiago Ongarato Pontes	Curitiba - PR	tiagoahamam@yahoo.com.br
Tiago Paiva Moraes	Luziânia - GO	tiagopmoraes@ig.com.br
Tiago Sedenho	Ivaiporã - Paraná	sedenhovet@bol.com.br
Tiago Vaz Carcereri		tiagovaz_1@hotmail.com
Ticiano Franco Pereira da Silva	Fortaleza - CE	ticifranco@hotmail.com
Ticiano Guimarães Leite	Belo Horizonte - MG	ticianobrasileiro@yahoo.com.br
Ulisses Ferreira Ribeiro	Porto Alegre - RS	ulisses.ribeiro@pfizer.com
Urcinato Sume Tavares Jr.	Belém - PA	urcintotavares@yahoo.com.br
Valéria Queiroz		
Valeska Rodrigues	Jaboticabal - SP	filovet99@yahoo.com.br
Valmir Fontoura de Souza	Ponta Grossa - PR	valmirfontoura@uol.com.br
Vanessa Zanchi		
Vanilla Gomes do Carmo Pena	Seropédica - RJ	vangov1@hotmail.com
Venício José de Andrade	Belo Horizonte - MG	vejoan@terra.com.br



Vera Lúcia Teixeira de Jesus	Rio de Janeiro - RJ	jesus@ufrj.br
Veruska Miranda Araújo	Taguatinga - DF	veruskamiranda@hotmail.com
Vicente Ribeiro do Vale Filho	Belo Horizonte - MG	clinica@vet.ufmg.br
Victor Azuma	Umuarama - PR	victor_azuma@hotmail.com
Victor Hugo Araujo Cadamuro	Umuarama - PR	victor_mvmet@hotmail.com
Vilberto Preti		
Vilma Regiane Koziol		
Vilmar Roque Comiran	Agua Santa - RS	
Vinício Araújo Nascimento	Viçosa - MG	vinicioaraujon@yahoo.com.br
Vinicius Bonato da Rosa	Itapema - SC	vinicius_rosa@terra.com.br
Vinicius Guarini Favero	Curitiba - PR	vinicius_favero@hotmail.com
Vinicius Preisler	Umuarama - PR	vinicius_preisler@hotmail.com
Vitor Salvador Picão Gonçalves		
Viviane de Oliveira Felizardo	Lavras - MG	viviofbio@yahoo.com.br
Viviane Helena Chirinéa	Botucatu - SP	vivichiri@hotmail.com
Wallace Grecco de Almeida	Umuarama - PR	wallace_grecco@hotmail.com
Walmir Fontoura	Ribeirão Preto - SP	evaldo@ourofino.com
Walmir Perusso		
Werner Mendes Mick	Umuarama - PR	wernermick@ibest.com.br
Wilian Miguel Marchezan	Passo Fundo - RS	miguelmarchezan@hotmail.com
William Gomes Vale		
William Miguel Marchezan	Passo Fundo - RS	miguelmarchezan@hotmail.com
Willy Tatyane Hage Gomes	Belém - PA	tatyhage@yahoo.com.br
Wilter Ricardo Russiano Vicente	Jaboticabal - SP	wilter@fcav.unesp.br
Wladimira Alice Justino Pedro	Palotina - PR	wlad82@hotmail.com
Yara das Neves e Silva	Cuiabá - MT	
Yuri Willys Copini	Umuarama - PR	yuri_copini@hotmail.com