



2018

ANAIS DA SBTE



REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE EMBRIÕES

organização



Do Presidente da SBTE

Queridos colegas,

É com grande prazer que os recebo na **32ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões (SBTE-2018)**, no Resort Costão do Santinho, em Florianópolis - Santa Catarina, Brasil.

Gostaria de agradecer especialmente ao nosso Comitê Científico (Drs. Vilceu Bordignon, Luiz Pfeifer e Bernardo Gasperin), que organizou um programa espetacular com um excelente grupo de palestrantes, possibilitando a discussão de questões substanciais em matéria de produção de embriões e fertilidade. Também gostaria de agradecer aos nossos palestrantes e coordenadores de workshop, pela gentileza em compartilhar seu tempo e conhecimento, contribuindo para a notável qualidade da nossa reunião.

Agradeço também aos nossos patrocinadores: CNPq, CAPES e empresas parceiras, em especial as empresas parceiras do condomínio SBTE, por sua grande contribuição para viabilizar este encontro.

Obrigado a todos os membros da SBTE por apoiar nossa Sociedade de muitas maneiras ao longo das décadas.

Finalmente, meus sinceros e especiais agradecimentos a todos os diretores da SBTE, cujo trabalho árduo tornou possível esse encontro.

Meus cumprimentos,

Marcelo Marcondes Seneda
Presidente da SBTE (2018-2019)

Carta da Comissão Científica

Queridos amigos e colegas,

Temos o prazer de recebê-los na 32ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões (SBTE), que será realizada de 16 a 19 de agosto de 2018, em Florianópolis, SC, Brasil. Esta edição especial da *Animal Reproduction* contém os artigos completos dos palestrantes convidados das reuniões anuais da SBTE e da Associação de Tecnologia de Embriões na Europa (AETE). Expressamos nossa gratidão ao corpo editorial e aos funcionários da Revista por seu apoio e colaboração na organização e publicação dos procedimentos conjuntos das reuniões anuais da SBTE e da AETE.

Para a SBTE 2018, preparamos uma reunião especial com dois programas complementares: em 17 de agosto, um programa voltado para tecnologia abrangerá tópicos de grande interesse para os profissionais que atuam na área e, no dia 18 de agosto, um programa voltado para ciência abrangerá aspectos sobre biologia reprodutiva, desenvolvimento de oócitos / embriões e novas biotecnologias. Agradecemos a todos os palestrantes por seu empenho e esforços na preparação dos artigos de revisão, sua boa vontade em cumprir nossos prazos e por suas apresentações orais durante a reunião da SBTE.

O programa SBTE 2018 terá início na tarde de 16 de agosto, com seis oficinas planejadas e desenvolvidas para atender aos diversos interesses de todos os membros da SBTE. Os participantes terão a oportunidade de participar do workshop de seu interesse, onde profissionais renomados e cientistas compartilharão suas experiências e descobertas de pesquisas. Somos gratos aos apresentadores e coordenadores das oficinas por suas enormes contribuições, especialmente sua dedicação ao planejamento e desenvolvimento de cada tópico.

O programa da SBTE continuará durante a cerimônia de abertura em 16 de agosto, quando o Dr. Daniel Salamone, presidente da Sociedade Internacional de Transferência de Embriões (IETS), apresentará uma atualização sobre a produção mundial de embriões.

Gostaríamos de expressar nossa gratidão aos coordenadores das sessões de resumos, aos revisores de resumos e manuscritos, e aos colegas que avaliaram os resumos das competições e premiações. Este ano, mais de 250 resumos foram recebidos e cuidadosamente avaliados. Obrigado a todos pelo seu tempo e esforço dedicados ao processo de revisão.

Gostaríamos de destacar o tremendo trabalho, dedicação e contribuições de todos os membros da Diretoria da SBTE em tornar este encontro possível.

Finalmente, agradecemos a todos os membros e participantes da SBTE por sua participação na reunião anual da SBTE 2018.

Bernardo Garziera Gasperin
Luiz Francisco Machado Pfeifer
Vilceu Bordignon
Co-Presidentes do Comitê Científico da SBTE (2018-2019)

Membros do Conselho Administrativo da SBTE (2018-2019)

Presidente: **Marcelo Marcondes Seneda**(UEL -Londrina, PR)

Vice presidente: **Flávio Meirelles** (FZEA/USP - Pirassununga, SP)

1º Secretário: **Luciana Rafagnin Marinho** (UEL -Londrina, PR)

2º Secretário: **Fabiana Bressan** (FZEA/USP - Pirassununga, SP)

1º Tesoureiro: **Márcio de Oliveira Marques** (Geraembryo - Cornélio Procópio, PR)

2º Tesoureiro: **José Nélio Sales**(UFLA - Lavras, MG)

Diretor de Comunicações: **Marcos Roberto Chiaratti**(UFSCar - São Carlos, SP)

Diretor de Comunicações: **Fabiana Melo Sterza**(UEMS - Aquidauana, MS)

Diretor de negócios: **Manoel Sá Filho** (Alta Genetics - Uberaba, MG)

Representante de Médicos Veterinários: **Gustavo Gomes dos Santos**(Sheep Embryo -
Reprodução Animal - Londrina, PR)

Co-Presidente do Comitê Científico: **Bernardo Garziera Gasperin**(UFPel - Pelotas, RS)

Co-Presidente do Comitê Científico: **Luiz Francisco Pfeifer**(Embrapa Rondônia - Porto Velho,
RO)

Co-Presidente do Comitê Científico: **Vilceu Bordignon** (McGill University - Canada)

Editores Gerais da SBTE

Bernardo Garziera Gasperin

Luiz Francisco Machado Pfeifer

Vilceu Bordignon

Coordenadores de Workshop da SBTE

Gustavo Martins Gomes dos Santos

Evelyn Andrade

Ligia Margareth Cantarelli Pegoraro

Jeferson Ferreira da Fonseca

Bernardo G. Gasperin

Luiz Francisco Machado Pfeifer

Vilceu Bordignon

Revisores de Manuscrito da SBTE

Anthony Cesar de Souza Castilho

Arnaldo Diniz Vieira

Augusto Schneider

Fabiola Freitas Paula Lopes

Fernando Silveira Mesquita

Flavia Lombardi Lopes

Fábio Morotti

Gustavo Zamberlam

Hernan Baldassarre

Kalyne Bertolin

Karina Gutierrez

Lígia Margareth Cantarelli Pegoraro

Lindsay Unno Gimenes

Luiz Francisco Machado Pfeifer

Luiz Gustavo Bruno Siqueira

Marcelo Bertolini

Marcelo Fábio Gouveia Nogueira

Marcos Henrique Barreta

Mateus Jose Sudano

Monique Tomazele Rovani

Moses Miranda

Rafael Gianella Mondadori

Rogério Ferreira

Werner Giehl Glanzner

Coordenadores da Sessão de Resumos da SBTE

Alexandre Rossetto Garcia
Ana Paula Ribeiro Rodrigues
Augusto Schneider
Fernando Silveira Mesquita
Guilherme Pugliesi
Lígia Margareth Cantarelli Pegoraro

Lindsay Unno Gimenes
Luiz Gustavo Bruno Siqueira
Marcelo Fábio Gouveia Nogueira
Rogério Ferreira
Werner Giehl Glanzner

Revisores de Resumos da SBTE

Adnan Darin
Alejo Menchaca
Alessandra Coralo Nicacio
Alexandre Henryli de Souza
Alexandre Rossetto Garcia
Alexsandra Fernandes Pereira
Alfredo Quites Antoniazzi
Alfredo Skrebsky Cezar
Andre Crespilho
André Luís Rios Rodrigues
Anibal Ballarotti do Nascimento
Anna Carolina Denicol
Anthony Cesar Souza Castilho
Arnaldo Diniz Vieira
Augusto Schneider
Beatriz Caetano da Silva Leão
Bernardo Garziera Gasperin
Bruna C. Rios Alves
Bruno Freitas
Bruno Moura Monteiro
Carine Dahl Corcini
Carlos Antônio Carvalho Fernandes
Carlos Frederico Martins
Carlos Otavio de Paula Vasconcelos
Carolina Capobiango Romano Quintão
Cassio Cassal Brauner
Clara Slade Oliveira
Claudia Barbosa Fernandes
Claudia Maria Bertan Membrive
Daniela dos Santos Brum
Danila Barreiro Campos
Dárcio Ítalo Alves Teixeira

Diego Velasco Acosta
Domenico Vecchio
Eduardo Kenji N Arashiro
Eduardo Montanari Razza
Eduardo Schmitt
Eliza Rossi Komninou
Elizangela Moreira
Emiliana de Oliveria Santana Batista
Eraldo Lourenso Zanella
Eriklis Nogueira
Everton Lopes
Fabio Gallas Leivas
Fabio Morato Monteiro
Fabio Vasconcellos Comim
Fabiola Freitas Paula Lopes
Fabrício Mozzaquatro
Felipe Zandonadi Brandão
Fernando Caetano de Oliveira
Fernando Silveira Mesquita
Flavia Lombardi Lopes
Franciele Osmarini Lunardi
Francielli Weber Santos Cibir
Glaucio Lopes
Guilherme de Paula Nogueira
Guilherme Moura
Guilherme Pugliesi
Gustavo Desire Antunes Gastal
Gustavo Guerino Macedo
Gustavo Zamberlam
Hernan Baldassarre
Hymerson Costa Azevedo
Ines Cristina Giometti

Jeferson Ferreira da Fonseca
Joao Alvarado Rincon
João Henrique Moreira Viana
Jorgea Pradiee
José Antonio Dell’acqua Junior
José de Oliveira Carvalho
José Nélio S. Sales
Juliana Corrêa Borges Silva
Juliano Coelho da Silveira
Kalyne Bertolin
Karina Goularte
Karina Gutierrez
Katia Cristina Silva-Santos
Kleber Menegon Lemes
Klibs N. Galvao
Lais Mendes Vieira
Letícia Zoccolaro Oliveira
Ligia M. Cantarelli Pegoraro
Lilian Katia Ximenes da Silva
Lindsay Unno Gimenes
Lucas Carvalho Siqueira
Lucas Hax
Luciana Padilha Nakaghi
Luciana Simões Rafagnin Marinho
Luis Fabiano Costa
Luiz Francisco Machado Pfeifer
Luiz Gustavo Bruno Siqueira
Marc Maserati
Marcelo Tigre Moura
Marco Roberto Bourg De Mello
Marcos Henrique Barreta
Margot Alves Nunes Dode
Maria Emília Franco de Oliveira
Maria Gabriela Tavares Rheingantz
Mateus Jose Sudano
Milton Maturana Filho
Moana Rodrigues França
Monique Tomazele Rovani
Nadja Gomes Alves
Naiara Zoccal Saraiva
Nelcio Antonio Tonizza de Carvalho
Pedro Augusto Silva Silveira
Pedro Leopoldo Monteiro Jr
Priscila Reis Kahwage
Rafael Augusto Satrapa
Rafael Mondadori
Rafael Ulguim
Regiane Rodrigues dos Santos
Ricarda Maria dos Santos
Roberta Machado Ferreira
Roberto Sartori Filho
Rodolfo Daniel Mingoti
Rogério Ferreira
Sabine Wohlres Viana
Sergio Abreu Machado
Simone do Socorro Damasceno
Sony Dimas Bicudo
Thales Ricardo Rigo Barreiros
Thiago Martins
Thomaz Lucia Jr
Tiago Henrique Camara de Bem
Valdevane Rocha Araujo
Valério Marques Portela
Vilceu Bordignon
Vitor Braga Rissi
Werner Giehl Glanzner

Equipe de apoio

Camila Bizarro da Silva
Camila Oliveira Rosa
Denis Vinicius Bonato
Fabio Lucas Zito de Moraes
Larissa Zamparone Bergamo
Anne Kemmer Souza
Nathalia Covre da Silva
Tamires Korchovei Sanches
Suellen Miguez González
Fabiana de Dio Sarapião
Mateus Anastacio da Silva
Ana Clara Canto Souza
Camila Bortoliero Costa

Anais da XXXII Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões
Florianópolis, 2018

PATROCINADORES:



INSTITUIÇÕES:



SOCIEDADES:



ORGANIZAÇÃO:



ÍNDICE DE RESUMOS

LISTA DE RESUMOS APRESENTADOS	PÁGINA
IATF/ TETF/ IA	
Uso de Acetato de Melengestrol em Blocos Nutricionais para novilhas a pasto Gisele Zoccal Mingoti, Thiago Vieira Neves, Juliana Corrêa Borges Silva , Luiz Orcirio Fialho Oliveira, Eriklis Nogueira	1
Concentração sérica de P4 no momento da IATF em fêmeas Nelore tratadas com 50 vs. 100mg de P4 injetável (curta e longa ação) no protocolo de ressincronização superprecoce Bruna Martins Guerreiro, Bruno Gonzales de Freitas, Marcos Henrique Alcantara Colli, Romulo Germano Rezende, Luciano Penteadado, Walter Antonio Gonçalves Junior, Pietro Sampaio Baruselli	2
Efeito da dose de gonadotrofina coriônica equina (eCG) na taxa de prenhez aos 30 e 60 dias em novilhas Nelore (<i>Bos indicus</i>) submetidas à IATF Augusto Rodrigues Felisbino Neto, Denis Fernando Cirino Souza, Rafael Augusto Campos, Thayna Gabriela Fernandes Alves , Michele Ricieri Bastos , Bruno Gonzalez Freitas, Marcos Henrique Alcantara colli, Flavia Morag Elliff, Rodolfo Daniel Mingotti, Pietro Sampaio Baruselli	3
Efeito de diferentes doses de eCG (300UI vs 400UI) sobre a taxa de prenhez em primíparas nelore (<i>Bos indicus</i>) submetidas à IATF Laís Ângelo de Abreu, Bruna Lima Chechin Catussi, Felipe Barbosa dos Santos, Marcos Henrique Alcantara Colli, Rodolfo Daniel Mingoti, Luciano Penteadado, Mário Ribeiro Júnior, Rubens Cesar Pinto da Silva, Márcio de Oliveira Marques, Pietro Sampaio Baruselli	4
Eficiência de diferentes protocolos para IATF conforme tratamento com GnRH no início do protocolo e com dose dupla de PGF-2 α na retirada do dispositivo de P4 Juan Sepúlveda; Evandro D.F. de Souza; Mariana Pallú Viziack; Flavia Morag Elliff; Rodolfo Daniel Mingoti; Pietro Sampaio Baruselli.	5
Nova e segura estratégia de ressincronização usando estradiol aos 14 dias pós-IATF em novilhas de corte Igor Garcia Motta, Cecília Constantino Rocha, Danilo Zago Bissinoto, Gilmar Arantes Ataíde Junior, Gabriela Gabriela Dalmaso de Melo, Bruna Bruna de Souza Lafuente, Michele Ricieri Bastos, Kleber Kleber Menegon Lemes, Ed Hoffmann Madureira, Guilherme Pugliesi	5
Uso de hCG, eCG ou p-FSH na indução de estro de cabras e seus efeitos na dinâmica luteal e taxa de concepção Juliane Teramachi Trevizan, Ricardo Perecin Nociti, Ana Carolina	7

Pedrosa, Viviane Lopes Brair, Isabel Cosentino Oliveira, Mario Felipe Alvarez Balaro, Ana Lúcia Rosa Silva Maia, Jader Forquim Prastes, Felipe Zandonadi Brandão, Jeferson Ferreira da Fonseca, Maria Emilia Oliveira	
Efeito do GnRH na taxa de prenhez de vacas <i>Bos indicus</i> com e sem expressão de estro submetidas à IATF Miguel Pizzolante Bottino, Raphael Evangelista Orlandi, Eduardo Alves Lima, Luiz Manoel Souza Simões, Ana Paula Castro Santos, Paulo Henrique Alves Marinho, João Paulo Martinelli Massoneto, Luiz Antônio Scanduzzi Júnior, José Nélio Sousa Sales	8
Eficiência do protocolo de indução de ciclicidade com manejo único (progesterona injetável de longa ação) em novilhas nelore (<i>Bos indicus</i>) pré-púberes Denis Fernando Cirino de Souza, Bruno Gonzalez de Freitas, Rafael Canela de Camargo, Rafael Anjos, Bruna Martins Guerreiro, Michele Ricieri Bastos, Rodolfo Daniel Mingoti, Laísa Garcia da Silva, Bruna Lima Chechin Catussi, Augusto Rodrigues Felisbino Neto	8
Maior crescimento folicular e luteínico após tratamento homeopático de novilhas submetidas à IATF Emanuel Binotto Ferreira, Gustavo Martins Gomes dos Santos, Katia Cristina Silva Santos, Ivis da Silva Dias, Tamires Korchovei Sanches, Fábio Morotti, Guilherme de Paula Nogueira, Marcelo Marcondes Seneda	10
Efeito da pré-exposição à progesterona injetável de longa-ação sobre a taxa de prenhez de vacas <i>Bos indicus</i> lactantes submetidas ao protocolo de sincronização da ovulação Ana Paula Castro Santos, Raphael Evangelista Orlandi, Miguel Pizzolante Bottino, Luiz Manoel Souza Simões, Eduardo Alves Lima, Arthur Guerra Silva, Bruna Martins Guerreiro, Michele Richeri Bastos, Bruno Gonzalez de Freitas, Fainer Lincoln Savazzi Bertoni, João Abdon dos Santos, José Nélio Sousa Sales	11
Indução da ciclicidade e taxa de prenhez em novilhas taurinas de corte tratadas com progesterona injetável e cipionato de estradiol Débora Schneid Vaz Luiz, Carolina Gabriela Becker Berlitz, Gabriella Santos Velho, Carolina Rodrigues Oliveira, Mateus Felipe Osório dos Santos, Bruna M. Guerreiro, Bruno G. Freitas, André Gustavo Cabrera Dalto, Paulo Ricardo Loss Aguiar, João Batista Souza Borges	11
Suplementação energética e proteica no crescimento folicular e na taxa de prenhez de vacas <i>Bos indicus</i> lactantes submetidas à IATF em estação de monta de 110 dias Raphael Evangelista Orlandi, Luiz Manoel Souza Simões, Miguel Pizzolante Bottino, Ana Paula Castro Santos, Eduardo Alves Lima, João Paulo Martinelli Massoneto, Luiz Antônio Scanduzzi Júnior, Paulo Henrique Borges Marques de Pádua, José Nélio de Sousa Sales	12

<p>Taxa de concepção de vacas Nelore lactantes com baixa, intermediária e alta contagem de folículos antrais submetidas a IATF com remoção temporária do bezerro</p> <p>Fábio Lucas Zito de Moraes, Mateus Anastacio da Silva, Amanda Marchi Volpato, João Basso de Souza, Ana Clara Canto Souza, Fábio Morotti, Marcelo Marcondes Seneda</p>	13
<p>Efeito da administração de progesterona de curta ação e do período de permanência do dispositivo intravaginal de progesterona na dinâmica folicular e na taxa de prenhez de novilhas <i>Bos indicus</i> ressinclonizadas 14 dias após a IATF</p> <p>Luiz Manoel Souza Simões, Eduardo Alves Lima, Ana Paula Castro Santos, Raphael Evangelista Orlandi, Miguel Pizzolante Bottino, Paulo Henrique Alves Marinho, Luiz Antônio Scanduzzi JR, João Paulo Martinelli Massoneto, José Camisão Souza, Alexandre Henryli Souza, Pietro Sampaio Baruselli, José Nélio Sousa Sales</p>	14
<p>Ésteres de estradiol na indução e sincronização da ovulação de búfalas leiteiras submetidas ao protocolo de IATF durante a estação reprodutiva desfavorável</p> <p>Nelcio Antonio Tonizza de Carvalho, Júlia Gleyci Soares de Carvalho, José Nélio Souza Sales, Ana Maria Krüger, Bruna Martins Guerreiro, Bruno Gonzales de Freitas, Pietro Sampaio Baruselli</p>	15
<p>Efeito do ECP e do GnRH na expressão de cio e fertilidade de vacas de corte submetidas à IATF</p> <p>Vanessa Lemos de Souza, Paulo Marcos Araújo Neves, George Moreira da Silva, Elizângela Mírian Moreira, Jéssica de Souza Andrade, Luiz Francisco Machado Pfeifer</p>	17
<p>Efeitos da contagem de folículos antrais (CFA), peso e idade sobre a taxa de prenhez à IATF de novilhas Nelore</p> <p>Geancarlos Carraro da Silva, Christopher Junior Tavares Cardoso, Daniela Moraes Pereira, Giovanna de Lima Ortiz, Mariana Santos, Silvio da Silva Oliveira, Aldair Félix da Silva, Ana Caroline Bini de Lima, Dieferson Pereira de Oliveira, Janaína Menegazzo Gheller, Érikliis Nogueira, Fabiana de Andrade Melo-Sterza</p>	18
<p>Uso de progesterona injetável para ressinclonização super-precoce em vacas de corte <i>Bos indicus</i> submetidas a duas IATFs em 22 dias</p> <p>Danilo Zago Bisinotto, Barbara Piffero Mello, Fábio de Carvalho Lahr, Catia Aparecida Ferreira Gallimberti, Leonardo Amaral, Gabriela Dalmaso de Melo, Michele Ricieri Bastos, Ed Hoffman Madureira, Guilherme Pugliesi</p>	19
<p>Suplementação com acetato de melengestrol (MGA®) após a IATF em vacas de corte lactantes e novilhas <i>Bos taurus</i></p> <p>Hirya Fernandes Pinto, Daniela dos Santos Brum, Natan da Cruz de Carvalho, Normélio Alves Neto, Izaias Claro Junior, Ana Paula Martini, Gilson Antonio Pessoa, Aline Policarpo Baioco, Emídio Ferreira Machado Filho, Fabio Gallas Leivas</p>	20

Efeito do tratamento com progesterona injetável no início da ressincronização superprecoce na taxa de prenhez à IATF de novilhas Nelore Walter Antonio Gonçalves Junior, Marcos Henrique Alcântara Colli, Bruna Lima Chechin Catussi, Romulo Germano de Rezende, David Luís Andrea, Marcio Wasilewski de Castro, Bruno Gonzalez de Freitas, Bruna Martins Guerreiro, Pietro Sampaio Baruselli	21
Associação da fertilidade in vivo de touros com a produção <i>in vivo</i> de embriões Guilherme Machado Zanatta, Flávia Morag Elliff, Alessandra Bridi, Gabriel Armond Crepaldi, Rodolfo Daniel Mingoti, Mayra Elena Ortiz D'Avila Assumpção, Felipe Perecin, Pietro Sampaio Baruselli	22
Efeito da contagem de folículos antrais sobre a taxa de prenhez em novilhas nelore submetidas à inseminação artificial em tempo fixo Guilherme Henrique Freitas Seugling, Gabriella Carolina da Silva, Ana Clara Bertolino Pereira, José Gabriel Rigo Kairuz, Luiz Aguinaldo Ricetto Pegorari Junior, Maria Paula Marinho de Negreiros, Guilherme Rosalem Vicentin, Wanessa Blaschi, Thales Ricardo Rigo Barreiros	23
Progesterona circulante em fêmeas de diferentes pesos corporais tratadas com implante vaginal Guimarães João Paulo de Andrade Guimarães, Gustavo Pereira Gustavo Pereira, Amanda de Barros Martins, Humberto Del Hoyo, Ana Cristina Silva de Figueiredo, Eduardo Ramos Oliveira, Carlos Antônio de Carvalho Fernandes, Miller Pereira Palhão	24
Efeito do escore de condição corporal e contagem de folículos antrais na indução de puberdade em novilhas da raça nelore Maria Paula Marinho de Negreiros, Guilherme Henrique Freitas Seugling, Luiz Aguinaldo Ricetto Pegorari Junior, Gabriella Carolina da Silva, Ana Clara Bertolino Pereira, José Gabriel Rigo Kairuz, Guilherme Rosalem Vicentin, Wanessa Blaschi, Thales Ricardo Rigo Barreiros	25
Efeito do escore de condição corporal e contagem de folículos antrais na taxa de prenhez de vacas nelore pós-parto submetidas à inseminação artificial em tempo fixo Luiz Aguinaldo Ricetto Pegorari Junior, Guilherme Henrique Freitas Seugling, Maria Paula Marinho de Negreiros, Guilherme Rosalem Vicentin, Gabriella Carolina da Silva, José Gabriel Rigo Kairuz, Ana Clara Bertolino Pereira, Wanessa Blaschi, Thales Ricardo Rigo Barreiros	25
Taxa de concepção de acordo com vascularização de corpo lúteo em vacas e novilhas receptoras de embrião Anderson Kloster Munhoz, Marcos Henrique Colombo Pereira, José Luiz Moraes Vasconcelos	27
Efeito da dose de progesterona injetável de curta ação (50 vs 100mg) no dia 14 da ressincronização superprecoce Felipe Barbosa dos Santos, Laís De Abreu, Catussi Bruna Catussi, Caroline Pereira Da Costa, Jerónimo Moreno Cruz, Flávia Morag Elliff,	28

Mariana Dulce Delle Vedove Ortolan, Rodolfo Daniel Mingotti, Luciano Penteado Da Silva, Pietro Sampaio Baruselli	
Determinação dos níveis plasmáticos de Progesterona obtidos com diferentes doses de progesterona por via intramuscular em leitoas pré-púberes Gisele Mouro Ravagnani, Bruna Martins Guerreiro, Cristian Hernando Martinez Garcia, Bruno Bracco Donatelli Muro, Maitê Vidal Mendonça, Marina da Silva Passarelli, Ana Paula Pinotti Pavanelli, Denis Hideki Nakasone, Bruno Gonzalez de Freitas, Andrea Panzardi, Rodolfo Daniel Mingoti, André Furugen Cesar de Andrade	29
Administração de Benzoato de Estradiol em protocolos de ressincronização iniciados 13 dias após a inseminação Amanda de Barros Martins, Rodrigo Domiciano Alvarez , Jairo Pereira Neves, Carlos Antônio de Carvalho Fernandes, Miller Pereira Palhão	30
Efeito do tratamento adicional de prostaglandina ao final de protocolo de ressincronização precoce em vacas taurinas: influência do escore de condição corporal e ciclicidade sobre a taxa de prenhez Emidio Ferreira Machado Filho, Aline Policarpo Baioco, Getúlio José Milhoreto Da Silveira, João Furtado Colombo, Ana Paula Martini, Hirya Fernandes Pinto, Giovane Wolffenbuttel Carloto, Normélio Alves Neto, Izaias Claro Junior, Fabio Gallas Leivas, Manoel Francisco de Sá Filho, Gilson Antonio Pessoa	31
RESSINC 21: protocolo para ressincronização com intervalos de 21 dias e 100% de taxa de serviço - dados preliminares João Paulo Nascimento Andrade, Yuri Barbosa Guerson, Marcos Henrique de Alcantra Colli, Bruno Pena Carvalho, Fabiana Sonnewend, Júlio César Ferraz Jacob, José Nélio de Sousa Sales, Marco Roberto Bourg Mello	32
Efeito de um único tratamento com kisspeptina ou acetato de busarelina no momento da inseminação artificial em tempo fixo na: dinâmica da dispersão da ovulação, taxa de ovulação e taxa de prenhez em novilhas Nelore pré-púberes Marcos Henrique Alcantara Colli, Romulo Germano de Rezende, Flávia Morag Elliff, Guilherme Machado Zanatta, Rodolfo Daniel Mingoti, Laisa Garcia da Silva, José Ricardo Garla de Maio, Bruno Gonzalez de Freitas, Gustavo Guerino Macedo, Pietro Sampaio Baruselli	33
Fatores que influenciam na taxa de concepção à TETF de receptoras da raça Holandesa avaliadas por ultrassonografia Collor Doppler Flavio Aragon Lima, Romulo Germano de Rezende, Sergio Soriano, Alex Fagner Sica, Lais Abreu, Rodolfo Mingoti, Flávia Morag Elliff, Guilherme Zanatta, Pietro Sampaio Barusell	34
Influência da progesterona injetável na taxa de prenhez e perda gestacional em búfalas criadas extensivamente na Amazônia Haroldo Ribeiro, Sebastião Tavares, Alan Diego de Farias, Álvaro Neto, Anelise Ramos, Satish Kumar Chahar	35

Alta contagem de folículos antrais está relacionada a maiores taxas de prenhez aos 30 e 60 dias em vacas Holandesas Ricardo Guella Dröher, Tamires Korchovei Sanches, Amanda Fonseca Zangirolamo, Fábio Morotti, Marcelo Marcondes Seneda	36
Perfil de liberação de LH circulante após tratamento com prostaglandina F2alfa em vacas ovariectomizadas Natália Ávila de Castro, Elizângela Mírian Moreira, Jéssica Andrade, Paulo Marcos de Araújo Neves, Izabela Cristina Lemos, Vanessa Lemos de Souza, Vanessa Rachele Ribeiro Nunes, Renata Reis da Silva, George Moreira da Silva, Augusto Schneider, Luiz Francisco Machado Pfeifer	37
Efeito da utilização de implantes intravaginais de progesterona de segundo e terceiro uso na taxa de prenhez de vacas Nelore submetidas IATF Rafael Andrade Silva, Maria Luiza Machado Pereira, Ana Carolina dos Santos Oliveira, Alexandre Link Gasparim	38
Influência da dificuldade de inseminação, temperamento e cortisol plasmático sobre a taxa de concepção de vacas e novilhas Nelore inseminadas em tempo fixo Ana Carolina Bahia Teixeira, Amanda Guimarães da Silva, Juliana Wilke Diniz Horta, Iuri Antunes Pereira Lima, Paloma Clemente Pinto da Silva, Emmanuel Henrique Oliveira Costa, Isabella Marconato Noronha, Hugo Borges Graff, André Luís Rios Rodrigues, Felipe Zandonadi Brandão, Rogério Fonseca Guimarães Peres, Leticia Zoccolaro Oliveira	38
Bainha de inseminação artificial com três saídas para o sêmen na taxa de prenhez de vacas Bos indicus submetidas à IATF Osnir Yoshime Watanabe, Luiz Manoel Souza Simões, João Paulo Martinelli Massoneto, Luiz Antonio Scandiuzzi Junior, Leandro Inague, José Nélio Sousa Sales	40
Taxa de prenhez em novilhas Angus resincronizadas 14 dias após a IATF utilizando ultrassonografia Color-Doppler para o diagnóstico de gestação Santiago Pérez Wallace, Manuel Agustin Silva, Pablo Veiga, Santiago Bidart, Francisco Adrover, Luis Oscar Zapata, Julian Bartolome	40
Sincronização de estro com duas doses de cloprostenol em diferentes intervalos e inseminação artificial em cabras leiteiras Gisele Caldas Bonato, Joanna Maria Gonçalves de Souza-Fabjan, Luana Rangel Côrtes, Thaís de Almeida Oliveira, Aline Matos Arrais, Ana Lúcia Rosa e Silva Maia, Jader Forquim Prates, Maíra de Oliveira Veiga, Jeferson Ferreira da Fonseca	41
Influência das alterações do peso corporal, perda de escore de condição corporal e comportamento durante o período de manejo para IATF sobre a taxa de concepção de vacas Nelore Maria Eduarda Scheel Bomtempo, Jose Henrique Ayres Dias, Katia Cristina Silva Santos, Fabio Morotti	42
Suplementação de búfalas com gordura protegida: efeitos na produção leiteira e taxa de prenhez à IATF	43

Karine Casanova Da Silva, Nathália Albaneze Anache, Christopher Junior Tavares Cardoso, Alexandre De Oliveira Bezerra, Jean Do Prado Jara, Érikllis Nogueira, Mariane Gabriela Cesar Ribeiro Ferreira, Fabiana De Andrade Melo Sterza, Walvonvites Baes Rodrigues, Naiara Zoccal Saraiva	
Efeitos da narasina sobre a taxa de prenhez de vacas nelore sob pastejo e o desempenho de bezerros – resultados preliminares Christopher Junior Tavares Cardoso, Ana Caroline Bini de Lima, Daniela Moraes Pereira, Geancarlos Carraro da Silva, Karine Casanova da Silva, Nathália Albaneze Anache, Walvonvites Baes Rodrigues, Heitor Romero Marques Júnior, Fabiana de Andrade Melo-Sterza, Érikllis Nogueira	45
Eficiência do sêmen refrigerado na IATF de vacas Girolando Osvaldo Almeida Resende, Pedro Afonso P. Moreira Alves, Rosane Scatamburlo Lizieire Fajardo, Jaci de Almeida, Otávia Reis Silva, Marco Roberto Bourg de Mello	46
Importância do diâmetro folicular e da ocorrência de estro e taxa de concepção de vacas Nelore submetidas à IATF João Paulo Lollato, Guilherme A Veras, M. C. Farias, R. A. Silva Júnior, Milton Maturana Filho, Reuel Luiz Gonçalves, C. C. Bartolomeu, M. A. L. Oliveira	47
Administração de hCG sete dias após início do estro eleva a taxa de gestação em cabras togenburg submetidas a indução de estro sincronizado e acasaladas naturalmente Luana Rangel Côrtes, Maíra de Oliveira Fraga, Dáfne dos Santos Silva, Jader Forquim Prates, Brenda Barbosa Martins, Lucas Machado Figueira , Gisele Caldas Bonato, Aline Matos Arrais, Joanna Maria Gonçalves Souza-Fabjan, Felipe Zandonadi Brandão, Jeferson Ferreira da Fonseca	48
Melhoria na eficiência reprodutiva de vacas acíclicas de corte na estação de monta Jéssica Ruiz Pereira, Carlos Antonio de Carvalho Fernandes, Humberto Luis Neri, Ana Cristina Figueiredo, Gustavo Henrique Sousa Pereira, José Antonio Dias Garcia, Camilla Soares Scattaregi	49
Curva de liberação de progesterona em um implante vaginal utilizado por três vezes em vacas e novilhas mestiças Gustavo Henrique de Sousa Pereira, Carlos Antônio de Carvalho Fernandes, Humberto Luis Del Hoyo Neri, Ana Cristina Silva de Figueiredo, Jéssica Ruiz Pereira, Raisse Marina da Silva, Ester Siqueira Caixeta Nogueira	50
Efeito do uso de acetato de medroxiprogesterona nos dias 12 a 17 pós-cobertura sobre a função luteal de ovelhas deslanadas Eduardo Kenji Nunes Arashiro, Mario Felipe Alvarez Balaro, Juliana Dantas Rodrigues Santos, Marta Maria Campos Pereira da Costa, Ana Beatriz da Silva Carvalho, Felipe Zandonadi Brandão	51
Uso da ultrassonografia Color-Doppler na seleção de receptoras de embriões da raça Aberdeen Angus	52

Agustín Silva, Pablo Veiga, Tomás Castro, Julián Bartolomé, Santiago Perez Wallace	
Efeitos do uso Benzoato e Cipionato de estradiol no desenvolvimento folicular e ovulação de ovelhas Sergio Farias Vargas Júnior, Karina Lemos Goularte, Diego Corrêa Silveira, Rafael Mielke Barbosa, Betina Capeletti, Nathália Wacholz Knabah, Fernando Caetano de Oliveira, Bernardo Garziera Gasperin, Rafael Gianella Mondadori, Arnaldo Diniz Vieira	53
Inter-relação entre as Características Foliculares e Luteais de Fêmeas Bovinas Leiteiras submetidas a um Programa de Inseminação Artificial em Tempo Fixo Tiago Oliveira Brandão, Alexandra Soares Rodrigues, Gabriel Gomes Dalchiavon, Jackeline Ferreira Dos Santos, Myrlla Rodrigues Alcantara, Antonio de Lisboa Ribeiro Filho, Rodrigo Freitas Bittencourt, Marcos Chalhoub Coelho Lima	54
Incidência de endometrite subclínica em vacas de corte pós-parto submetidas à IATF Jéssica de Souza Andrade, Renata Reis da Silva, Izabela Cristina Lemos, George Moreira da Silva, Elizangêla Mirian Moreira, Luiz Francisco Machado Pfeifer	55
Utilização da associação do 17 β -estradiol e progesterona para sincronização da ovulação em fêmeas de corte <i>Bos indicus</i> Cecília Constantino Rocha, Barbara Piffero Mello, Gabriela Dalmaso de Melo, Catia Aparecida Ferreira Gallimberti, Igor Garcia Motta, Fábio de Carvalho Lahr, Leonardo Amaral, Kleber Menegon Lemes, Rafael José de Carvalho Moreira, Ed Hoffmann Madureira, Guilherme Pugliesi	56
Influência do ganho de peso sobre a taxa de concepção de vacas Nelore com baixa, intermediária e alta contagem de folículos antrais submetidas a IATF Fábio Morotti, Andressa Guidugli Lindquist, Fábio Lucas Zito de Moraes, Amanda Marchi Volpato, João Basso de Souza, Marcelo Marcondes Seneda	57
Efeito de diferentes classes de escore de condição corporal sobre a taxa de concepção de vacas Nelore com baixa, intermediária e alta contagem de folículos antrais submetidas a IATF Camila Bortoliero Costa, Fábio Lucas Zito Moraes, Fábio Morotti, Paula Alvares Lunardelli, Marcelo Marcondes Seneda	58
Marcadores de estresse e inflamação em ovelhas inseminadas por laparoscopia Andrez Pastorello Bohn, Vitória Gasperin Guazzelli Costa, Nathália Wacholz Knabah, Rafael Mielke Barbosa, Jenniffer Hauschildt Dias, Fernando Caetano de Oliveira, Cristina Sangoi Haas, Augusto Schneider, Rafael Gianella Mondadori, Bernardo Garziera Gasperin, Arnaldo Diniz Vieira	59

Efeitos do temperamento e da suplementação mineral e vitamínica nas taxas de prenhez em fêmeas nelore submetidas à IATF Barbara Piffero Mello, Milton Maturana Filho, Kleber Menegon Lemes, Thiago Santin, Reuel Luiz Gonçalves, João Paulo Mendes Lollato, Ed Hoffmann Madureira, Claudia Maria Bertan Membrive	60
Metodologias de identificação do estro como alternativa de otimizar os resultados da IATF Nathália Albaneze Anache, Karine Casanova da Silva, Walvonvitis Baes Rodrigues, Jean do Prado Jara, Fernando Rech, Pedro Paulo Pires, Christopher Junior Tavares Cardoso, Érikliis Nogueira	61
Efeito de diferentes concentrações de sêmen sexado na taxa de concepção de vacas Nelore multíparas submetidas a IATF Márcio de Oliveira Marques, Mário Ribeiro Júnior, Fábio Morotti, Marcelo Marcondes Seneda, Pietro Sampaio Baruselli	62
Demonstração de estro e taxa de concepção à IATF de vacas nelore com alta, média ou baixa contagem de folículos antrais José Henrique Ayres Dias, Gustavo Martins Gomes Santos, Nathalia Covre Silva, Bruno Ambrozini, Maria Eduarda Scheel Bomtempo, Katia Cristina Silva Santos	63
O tratamento com eCG aumenta o crescimento folicular, a expressão de estro, a taxa de ovulação e a taxa de concepção em vacas Nelore primíparas submetidas à IATF Bruna Lima Chechin Catussi, Roberta Machado Ferreira, Reuel Luiz Gonçalves, João Paulo Mendes Lollato, Caroline Pavoski, Atã Taygoara Loureiro, Rodolfo Daniel Mingotti, Pietro Sampaio Baruselli	64
Avaliação de diferentes estratégias de suplementação mineral e vitamínica injetável na melhoria da fertilidade de vacas de corte em diferentes regiões do Brasil Milton Maturana Filho, Roberta Machado Ferreira Saran, João Abdon dos Santos dos Santos, João Paulo Mendes Lollato, José Lauro Costa Junior, Charles Shutz, Clóvis Juk Fazzano, Rooveth Luis Melo de Souza, Reuel Luiz Gonçalves	65
Avaliação da suplementação mineral e vitamínica injetável (Kit Adaptador® MIN e VIT, Biogénesis Bagó) na melhoria de parâmetros ovarianos e de fertilidade em vacas Nelore Reuel Luiz Gonçalves, Milton Maturana Filho, João Paulo Mendes Lollato, Kleber Menegon Lemes, Thiago Santin, Manuel Agustin Silva, Guillermo Mattioli, Juan Manuel Rodriguez Pérsico, Ed Hoffmann Madureira	66
Fertilidade após primeiro serviço na IATF e repasse com touro de novilhas Nelore submetidas a protocolo de indução precoce da puberdade com ou sem aplicação de PGF2 α Paulo Sergio Lavigne Sampaio, Ana Carolina Bahia Teixeira, Juliana Wilke Diniz Horta, Iuri Antunes Pereira Lima, Fernanda Carolina Alves da Cruz, Felipe Fantini dos Santos Scarpelli, Isabella Macedo Coutinho,	67

Virginia Maria Toledo Vilela, Gabriel Augusto Monteiro, Clara Slade Oliveira, Fabio Morato Monteiro, Leticia Zoccolaro Oliveira	
GnRH aumenta a taxa de prenhez em vacas Nelore submetidas a IATF e sem manifestação de estro Guilherme A Veras, M. C. Farias, R. A. Silva Júnior, Milton Maturana Filho, Reuel Luiz Gonçalves, João Paulo Mendes Lollato, C. C. Bartolomeu, M. A. L. Oliveira	68
A administração de hCG no sétimo dia após início do estro pode contornar efeitos negativos de protocolo de relaxamento cervical em ovelhas: Resultados preliminares Aline Matos Arrais, Marco Roberto Bourg de Mello, Luana Rangel Côrtes, Gisele Caldas Bonato, Thaís de Almeida Oliveira, Bruno Pena Carvalho, Jeferson Ferreira da Fonseca	69
Correlação da contagem de folículos antrais com hormônio anti-mülleriano e progesterona em novilhas indicus-taurus submetidas ao protocolo de sincronização da ovulação Emilly Pitman de Castro, Ana Clara Canto Souza, Fábio Morotti, Gustavo Martins Gomes dos Santos, Katia Cristina Silva-Santos, Celso Koetz Junior, Marcelo Marcondes Seneda	70
Comparação de diferentes doses de eCG para protocolos de ressincronização de estro para IATF em ovinos Augusto Ryonosuke Taira, Juliana Dantas Rodrigues Santos, Mário Felipe Alvarez Balara, Eduardo Kenji Nunes Arashiro, Isabel Oliveira Cosentino, Ana Beatriz da Silva Carvalho, Ana Luiza Cunha Bade, Rodolfo Ungerfeld, Felipe Zandonadi Brandão	71
Comparação entre FSH e eCG em um protocolo para Inseminação Artificial em Tempo Fixo em fêmeas Nelore Alexandra Soares Rodrigues, Tiago Oliveira Brandão, Jackeline Ferreira dos Santos, Gabriel Gomes Dalchiavon, Myrla Rodrigues Alcantara	72
O tratamento com dispositivos intravaginais de uso único e impregnados com 0,5 g ou 1 g de progesterona resultam em semelhantes taxas de estro e concepção em vacas Nelore paridas e submetidas ao protocolo de IATF Roberta Machado Ferreira, Helton Aparecido Garcia Gregianini, Reuel Luiz Gonçalves, João Paulo Mendes Lollato, José Nélio de Sousa Sales, Pietro Sampaio Baruselli	73
Avaliação da pré-sincronização PG-3-G em programas Ovsynch-P de vacas leiteiras: Resultados preliminares Gabiella dos Santos Velho, Carolina Rodrigues Oliveira, Carolina Gabriela Becker Berlitz, Débora Schneid Vaz Luiz, Márcio Flores da Cunha Chaiben, André Gustavo Cabrera Dalto, João Batista Souza Borges	74
OPU-FIV e TE	

Influência da estação do ano e grupo genético na produção comercial de embriões bovinos <i>in vitro</i> Bárbara Gomes Rodrigues Nogueira, Lilian Francisco Arantes de Souza, Isabella Rio Feltrin, Claudia Bertan Membrive, Ines Cristina Giometti, Caliê Castilho	75
Estudo sobre a superovulação com coasting de FSH em fêmeas bovinas Fabio Marcelo De Queiroz, Ana Carolina Fanhani De Arruda Botelho, Fábio Luiz Bim Cavalieri, Isabele Picada Emanuelli, Márcia Aparecida Andreazzi	76
Efeito do cruzamento entre <i>Bos taurus</i> e <i>Bos indicus</i> nas taxa de blastocisto e prenhez em um programa comercial de PIVE Izabelle Pereira Lacerda, Marcelo Marcelo Machado Souza Lima, Breno Guerra, Eduardo Costa, Jose Oliveira Carvalho	76
Sazonalidade e estágio de desenvolvimento embrionário influenciam a taxa de prenhez em programa comercial de produção <i>in vitro</i> de embriões bovinos Bárbara Gomes Rodrigues Nogueira, Lilian Francisco Arantes de Souza, Kleber Luciano Ancioto, Claudia Bertan Membrive, Sheila Merlo Garcia, Teissiane Fernanda de Vasconcelos Ferreira, Caliê Castilho	77
Adição de resveratrol ao meio de manutenção e viabilidade de embriões bovinos produzidos <i>in vitro</i> Mariana da Mata Silveira, Karen Martins Leão, Thaisa Campos Marques, Viler Carrijo Oliveira, Nivaldo Ribeiro de Almeida Neto, Liliane Cândida de Souza, Amanda Carrilho Lopes de Castro, Kelly Rocha Rodrigues, Fernando Lima da Silva, Angélica Cabral Oliveira, Cleber Alves de Souza, Leidiane Gonçalves Fernandes	78
Obtenção de embriões produzidos <i>in vitro</i> a partir de oócitos recuperados por aspiração folicular transvaginal guiada por ultrassom em bezerras Holandesas Nathalia Covre da Silva, Bruno Valente Sanches, Fábio Morotti, Luciano Bonilla, William Garcia Abreu, Anne Kemmer Souza, Amanda Fonseca Zangirolamo, Marcelo Marcondes Seneda	79
Aditivo antioxidante no meio de manutenção para transporte de embriões PIV Viler Carrijo Oliveira, Thaisa Campos Marques, Karen Martins Leão, Mariana da Mata Silveira, Nivaldo Ribeiro de Almeida Neto, Leidiane Gonçalves Fernandes, Kelly Rocha Rodrigues, Fernando Lima da Silva, Liliane Cândida de Souza, Flávia Andressa da Silva Quiste, Angélica Cabral Oliveira, Cleber Alves de Souza	80
Fatores que afetam o resultado da prenhez de um centro comercial de tecnologia de embriões bovinos em Minas Gerais Pâmella Alves Correia, Louise Marques Coelho, Marcelo Siqueira El Azzi, Jesús Alfonso Sánchez Viafara, Marcus Filipe Paiva Moraes, Alessandro Magno Cambraia Esteves, Thiago Figueiredo Ferreira, Juliana Santos Silva, Guilherme de Abreu Carvalhaes Bartholomeu, Guilherme	81

Cambraia Rezende Alves, José Camisão de Souza	
Superovulação e colheita transcervical de embriões em ovelhas Lacaune criadas em condições tropicais Lucas Machado Figueira, Nadja Gomes Alves, Joanna Maria Gonçalves de Souza-Fabjan, Ribrio Ivan Tavares Pereira Batista, Lucas Corrêa de Souza, Ana Lúcia Rosa e Silva Maia, Viviane Lopes Brair, Manuela Filgueiras, Guilherme Nunes de Souza, Jeferson Ferreira da Fonseca	82
Comparação do estresse e bem-estar animal causados pelos procedimentos de coleta de embriões cirúrgica e não cirúrgica em ovelhas Juliana Dantas Rodrigues Santos, Isabel Cosentino Oliveira, Viviane Lopes Brair, Mario Felipe Alvarez Balara, Maria Clara Cruz Moraes, Eduardo Kenji Nunes Arashiro, Joanna Maria Gonçalves Souza-Fabjan, Jeferson Ferreira da Fonseca, Felipe Zandonadi Brandão	83
Resistência periférica à insulina em vacas Holandesas (<i>Bos taurus</i>) repetidoras de serviço submetidas à secagem Romulo Germano de Rezende, Rodolfo Daniel Mingoti, Bernardo Marcozzi Bayeux, Flávia Morag Elliff, Marcos Henrique Alcântara Colli, Bruna Lima Chechin Catussi, Jessica Cristina Lemos Motta, Yeda Fumie Watanabe, Pietro Sampaio Baruselli	84
Produção in vitro de embriões de Novilhas da raça Nelore (<i>B. indicus</i>) de 12 e 24 meses tratadas ou não com FSH Laísa Garcia da Silva, Bernardo Marcozzi Bayeux, Naiara Nantes Rodrigues, Flavia Morag Elliff, Rodolfo Daniel Mingoti, Marcos Henrique Alcântara Colli, Fábio Morato Monteiro, Pietro Sampaio Baruselli	85
Comparação da produção in vitro de embriões bovinos (<i>Bos indicus</i>) tratados com diferentes concentrações de peptídeo natriurético C (NPPC) na maturação ou no cultivo in vitro Camila Oliveira Rosa, Nathalia Covre da Silva, Amanda Fonseca Zangirolamo, Patricia Kubo Fontes, Juliana Hayashi Tannura, Andrea Cristina Basso, Fabio Morotti, Marcelo Fábio Gouveia Nogueira, Marcelo Marcondes Seneda	86
Extratos etanólicos de plantas do cerrado no estresse oxidativo de embriões bovinos produzidos <i>in vitro</i> Andrei Antonioni Guedes Fidelis, Francislete Rodrigues Melo, Ligiane Oliveira Leme, Taynan Stonoga Kawamoto, Paulo Roberto Adona, Margot Alves Nunes Dode	87
Resistência periférica à insulina em vacas holandesas (<i>Bos taurus</i>) repetidoras de serviço Bernardo Marcozzi Bayeux, Rodolfo Daniel Mingoti, Anibal Eucésio Vercesi Filho, Gabriela Dalmaso de Melo, Bruna Lima Chechin Catussi, Laisa Garcia da Silva, Yeda Fumie Watanabe, Pietro Sampaio Baruselli	88

Efeito do tratamento com GnRH no momento da transferência de embriões sobre a taxa de concepção de receptoras bubalinas (resultados preliminares) Damiana Chello Damiana Chello, Julio Cesar Barboza da Silva, Martin Cruz Valenzuela, Nelcio Antonio Tonizza de Carvalho, Julia Gleyci Soares, Rodolfo Daniel Mingoti, Pietro Sampaio Baruselli	89
A indução de lactação em vacas Holandesas (<i>Bos taurus</i>) repetidoras de serviço diminui a resistência periférica à insulina Rodolfo Mingoti, Bernardo Bayeux, Romulo Rezende, Flavia Elliff, Anibal Eugênio Vercesi Filho, Enilson Geraldo Ribeiro, Aline De Sousa Oliveira, Waneska Spinelli Frizzarini, Yeda Fumie Watanabe, Pietro Sampaio Baruselli	90
Efeito do tratamento com rbST na fertilidade e na produção de leite de búfalas (<i>Bubalus bubalis</i>) em lactação Lais Mendes Vieira, Mariana Pallú Viziack, Otávio Bernardes, Henderson Ayres, Pietro Sampaio Baruselli	91
Efeito do tratamento com FSH e/ou rBST na PIVE de bezerras holandesas (4 a 9 meses) Flávia Morag Elliff, Bernardo Marcozzi Bayeux, Rodolfo Daniel Mingoti, Marcos Henrique Alcântara Colli, Laísa Garcia da Silva, Gabriela Dalmaso de Melo, Guilherme Gomes, Francisco Palma Rennó, Yeda Fumie Watanabe, Pietro Sampaio Baruselli	92
Efeito de diferentes biotécnicas reprodutivas (IA, TE e FIV) no desempenho reprodutivo e produtivo de fêmeas Holandesas Mariana Pallú Viziack, Carlos Alberto Rodrigues, Rodolfo Daniel Mingoti, Pietro Sampaio Baruselli	93
Influência da categoria animal, controle de onda folicular e administração de FSH exógeno sobre a recuperação de oócitos e produção <i>in vitro</i> de embriões em fêmeas da raça Holandesa Aderson Mauricio Ifran, Anelise Ribeiro Peres, Guilherme Fazan Rossi, Roberta Vantini, Marina Ragagnin de Lima, Joaquim Mansano Garcia, Rafaela Faresim Pastorio	94
Incidência de apoptose e desenvolvimento de embriões bovinos cultivados <i>in vitro</i> na presença ou ausência de soro fetal bovino Andressa Minozzo Oliveira, Marco Antonio Menine Vielmo, Janine De Camargo, Mario Celso Sperotto Brum, Mateus José Sudano	95
Perfil metabólico e produção <i>in vitro</i> de embriões de vacas primíparas Canchim mantidas em áreas de pastejo intensivo ou silvipastoril Amanda Prudêncio Lemes, Alexandre Rossetto Garcia, Yeda Fumie Watanabe, Marina Okano Chiba, Annelise Carla Camplesi, Reinaldo Fernandes Cooke, Alice Poggi Brandão, Rodrigo da Silva Marques, Claudia Cristina Parro Paz, Lindsay Unno Gimenes	96
Associações entre dinoprost trometamina e acetato de deslorelina para indução de ovulação em éguas Mangalarga Marcelo Siqueira El Azzi, Gustavo Vasconcelos Barros, Jesus Alfonso	97

Sánchez Viafara, Pâmella Alves Correia, Fábio de Pádua Almeida, José Camisão de Souza	
Uso do conceito de centro de gravidade para analisar a dinâmica da indústria de embriões no Brasil: resultados preliminares Rômany Louise Ribeiro Gonçalves, Ana Cristina Silva Figueiredo, João Henrique Moreira Viana	98
Viabilidade de embriões bovinos produzidos <i>in vitro</i> mantidos a 36°C por seis, nove e doze horas em meio de manutenção Karen Martins Leão, Thaisa Campos Marques, Mariana da Mata Silveira, Viler Carrijo Oliveira, Nivaldo Ribeiro de Almeida Neto, Leidiane Gonçalves Fernandes, Angélica Cabral Oliveira, Cleber Alves de Souza, Kelly Rocha Rodrigues, Fernando Lima da Silva, Flávia Andressa da Silva Quiste, Amanda Carrilho Lopes de Castro	99
A técnica de coleta e o estágio do ciclo estral afetam a recuperação de oócitos de boa qualidade em felinos domésticos Joanna M. G. Souza Fabjan, Rodrigo O. Cunha, Viviane L Brair, Isabela Regis, Paulo C. Rangel, Maria Clara C. Morais, Nathalia O. Barbosa, D'Angelo C. Magliano, Ribrio I. T. P. Batista	100
Efeito da morfologia dos ccos sobre a produção <i>in vitro</i> de embriões bovinos Matheus Felipe Da Silva, Regimar Nogueira Arrabal, Guilherme Augusto Lemos, Izabela Cristina Lemos, Luiz Francisco Machado Pfeifer, Daniela Cristina Lemos De Carvalho	101
Teste de transposição cervical no estro como ferramenta para selecionar ovelhas para coleta transcervical de embriões Juliana Dantas Rodrigues Santos, Eduardo Kenji Nunes Arashiro, Mário Felipe Alvarez Balara, Joanna Maria Gonçalves de Souza-Fabjan, Pedro Henrique Nicolau Pinto, Clara Vieira de Souza, Vivian Angélico Pereira Alfradique, Ana Luiza Cunha Bade, Jeferson Ferreira da Fonseca, Felipe Zandonadi Brandão	102
Ácido docosaexaenoico (DHA) no meio de maturação <i>in vitro</i> reduz o conteúdo lipídico de oócitos e embriões suínos Verónica Hoyos Marulanda, Karina Lemos Goularte, Andrez Pastorello Bohn, Paulo Roberto Antunes da Rosa, William Borges Domingues, Arnaldo Diniz Vieira, Bernardo Garziera Gasperin, Rafael Gianella Mondadori, Thomaz Lucia Júnior	103
A adição do agonista seletivo do receptor ativado por proliferadores de peroxissoma delta (PPAR δ) L-165041 em embriões bovinos produzidos <i>in vitro</i> melhora a criotolerância? Jesús Alfonso Sánchez Viafara, Renata Maculan, Gisvani Lopes de Vasconcelos, Pedro Henriques Lima, Nadja Gomes Alves, Marcos Brandão, Roberti Martins Drumond, Raphael Nunes dos Santos, Thais Alves Rodrigues, Mateus Jose Sudano, José Camisão de Souza, Marcelo Siqueira El Azzi	104
Taxa de gestação de embriões Senepol produzidos <i>in vitro</i> .	105

Adalgiza Pinto Neto, João Paulo Jelonschek, Braion Gabriel Becher, Helton Aparecido Garcia Gregianini, Jennifer T. Ferreira Gregianini, Fernando R. Skonieski, Marcelo Falci Mota, Antônio Carlos Pedroso, Antônio Campanha Martinez	
Efeito antioxidante do óleo essencial de <i>Syzygium aromaticum</i> sobre a maturação nuclear <i>in vitro</i> de oócitos bovinos Alexsandra Fernandes Pereira, Maria Valéria de Oliveira Santos, Lucas Emanuel Nascimento, Érika Almeida Praxedes, Alana Azevedo Borges, Alexandre Rodrigues Silva, Luciana Medeiros Bertini	106
Produção de embriões bovinos a partir de ovócitos maturados <i>in vivo</i> pela transferência intrafolicular de ovócitos imaturos (TIFOI) Luzia Renata Oliveira Dias, Venâncio Augusto Oliveira Silva, Otávio Augusto Costa de Faria, Felipe Manoel Costa Caixeta, José Felipe Warmling Sprícigo, Margot Alves Nunes Dode	107
Caracterização do padrão de expressão de genes envolvidos na atividade de PGE2 e PGF2 α em CCOs bovinos com diferentes graus de competência durante a maturação <i>in vitro</i> Sarah de Andrade Dias Rodrigues, Thais Preisser Pontelo, Taynan Stonoga Kawamoto, Ligiane de Oliveira Leme, Gabriela de Oliveira Fernandes, Margot Alves Nunes Dode	108
Efeito do estágio de desenvolvimento embrionário sobre a taxa de concepção de embriões Nelore e Wagyu produzidos <i>in vitro</i> Danieli Aparecida Bóbbio Moreski, Josmar Mazucheli, Caio Henrique De Oliveira Carniatto, Ana Carolina Fanhani De Arruda Botelho, Fábio Luiz Bim Cavalieri, Francielli Gasparotto, Isabele Picada Emanuelli	109
Taxa de blastocistos e prenhez na PIVE de bovinos em relação a raça, idade e status fisiológico das doadoras Natali Freire Zanenga Chacha, Carlos Alberto Zanenga, Katarine Rezende Coelho, Daniely Coelho De Menezes, Merlison Figueiredo Pedroso, Geraldo Furtado Lima, Fábio Brum Albuquerque, Thaís Alves Rodrigues, Maria Clara Caldas Bussiere, Celia Raquel Quirino, Wilder Hernando Ortiz Veja	110
Efeito da melatonina no meio de manutenção sobre o desenvolvimento de embriões bovinos produzidos <i>in vitro</i> Thaísa Campos Marques, Mariana da Mata Silveira, Viler Carrijo Oliveira, Nivaldo Ribeiro de Almeida Neto, Karen Martins Leão, Leidiane Gonçalves Fernandes, Angélica Cabral Oliveira, Cleber Alves de Souza, Liliane Cândida de Souza, Kelly Rocha Rodrigues, Amanda Carrilho Lopes de Castro, Fernando Lima da Silva	111
Eficiência da produção e qualidade de embriões bovinos produzidos <i>in vitro</i> na ausência de soro fetal bovino Janine de Camargo, Rafaela Rodrigues, Jeferson Bueno Fripp, Diego Borba Muller, Alessandra Aparecida Vireque, Katia Roberta Anacleto Belaz, Andrea Cristina Basso, Christina Ramirez Ferreira, Marcos Nogueira Eberlin, Mateus José Sudano	112

<p>Infusão de células-tronco mesenquimais em ovários de cabras submetidas a múltiplas aspirações foliculares por laparoscopia Felipe Pereira da Silva Barçante, Yndyra Nayan Teixeira Carvalho Castelo Branco, Ícaro Oliveira Torres de Souza, Felipe de Jesus Moraes Júnior, Antônio de Sousa Júnior, Maria Acelina Martins de Carvalho, José Adalmir Torres de Souza</p>	113
<p>Efeito da Suplementação de Progesterona na Taxa de Concepção e Ressincronização de Receptoras de Embriões da Raça Nelore Pedro Baeza, Danieli Aparecida Bobbo Moreski, Antonio Hugo Bezerra Colombo, Marcia Andreazzi, Isabeli Emanuelle Picada, Fabio Morotti, Marcelo Marcondes Seneda, Larissa Zamparone Bergamo, Luiz Paulo Rigolon, Gustavo Gonçalves, Rafael Ricci Mota, Fabio Luiz Bim Cavalieri</p>	114
<p>Produção <i>in vitro</i> de embriões bovinos em baixa tensão de oxigênio aumenta a taxa de eclosão de blastocistos Daniela Moraes Pereira, Giovanna de Lima Ortiz, Mirela Brochado Souza-Cáceres, Christopher Junior Tavares Cardoso, Mariana Santos, Silvio da Silva Oliveira, Aldair Felix da Silva, Ruan Francisco da Silva, Ana Caroline Bini de Lima, Geancarlos Carraro da Silva, Fabiana de Andrade Melo-Sterza</p>	115
<p>Análise da expressão gênica de embriões bovinos produzidos <i>in vitro</i> cultivados em meio condicionado por células estromais mesenquimais uterinas Lais do Nascimento Cintra, Elena Carolina Serrano Recalde, Bruna De Vita, Carolina Nogueira de Moraes, Fernanda da Cruz Landim Alvarenga</p>	115
<p>Efeito do tamanho folicular sobre os lipídios oocitários, desenvolvimento embrionário e conteúdo lipídico de blastocistos bovinos Diego Borba Müller, Kelly Annes, Jorge Abrão Pinto Vilela, Roniele Santana Valente, Diana Pedroso Caetano, Franciele Weber Santos Cibin, Marcella Pecora Milazzotto, Fernando Silveira Mesquita, Katia Roberta Anacleto Belaz, Marcos Nogueira Eberlin, Mateus José Sudano</p>	117
<p>Efeito do inibidor de histona desacetilase durante a Pré-Maturação e/ou maturação <i>in vitro</i> de ovócito bovinos no desenvolvimento embrionário Thais Pontelo, Taynan Kawamoto, Felipe Caixeta, Marcio Zangeronimo, Margot Dode</p>	118
<p>Análise da produção comercial excedente de embriões bovinos <i>in vitro</i> Isabele Picada Emanuelli, Danieli Aparecida Bóbbo Moreski, Fábio Luiz Bim Cavalieri Cavalieri, Marcia Aparecida Andreazzi, Ana Carolina Fanhani De Arruda Botelho, Francielli Gasparotto Gasparotto, Josmar Mazucheli</p>	119
<p>Comparação de OPU-PIVE em bubalinos com o uso de sêmen refrigerado e congelado durante o período reprodutivo desfavorável Jaci Almeida, Beatriz Parzewski Neves, Mayara Ferreira Brito, Robson F. Freitas, Lílian G. Lacerda, Lira S. Grapiuna, Marc Henry</p>	120

FOLICULOGÊNESE, OOGÊNESE E OVULAÇÃO	
Reserva ovariana e dano no DNA em oócitos e células da granulosa em camundongos Ames Dwarf deficientes em GH Tatiana Dandolini Saccon, Driele Neske Garcia, Rafael Gianella Mondadori, Monique Tomazele Rovani, Jorgea Pradiee, Carlos Castilho de Barros, Michal Masternak, Augusto Schneider	121
Estresse oxidativo em tecido ovariano bovino cultivado em diferentes sistemas <i>in vitro</i> Camila Bizarro da Silva, Larissa Zamparone Bergamo, Miriam Sayuri Nagashima Hohmann, Suellen Miguez González, Waldiceu Aparecido Verri Junior, Marcelo Marcondes Seneda	122
Efeito da adição do ácido α -lipóico no sistema de cultivo <i>in vitro</i> de folículos ovarianos pré-antrais de fêmeas <i>Bos taurus indicus</i> Denis Vinicius Bonato, Camila Bizarro da Silva, Andressa Guidugli Lindquist, Tamires Korchovei Sanches, Mateus Anastacio da Silva, Isabela Búfalo, Larissa Zamparone Bergamo, Marcelo Marcondes Seneda	123
Fêmeas Nelore com baixa contagem de folículos antrais apresentam maiores taxas de concepção à IATF Janaina Menegazzo Gheller, Aldair Félix da Silva, Silvio da Silva Oliveira, Lucas Ribeiro Zottesso, Wilian Aparecido Leite da Silva, Ana Caroline Bini de Lima, Fabiana de Andrade Melo Sterza	124
Eficiente cultivo <i>in vitro</i> de complexos granulosa-oócito de camundongos Fabrícia Heloísa Cavicchioli Sugiyama, Karen Freire Carvalho, Carolina Habermann Macabelli, Thiago Simões Machado, Mateus Priolo Grejo, Marcos Roberto Chiaratti	125
Uso de diferentes indutores de ovulação em éguas Diego Rodrigues Gomes, Cinthia Cristina Jardim, Rita De Cassia Lima De Moraes, Gabriel Almeida Dutra, Giselle Stefani, Vera Lúcia Teixeira De Jesus, Júlio César Ferraz Jacob, Mariana Fernandes Souza	126
Vascularização de corpos lúteos na fase luteal inicial de ovelhas superovuladas Júlia Ribeiro Bevilaqua, Maria Emília Franco Oliveira, Mariana Garcia Kako Rodriguez, Giovanna Serpa Maciel, Gabriel Brun Vergani, Jeferson Ferreira da Fonseca	126
Efeito do tratamento intrafolicular com BHB no crescimento folicular e taxa de ovulação em vacas <i>Bos taurus</i> Juliana Ferst, Rogério Ferreira, Alexandre Fritzen, Cristina Sangoi Haas, Fernando Oliveira, Sérgio Vargas, Nayrema Maciel, Kalyne Bertolin, Bernardo Gasperin, Paulo Gonçalves	127
A eliminação de DNA mitocondrial mutante não é revertida pela inibição da via autofágica em oócitos murinos Mateus Priolo Grejo, Thiago Simões Machado, Bruna Martins Garcia, Fabrícia Heloísa Cavicchioli Sugiyama, Carolina Habermann Macabelli, Marcos Roberto Chiaratti	128

Influência da substituição da matriz extracelular durante um cultivo <i>in vitro</i> prolongado de folículos ovarianos pré-antrais Denis Vinicius Bonato, Marcela Bortoletto Cerezetti, Mateus Anastacio Da SILVA, Andressa Guidugli Lindquist, Tamires Korchovei Sanches, Ana Beatriz Marques de Almeida, Elena Castellani, Camila Bizarro Da Silva, Marcelo Marcondes Seneda	129
Efeito da prostaglandina F2 alfa na esteroidogênese de folículos pré-ovulatórios bovinos Monique Tomazele Rovani, Camila Amaral D'Avila, Cristina Sangoi Haas, Fernando Caetano de Oliveira, Sérgio Farias Vargas Jr, Lígia Margareth Cantarelli Pegoraro, Augusto Schneider, Luiz Francisco Machado Pfeifer, Bernardo Garziera Gasperin, Thomaz Lucia Jr, Paulo Bayard Dias Gonçalves	130
Função da proteína morfogenética óssea 15 no crescimento folicular final, ovulação e luteinização em bovinos Cristina Sangoi Haas, Fernando Caetano de Oliveira, Vitória Gasperin Guazzelli Costa, Monique Tomazele Rovani, Arnaldo Diniz Vieira, Sergio Farias Vargas Jr, Raj Duggavathi, Vilceu Bordignon, Rogério Ferreira, Paulo Bayard Dias Gonçalves, Bernardo Garziera Gasperin	131
Bloqueio imunológico do desenvolvimento folicular em novilhas Humberto Luis Neri, Carlos Antonio Fernandes, Ana Cristina Figueiredo, Jessica Ruiz Pereira, Miller Pereira Palhão, Gustavo Henrique Sousa Pereira, João Henrique Moreira Viana	132
Diferentes fontes de progestágenos não afetam a população folicular e a qualidade morfológica dos oócitos durante a estimulação ovariana em ovelhas da raça Santa Inês Glaucia Mota Bragança, Joanna Maria Gonçalves de Souza-Fabjan, Ribrio Ivan Tavares Pereira Batista, Lilian dos Santos Ribeiro, Viviane Lopes Brair, Luana Rangel Côrtes, Clara Vieira de Souza, Augusto Ryonosuke Taira, Jeferson Ferreira da Fonseca, Alejo Menchaca, Felipe Zandonadi Brandão	133
Eficiência da produção de embriões <i>in vivo</i> em bovinos utilizando sêmen sexado Ana Cristina Silva de Figueiredo, Carlos Antônio de Carvalho Fernandes, Humberto Luis del Hoyo Neri, Gustavo Henrique de Sousa Pereira, Jéssica Ruiz Pereira, João Henrique Moreira Viana, Mauricio Rocha Vieira	134
A insulina como possível modulador de genes das células da granulosa ligados ao desenvolvimento folicular Giuliana de Avila Ferronato, Joao Alveiro Alvarado Rincón, Andressa Stein Maffi, Bruna Mion, Cassio Cassal Brauner, Fernando Caetano de Oliveira, Cristina Sangoi Haas, Eduardo Schmitt	135
A adição de eCG no dia 2 de um protocolo de superovulação aumenta a produção de embriões em vacas doadoras da raça Aberdeen Angus Javier Irouleguy Javier Irouleguy, Manuel Agustin Silva Manuel Agustin	136

Silva, Joaquin Chiozza Logroño Joaquin Chiozza Logroño, Santiago Perez Wallace Santiago Pérez Wallace	
Retenção da meiose em ovócitos bovinos a serem utilizados na Transferência Intrafolicular De Ovócitos Imaturos (TIFOI) Venâncio Augusto Silva, Otávio Augusto Costa de Faria, Luzia Renata Oliveira Dias, Felipe Manoel Costa Caixeta, José Felipe Warmling Sprícigo, Margot Alves Nunes Dode	137
Tratamento com insulina não afeta o crescimento folicular e a esteroidogênese em bovinos Joao Alveiro Alvarado Rincón, Andressa Stein Maffi, Bruna Mion, Bernardo Garziera Gasperin, Jéssica Lazzari, Cassio Cassal Brauner, Márcio Nunes Corrêa	138
Efeitos da superexpressão de Mitofusina 1 e 2 durante crescimento de oócitos murinos in vitro Karen Freire Carvalho, Marcos Roberto Chiaratti, Hugh Clarke	139
FISIOLOGIA DA REPRODUÇÃO DO MACHO E TECNOLOGIA DO SÊMEN	
Efeito do GnRH sobre a temperatura de superfície escrotal, volume testicular e parâmetros espermáticos de touros com baixa qualidade seminal Narian Romanello, Daniela Botta, Alessandro Giro, Ana Beatriz Bossois Moura, Messy Hannear de Andrade Pantoja, Andréa do Nascimento Barreto, Marco Antonio de Paula Sousa, Caio Augusto Volante, Alexandre Rossetto Garcia	140
Influência da temperatura de transporte sobre a produção de espécies reativas de oxigênio de ovários bovinos Camila Bizarro da Silva, Larissa Zamparone Bergamo, Camila Bortoliero Costa, Miriam Sayuri Nagashima Hohmann, Waldiceu Aparecido Verri Junior, Marcelo Marcondes Seneda	141
Perfil bioquímico do plasma seminal de catetos obtido durante o período seco em clima semiárido Alexandre Rodrigues Silva, Samara Sandy Jerônimo Moreira, Ana Liza Paz Souza, Andreia Maria Silva, Lívia Batista Campos, Erica Camila Gurgel Praxedes, Alessandra Fernandes Pereira, Moacir Franco Oliveira	142
Influência da centrifugação em camada única de sílica coloidal equina na congelamento do sêmen canino Amarildo Marciano Rosa, Hugo Darcádia, Marilu Gioso, Pedro Ivo Sodré, Tatiana Saito, Ana Augusta Pagnano Derussi	143
Expressão gênica do fator de crescimento semelhante à insulina em testículos de ratos Wistar sob diferentes modalidades de treinamento físico Patrik Junior de Lima Paz, Tatiane dos Santos Bruno, Andressa Fernanda de Oliveira Magalhães, Gabriela da Silva Pinho, Vanessa da Silva Alves Gossler, Francislaine Anelize Garcia Santos, Aline de Oliveira Santos,	144

Robson Chacon Castoldi, Guilherme Akio Tamura Ozaki, Caliê Castilho, Mayara de Oliveira Vidotto-Figueiredo, Ines Cristina Giometti	
EMBRIOLOGIA, BIOLOGIA DO DESENVOLVIMENTO E FISILOGIA DA REPRODUÇÃO	
Avaliação da eficiência do dispositivo Ovalert como preditor de cio em vacas Holandesas Mariana Dulce Delle Vedove Ortolan Sayeg, Marcos Henrique Ancantara Colli, Laisa Garcia da Silva, Bárbara Piffero Mello, Mariana Pallu Viziack, Diego Marcondes Guerra, Alexandre Henrily Souza, Fábio De Carvalho Lahr, Rodolfo Daniel Mingoti, Pietro Sampaio Baruselli	145
Efeitos de um cultivo pré-MIV com esteroides e NPPC por 12 e 24 horas sobre a configuração da cromatina em oócitos bovinos Isabela Lima Gama, Ana Caroline Silva Soares, Jhessica Naomi Sakoda, José Buratini	146
Antecipação da primeira ovulação do ano em éguas Mariana Fernandes de Souza ¹ , Gabriel Almeida Dutra ¹ , Rita de Cássia Lima Moraes, Thadeu de Castro, Giselle Stefani, Marcus André Ferreira Sá, Diego Rodrigues Gomes, Natália de Figueiredo, Julio César Ferraz Jacob	147
Avaliação da toxicidade para o desenvolvimento e do carreamento do ensaio Morfolino para o interior do blastômero pelo Endo-Porter durante a produção in vitro de embriões Franciele Lanzarini, Fernanda Alves Pereira, Janine de Camargo, Diego Borba Müller, Andressa Minozzo de Oliveira, Mario Celso Sperotto Brum, Mateus José Sudano	148
Efeito do tempo após o abate na configuração em larga escala da cromatina em bovinos Jhessica Naomi Sakoda, Ana Caroline Silva Soares, Isabela Lima Gama, José Buratini	149
Morfometria pós implantação de embriões bovinos submetidos a estresse térmico durante a PIV Pedro Henrique Evangelista Guedes, Paola Maria Da Silva Rosa, Hugo Da Rocha Sabença Dias, Raquel Varella Serapião, Agostinho Jorge Dos Reis Camargo, Célio De Freitas, Luiz Altamiro Garcia Nogueira, Aline Emerim Pinna, João Victor Gonçalves Da Silva, Sheila Costa De Souza Marques, Clara Slade Oliveira	149
Indução de mecanismos de sobrevivência ao estresse térmico em embriões bovinos Clara Slade Oliveira, Pedro H E Guedes, Sheila C S Marques, João Victor Gonçalves da Silva, Agostinho J R Camargo, Célio Freitas, Raquel V Serapião, Naiara Z Saraiva, Luiz Sergio A Camargo	151
Efeito do nível sérico de cálcio e suplementação com cálcio oral no pós-parto precoce sobre a qualidade uterina em vacas leiteiras Rogério Ferreira, Clério Hoefle, Alexandro Fritzen, Giovanna Fiordalisi,	151

Raquel Pereira	
Efeito de moduladores epigenéticos no desenvolvimento de embriões bovinos derivados de oócitos submetidos a choque térmico Alex Cabral Vieira, Carolina Capobiango Romano Quintao, Eduardo Paulino Costa, Luiz Gustavo Bruno Siqueira, Clara Slade Oliveira, Tayná de Andrade Silva, Carolina David Vieira, Luiz Sergio Almeida Camargo	152
Os hormônios esteróides e as prostaglandinas (cloprostenol sódico) são eficazes na prevenção de endometrites pós-parto de vacas Girolandas Thales Discini Vasconcelos, Miller Pereira Palhão, Carlos Antonio De Carvalho Fernandes, Jairo Pereira Neves	153
Associação de dois moduladores epigenéticos no desenvolvimento inicial de embriões bovinos fêmeas Paola Maria Da Silva Rosa, Clara Ana Dos Santos Monteiro, Gabriela Ramos Leal, Pedro Henrique Evagelista Guedes, Agostinho Jorge Dos Reis Camargo, Raquel Varella Serapião, Marina Ragagnin De Lima, Joaquim Mansano Garcia, Clara Slade Oliveira	154
Prevalência bacteriana em éguas com endometrite subclínica Julio Cesar Ferraz Jacob, Rita De Cassia Lima De Moraes, Giselli Stefani, Vera Lucia Teixeira De Jesus, Diego Rodrigues Gomes, Gabriel Almeida Dutra, Mariana Fernandes Souza, Carla Fernanda Paranhos De Moura Carvalho	155
Efeito do estresse calórico no início da gestação de vacas produtoras de leite sobre índices reprodutivos das filhas Eduardo Alves Lima, Raphael Evangelista Orlandi, Luiz Manoel Souza Simões, Miguel Pizzolante Bottino, Ana Paula Castro Santos, Fernando de Oliveira Scarpa, José Nélio de Sousa Sales	156
Suplementação de progesterona/progestágeno a partir do 6° dia pós cobertura e a relação com a taxa de prenhez e perdas embrionárias de fêmeas suínas Bruno Bracco Donatelli Muro, Rafaella Fernandes Carnevale, Mariana Andrade Torres, Diego Feitosa Leal, Maite Mendonça Vidal, Denis Hideki Nakasone, Gisele Ravagnani Mouro, Cristian Hernando Garcia Martinez, Mathes Saliba Monteiro, Simone Maria Massami Kitamura Martins, André Furugen Cesar Andrade	157
Aspectos morfofuncionais e endócrinos relacionados à luteólise induzida por cloprostenol em fêmeas bovinas Carlos Antonio De Fernandes, Ana Cristina Silva Figueiredo, Humberto Neri, Jéssica Ruiz Pereira, Gustavo Henrique de Souza Pereira, Jairo Pereira Neves, João Paulo Guimarães, Maryana Furtado Sena	158
Associação entre atividade sérica de paraoxonase-1, dinâmica ovariana e concentração de hormônios esteróides em bovinos Bruna Mion, Natália Ávila de Castro, Joao Alveiro Alvarado Rincón, Patricia Carvalho Gindri, Jorgea Pradiee, Lígia Margareth Cantarelli Pegoraro, Augusto Schneider	159

Citologia vaginal como ferramenta para predizer o momento da ovulação em caprinos e ovinos Viviane Lopes Brair, Ana Paula Pereira Schmidt, Lucas Machado Figueira, Gabriel Brun Vergani, Yara Pereira Diógenes, Paulo Sergio Cerqueira Rangel, Joanna Maria Gonçalves de Souza-Fabjan, Jeferson Ferreira da Fonseca	160
Avaliação do tipo de morte celular das células lúteas caninas no diestro cíclico e gestacional Ana Augusta Pagnano Derussi, Ana Carolina Tancredo das Neves, Mateus J.Sudano, Maria Denise Lopes	161
Efeito da restrição calórica e da rapamicina no ganho de peso, sensibilidade à insulina e estresse oxidativo ovariano em camundongos Driele Garcia, Tatiana Saccon, Kelvin Andrade, Elida Rattmann, Larissa Saraiva, Maiara Soares, Francielli Stefanello, Carlos Barros, Augusto Schneider	162
Presença do conceito bovino modula a expressão de genes estimulados por interferon-tau em células polimorfonucleares do sangue periférico no início da gestação Gabriela Dalmaso de Melo, Cecilia Constantino Rocha, Igor Garcia Motta, Gilmar Arantes Ataíde Junior, Bruna Lafuente, Camila Cupper Vieira, Danilo Zago Bisinotto, Juliano Coelho da Silveira, Manoel Francisco de Sá Filho, Angela Maria Gonella-Díaza, Guilherme Pugliesi	163
Indução da ciclicidade em receptoras de embriões equinos Ana Carolina Fanhani de Arruda Botelho, Maria Fernanda Zamai Zamai, Danieli Aparecida Bobbo Moreski, Antonio Hugo Bezerra Colombo, Isabele Picada Emanuelli, Marcia Aparecida Andreazzi, Fabio Luiz Bim Cavalieri	164
Avaliação transcricional de embriões bovinos submetidos a tratamento com moduladores da Acil-CoA sintetase de cadeia longa Roniele Santana Valente, Tamie Guibu Almeida, Mayra Fernanda Alves, Patricia Kubo Fontes, Fernanda da Cruz Landim e Alvarenga, Andrea Cristina Basso, Marcelo Fábio Gouveia Nogueira, Mateus José Sudano	165
O conteúdo de miRNAs de vesículas extracelulares pequenas é modificado de acordo com o nível de progesterona de folículos ovarianos em bovinos Ana Clara Faquinelí Cavalcante Mendes de Ávila, Gabriella Mamede Andrade, Alessandra Bridi, Maite del Collado, Felipe Percin, Flávio Vieira Meirelles, Juliano Coelho da Silveira	166
Contagem de folículos antrais durante a gestação de vacas da raça Holandês Ricardo Guella Dröher, Fábio Morotti, Amanda Fonseca Zangirolamo, Marcelo Marcondes Seneda	167
Tratamento de progesterona intravaginal suprime o crescimento folicular em um protocolo hormonal para sincronização do estro e da ovulação em tempo fixo em éguas	168

Ana Paula Reway, Vinícius Maia Ribeiro de Godoy, João Vitor Cabianca Cabral de Vasconcellos, Marcela de Araújo Davoli Graciola, Ed Hoffmann Madureira, Luciano Andrade Silva	
CLONAGEM, TRANSGÊNESE E CÉLULAS-TRONCO	
Terapia com células tronco mesenquimais alogênicas em cão com cinomose em fase aguda María Laura Lara Arias, Fernanda da Cruz Landim, Jean Guilherme Fernandes Joaquim, Joshua Benjamin Andrés Polanco Stuart, Maira Belli	169
Efeito de longos períodos de resfriamento da pele de orelha à 5°C sobre o isolamento e cultivo de fibroblastos bovinos Jessica Maresch de Araujo, Rodrigo Arruda de Oliveira, Heidi Christina Bessler Cumpa, Carlos Frederico Martins	170
Viabilidade de células-tronco mesenquimais caninas mantidas em temperatura ambiente por 50 horas Andrielle Cunha, Andrei Fidelis, Margot Dode, Hilana Brunel, Patricia Malard	171
Caracterização de células tronco mesenquimais do cordão umbilical de bubalinos (<i>Bubalus bubalis</i>) da baixada maranhense Victória Torquato Fernandes Dos Santos, Luís Roberto B. Pires, Higor Da Silva Ferreira, Renata M. De Oliveira, Breno G. G. Fernandes De Souza, Ricardo De Macedo Chaves, Adriana Raquel De Almeida Anunciação, Jéssica Borghes, Lara Carolina Mário, Maria Ângelo Miglino, Ana Lúcia Abreu Silva, Felipe De Jesus Moraes Junior	172
Caracterização de células tronco mesenquimais da medula óssea de bubalinos (<i>Bubalus bubalis</i>) Luís Roberto B. Pires, Victória Torquato F. Dos Santos, Higor Da Silva Ferreira, Renata M. De Oliveira, Breno G. G. Fernandes De Souza, Ricardo De Macedo Chaves, Adriana Raquel De Almeida Anunciação, Jéssica Borghes, Lara Carolina Mário, Maria Angélica Miglino, Ana Lúcia Abreu Silva, Felipe De Jesus Moraes Junior	173
Efeito da aplicação de células-tronco na produção oocitária e embrionária de fêmeas bovinas Júlia Gleyci Soares, Guilherme Fazan Rossi, Bernardo Marcozzi Bayeux, Gabrielle Ferrante Alves Moraes, Flávia Morag Elliff, Yeda Fumie Watanabe, Fabio Morato Monteiro, Naiara Nantes Rodrigues, Jose Nelio de Sousa Sales, Marcelo F. G. Nogueira, Pietro Sampaio Baruselli, Edson Guimarães Lo Turco	174
BIOTECNOLOGIAS DE SUPORTE: CRIOPRESERVAÇÃO E CRIOBIOLOGIA, DIAGNÓSTICO POR IMAGENS, BIOLOGIA MOLECULAR E “ÔMICAS”	
Características morfofuncionais do corpo lúteo e diagnóstico precoce de gestação em ovelhas	175

Jairo Pereira Neves, Leandro Becaete Rizzoni, Carlos Antônio de Carvalho Fernandes, Miller Pereira Palhão, José Antônio Dias Garcia, Maria Auxiliadora da Silveira e Pereira Neves	
Efeito do estresse térmico na maturação de oócitos bovinos, na produção <i>in vitro</i> de embriões e expressão de genes relacionados à resposta ao estresse Ana Caroline Bini de Lima, Mirela Brochado Souza Cáceres, Aldair Félix da Silva, Janaina Menegazzo Gheller, Geancarlos Carraro da Silva, Christopher Junior Tavares Cardoso, Daniela Moraes Pereira, Erikliis Nogueira, Wilian Aparecido Leite da Silva, Silvio da Silva Oliveira, Giovanna de Lima Ortiz, Fabiana de Andrade Melo Sterza	176
Eficácia da Ultrassonografia Doppler para detecção de não prenhez em vacas de corte receptoras submetidas a duas transferências de embriões em 24 dias Gilmar Arantes Ataíde Junior, Carlos Augusto Gontijo Pellegrino, Izaias Claro Júnior, Mauro Meneghetti, João Gabriel de Grázia, Antônio Carlos Nogueira de Góis, Fabrício Gonçalves, Fabio Torres, José Luiz Moraes Vasconcelos, Guilherme Pugliesi	177
Os valores Dopplervelocimétricos da artéria testicular de cães podem mudar de acordo com a região aferida? Luiz Guilherme Corsi Trautwein, Anne Kemmer Souza, Ana Beatriz Marques de Almeida, Maria Isabel Mello Martins	178
Dodecil Sulfato de Sódio na criopreservação de sêmen ovino Arnaldo Diniz Vieira, Nathália Wacholz Knabah, Rafael Mielke Barbosa, Betina Capeletti, Jenniffer Hauschildt Dias, Karina Lemos Goularte, Thomaz Lucia Júnior, Rafael Gianella Mondadori	179
Análise de Hub Genes da criotolerância embrionária em <i>Bos taurus</i> Fernanda A Pereira, Diana P Caetano, Franciele Lanzarini, Sônia C.S. Andrade, Mateus J Sudano	180
Expressão de PTGS2 nas células do cumulus é um potencial biomarcador da qualidade oocitária independentemente das variáveis clínicas das pacientes Luiza da Silva Rodrigues, Lucia von Mengden Meirelles, Marco Antonio De Bastiani, Lucas Kich Grun, Leticia Schmidt Arruda, Carlos Alberto Link, Milvo Antonio Pozzer, Florencia Maria Barbé-Tuana, Fabio Klamt	181
Efeito do sexo na expressão gênica de embriões bovinos produzidos <i>in vitro</i> vitrificados por cryotop Ligiane de Oliveira Leme, José Oliveira Carvalho Neto, Margot Alves Nunes Dode	182
Ultrassonografia Modo-B de corpo lúteo como ferramenta de diagnóstico precoce de gestação em cabras Isabel Oliveira Cosentino, Mario Felipe Alvarez Balara, Felipe Seabra Cardoso Leal, Vanessa Moreira Barbosa dos Santos, Joanna Maria Gonçalves Souza-Fabjan, Eduardo Kenji Nunes Arashiro, Felipe Zandonadi Brandão	183

Impacto da implementação de tecnologias de criopreservação sobre o destino dos embriões bovinos ao longo do tempo em uma empresa comercial Gabriela Sabine Lamberti Escobar, Samantha Bielert do Nascimento, Fernanda Said Aidar, Luísa Anastácia Santos de Oliveira, Bruno Dorneles Carrijo da Cunha, Ivamario Nahas Duarte, Rodrigo Camponogara Bohrer, Andrea Cristina Basso	184
Influência do peptídeo natriurético tipo B (NPPB) no conteúdo lipídico de oócitos bovinos maturados in vitro. Letícia Schefer, Daniela Martins Paschoal, Hugo Fernandes, Fernanda Cavallari de Castro, Kátia Regina Lancellotti Schwarz, Cláudia Lima Verde Leal	185
Como a hemodinâmica uterina responde ao protocolo de sincronização de curta duração em ovelhas? Renato Travassos Beltrame, Nilson Nunes Morais Junior, Joao Vitor Pagoto Careta, Thalles Alves Dutra Lima, Ariadna Patricia Ribeiro, Ricardo Lopes Dias da Costa	186
Associações de polimorfismos na região promotora do gene da paraoxonase 1 (PON1) com o desempenho reprodutivo, saúde e produção de leite de vacas da raça Holandês Pedro Augusto Silva Silveira, Walter Ronald Butler, Sara LaCount, Thomas R. Overton, Carlos Castilho Barros, Augusto Schneider	187

1) IATF/TETF/IA

Uso de Acetato de Melengestrol em Blocos Nutricionais para novilhas a pasto

Gisele Zoccal Mingoti ^{1,2}, Thiago Vieira Neves ^{2,1}, Juliana Corrêa Borges Silva ³, Luiz Orcirio Fialho Oliveira ³, Eriklis Nogueira ³

¹ Unesp, FMVA - Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba, Unesp (Rua Clóvis Pestana, 793, 16050-680, Araçatuba, SP, Brasil), ² Unesp, FCAV - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Unesp (Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane s/n 14884-900 - Jaboticabal, SP, Brasil), ³ EMBRAPA Pantanal - EMBRAPA Pantanal (Rua 21 de Setembro, 1.880, 79320-900, Corumbá/MS, Brasil)

O presente trabalho teve como objetivo comparar o fornecimento de Acetato de Melengestrol (MGA[®], Zoetis, Brasil) adicionado em blocos nutricionais (Tecnoblock[®]) para novilhas Nelore em manejo extensivo, sobre a taxa de cio e prenhez em monta natural (MN) e IA. Os experimentos foram realizados na Fazenda São Bento, no Pantanal de Corumbá/MS. No experimento 1, 413 novilhas com ECC 4,2±0,7 (1-9), 22 a 24 meses, 302 kg em média e sem ciclicidade prévia (ausência de CL em duas avaliações com intervalo de 11 dias) foram divididas em: T1- Controle (fornecimento de blocos nutricionais proteicos-energéticos durante todo o experimento); T2- BlocoMGA (2,28g/cab/dia de MGA por 12 dias, adicionado ao mesmo bloco do T1); T3- ProteicoMGA (2,28g/cab/dia de MGA por 12 dias, adicionado a suplemento farelado); T4- Implante P4 [9 dias com dispositivo intravaginal (Primer[®], Agener União, Brasil) de 2º uso + 2 mg IM de BE (Gonadiol, Zoetis, Brasil) no dia da inserção do Primer]. Após os tratamentos, os animais foram acasalados com touros (1:33) em estação de monta (EM) de 118 dias. No experimento 2, 301 novilhas com ECC 3,8±0,4 foram divididas: T1-Controle; T2- BlocoMGA por 12 dias; T3-BlocoMGA por 12 dias + aplicação de 0,5 mg ECP (2 dias após o fim do fornecimento de MGA). Ao final, as novilhas foram inseminadas após observação de cio por 10 dias e depois acasaladas com touros em EM de 90 dias. A avaliação de ciclicidade, presença de CL e diagnóstico de gestação (DG) foram realizadas com ultrassom (DP 2200 VET, Mindray, China). A análise estatística foi realizada pelo PROC GLIMMIX do SAS seguido de Teste Tukey (P<0,05). No exp 1, o diâmetro do folículo dominante no último dia dos tratamentos foi semelhante (P>0,05) para T2 (11,2mm), T3 (11,8mm) e T4 (11,2mm), mas todos foram maiores (P<0,0001) do que T1 (9,7mm). A taxa de cio diária foi similar (P>0,05) entre os grupos T1 (1,92%) T2 (2,94%) e T4 (2,77%), que foram maiores (P=0,032) do que T3 (1,02%). A prenhez aos 60 dias de EM foi maior (P=0,008) para T2 (57,84%) em comparação aos grupos T1 (40,8%) e T4 (36,4%), porém todos esses grupos foram semelhantes (P>0,05) a T3 (51,0%). Não houve diferença entre os grupos (P=0,344) no DG final (T1-70,9%; T2-75,5%; T3-72,9%; e T4-64,5%). No experimento 2, a taxa de cio em 10 dias de observação foi maior (P<0,0001) no T2 (45,5%) e T3 (57,8%) em relação ao T1 (22,7%). Não houve diferença entre os grupos (P=0,86) com relação a prenhez pós IA (T1-36,4%; T2-33,3%; T3-37,3%). A prenhez aos 60 dias de MN do grupo T1 (56,6%) foi menor (P=0,04) do que T3 (74,4%), mas ambos não diferiram (P>0,05) de T2 (67,7%). A prenhez ao final da EM foi similar (P=0,757) entre os tratamentos (T1-84,7%, T2-89,1%, T3-88,2%). O uso de MGA em blocos nutricionais foi satisfatório em novilhas por

proporcionar maiores taxas de prenhez ao início da EM, além de facilitar o manejo no fornecimento de suplemento e no curral, representando nova alternativa de manejo reprodutivo nas condições de criação extensiva.

Concentração sérica de P4 no momento da IATF em fêmeas Nelore tratadas com 50 vs. 100mg de P4 injetável (curta e longa ação) no protocolo de ressincronização superprecoce

Bruna Martins Guerreiro ¹, Bruno Gonzales de Freitas ¹, Marcos Henrique Alcantara Colli ², Romulo Germano Rezende ², Luciano Penteadado ², Walter Antonio Gonçalves Junior ², Pietro Sampaio Baruselli ²

¹ Ourofino - Ourofino Saúde Animal (Rod. Anhanguera, KM 298), ² VRA FMVZ - USP - Departamento de Reprodução da FMVZ - USP (Av. Prof. Orlando de Paiva Marques, 85)

A substituição do E2 por P4 injetável, no início do protocolo de ressincronização superprecoce, pode ser uma alternativa para a indução da emergência de uma nova onda folicular no D14 (Rezende et al., 2016 SBTE). O objetivo do estudo foi avaliar o efeito da P4 injetável de diferentes ações em diferentes doses, na concentração sérica de P4 no D24 (momento da IATF) e no diâmetro do folículo dominante em um protocolo de ressincronização super precoce em fêmeas Nelore. Para isso, foram utilizadas 234 fêmeas Nelore, as quais foram submetidas a uma primeira sincronização. Embora não tenham sido inseminadas, o momento esperado para a primeira IATF (48h após a remoção do dispositivo), foi considerado como D0. No D14, as fêmeas receberam um dispositivo intravaginal impregnado com 1g de P4 (Sincrogest®, Ouro fino, Brasil) e foram distribuídas em quatro grupos: G-A50, 50 mg IM de P4 injetável de curta ação (Afisterone®, Hertape, Brasil) n = 67; G-A100, 100 mg IM de P4 injetável de curta ação (Afisterone) n = 55; G-P4LA50, 50 mg IM de P4 injetável de longa ação (Sincrogest injetável®, Ouro fino) n = 51; G-P4LA100, 100 mg IM de P4 injetável de longa ação (Sincrogest) n = 61. Oito dias após a distribuição (D22), foi realizado a retirada do dispositivo e ultrassonografia (DP2200®, Mindray, China) para mensuração do maior folículo presente nos ovários (FDD22). Simultaneamente receberam a continuação do protocolo para IATF: 0.530 mg IM de Cloprostenol sódico (Sincrocio®, Ouro fino, Brasil), 300 UI de eCG (SincroeCG®, Ouro fino, Brasil) e 0,5 mg de Cipionato de Estradiol (SincroCp®, Ouro fino, Brasil). Após 48 horas da remoção do dispositivo (D24) os animais passaram por uma coleta de sangue para dosagem de P4 sérica e US dos ovários para mensuração do maior folículo (FDD24). Os dados obtidos foram analisados pelo procedimento GLIMIX do SAS®. Não houve diferença no FDD22: G-A50, 9.85 ± 3.04mm, n = 45; G-A100, 10.31 ± 2.79mm, n = 37; G-P4LA50, 10.85 ± 2.76mm, n = 39; G-P4LA100, 10.95 ± 2.83mm, n = 40, P = 0,29 e no FDD24: G-A50, 11.36 ± 2.76mm, n = 43; G-A100, 12.20 ± 3.22mm, n = 36; G-P4LA50, 11.96 ± 2.32mm, n = 35; G-P4LA100, 12.65 ± 3.11mm, n = 40, P = 0,24. Também não houve diferença na concentração séria de P4 no D24 de acordo com dose e fármaco: G-A50, 0.60 ± 1.11ng/mL, n = 67; G-A100, 0.52 ± 0.71 ng/mL, n = 51; G-P4LA50, 0.43 ± 0.54 ng/mL, n = 55; G-P4LA100, 0.41 ± 0.63 ng/mL, n = 61, P = 0,77. Não houve interação fármaco*dose, P = 0,74 e diferença de acordo com o fármaco (G-A50+ G-A100 vs G-P4LA50+ G-P4LA100) Afisterone: 0.56 ± 0.96 ng/mL, n = 118; Sincrogest: 0.42 ±

0.59 ng/mL, n = 116, P = 0,34. Ambos os fármacos e doses utilizadas apresentaram semelhante concentrações de P4 no D24 e diâmetro do FD nos D22 e D24, demonstrando a possibilidade da utilização de ambas para administração no início do protocolo de resincronização superprecoce.

Efeito da dose de gonadotrofina coriônica equina (eCG) na taxa de prenhez aos 30 e 60 dias em novilhas Nelore (*Bos indicus*) submetidas à IATF

Augusto Rodrigues Felisbino Neto ¹, Denis Fernando Cirino Souza ², Rafael Augusto Campos ², Thayna Gabriela Fernandes Alves ², Michele Ricieri Bastos ³, Bruno Gonzalez Freitas ³, Marcos Henrique Alcantara colli ¹, Flavia Morag Elliff ¹, Rodolfo Daniel Mingotti ¹, Pietro Sampaio Baruselli ¹

¹ VRA FMVZ/USP - Departamento de Reprodução Animal FMVZ/USP (Avenida professor Orlando Marques de Paiva nº87), ² Ferty+ - Ferty+ Reprodução Animal (Rua Goias, nº1240), ³ Ourofino - Ourofino Saúde Animal (Rodovia Anhanguera km 298 SP 330)

Alternativas para aumentar a taxa de ovulação e prenhez em novilhas são desejáveis em protocolos de inseminação artificial em tempo fixo (IATF). O presente estudo objetivou avaliar o efeito de diferentes doses (0UI, 200UI ou 300UI) de gonadotrofina coriônica equina (eCG) no dia 8 do protocolo de IATF. Foram utilizadas 398 novilhas Nelore *Bos indicus*, idade de 24,0 ± 1,12 meses e escore de condição corporal (ECC) 2,89 ± 0,23 de 3 fazendas em Mato Grosso. As novilhas foram pré-sincronizadas 24 dias antes do início do protocolo, com um dispositivo intravaginal de P4 (Sincrogest®, Ourofino Saúde Animal, Cravinhos-SP, Brasil) de 4º uso, sendo mantido durante 12 dias. Na remoção do dispositivo, receberam 0,5mg IM de CE (SincroCp®, Ourofino). Após 12 dias da remoção, iniciou-se o protocolo de IATF, administrando 2mg IM de BE (Sincrodiol®, Ourofino), 0,53mg IM de cloprostenol sódico (PGF2 α ; Sincrocio®, Ourofino) e um dispositivo intravaginal de P4 (Sincrogest®, Ourofino) de 2º uso. Junto com a remoção do dispositivo (D8), administrou-se 0,5mg IM de CE (SincroCp®, Ourofino) e 0,53mg IM de cloprostenol sódico (PGF2 α ; Sincrocio®, Ourofino). Nesse momento as novilhas foram homoganeamente distribuídas recebendo via IM os tratamentos: G1-0UI (n=141), G2-200UI (n=132) e G3-300UI (n=125), de eCG (Sincroecg® Ourofino). A IATF foi realizada 48h após remoção do dispositivo em todos grupos. Além disso, avaliações com ultrassom em todos animais (n=398) foram realizadas 10 dias após IATF para aferir taxa de ovulação, diâmetro e quantidade de corpos lúteos (CL), com 30 dias para avaliar taxa de prenhez, e com 60 dias para perda gestacional. Análises estatísticas foram realizadas pelo método PROC GLIMMIX do SAS® (v. 9.4). Os grupos G1 e G2 diferiram estatisticamente (P<0,05) para taxa de ovulação total ao final do protocolo (79,43%^b e 90,15%^a), taxa de ovulação nos animais sem corpo lúteo no início do protocolo (51,02%^b e 84,75%^a), diâmetro do corpo lúteo 10 dias após a IATF (15,32^b ± 0,25 e 16,63^a ± 0,23) e taxa de prenhez com 30 (32,62%^b e 42,42%^a) e 60 dias após a IATF (29,08%^b e 40,91%^a) respectivamente. Os grupos G1 e G3, diferiram entre si (P<0,05) e suas análises foram similares as citadas acima com G1 e G2. Os grupos G2 e G3 não diferiram em todas variáveis analisadas (P>0,05). Nos animais com corpo lúteo no início do protocolo de IATF, a taxa de ovulação 10 dias após a IATF, a taxa de ovulações duplas, a taxa de prenhez aos 30 e 60 dias após IATF, e a taxa de perdas gestacionais não diferiram entre todos os grupos,

mostrando que esses animais não precisam de eCG. Pelo presente estudo, verificou-se que é possível reduzir a dose de eCG para 200UI em programas de IATF para novilhas nelore (*Bos indicus*), sem causar perdas na taxa de ovulação, no diâmetro do corpo lúteo e na taxa de prenhez. Não foram verificadas alterações na quantidade de ovulações duplas e de perdas gestacionais.

Agradecimentos: Ferty+ e Ourofino Saúde Animal.

Efeito de diferentes doses de eCG (300UI vs 400UI) sobre a taxa de prenhez em primíparas nelore (*Bos indicus*) submetidas à IATF

Laís Ângelo de Abreu ¹, Bruna Lima Chechin Catussi ¹, Felipe Barbosa dos Santos ², Marcos Henrique Alcantara Colli ¹, Rodolfo Daniel Mingoti ¹, Luciano Penteadado ², Mário Ribeiro Júnior ³, Rubens Cesar Pinto da Silva ³, Márcio de Oliveira Marques ³, Pietro Sampaio Baruselli ¹

¹ USP - Universidade de São Paulo (Departamento de Reprodução Animal da Universidade de São Paulo VRA-FMVZ, USP, São Paulo, SP), ² Firmasa - Firmasa Tecnologia Para Pecuária Ltda. (Londrina, Paraná, Brasil), ³ GeraEmbryo - GeraEmbryo Reprodução Bovina (Cornélio Procópio, Paraná, Brasil)

Objetivou-se avaliar o uso de diferentes doses de eCG sobre a taxa de concepção de primíparas submetidas à IATF. Foram usadas 439 fêmeas da raça Nelore (*Bos indicus*), provenientes de duas propriedades comerciais, situadas no Estado do Mato Grosso do Sul - Brasil; [Fazenda A (n=135) e Fazenda B (n=304)]. Todas as vacas receberam o mesmo protocolo de sincronização de emergência de onda folicular, luteólise e ovulação, diferindo apenas na dosagem de eCG. Em dia aleatório do ciclo estral (D0), as vacas receberam um dispositivo intravaginal com 0,6g de P4 (Fertilcare 600[®], MSD) e 1mg de benzoato de estradiol *i.m* (Fertilcare Sincronização[®], MSD). No D8, o dispositivo foi removido e administrou-se 0,265mg de Cloprostenol Sódico (Ciosin[®], MSD) e 0,5mg de cipionato de estradiol (Fertilcare Ovulação[®], MSD), ambos via *i.m*. As primíparas foram alocadas homogeneamente pelo ECC (avaliação de 1 a 5) em dois grupos: G-300 [300 UI de eCG (Folligon[®], MSD); n= 232; ECC=2.89±0.02]; G-400 [400 UI de eCG (Folligon[®], MSD); n=207; ECC=2.91±0.02]. A IATF foi realizada 48h após a retirada do dispositivo e o diagnóstico de gestação foi feito 30 dias após a IATF através de ultrassonografia (Aloka SSD 500, Tóquio, Japão). Os dados obtidos foram analisados por regressão logística através do PROC GLIMMIX do SAS[®]. As vacas do Grupos G-300 e G-400 tiveram médias similares de ECC (2,89±0,02 vs 2,91±0,02; P=0,37), respectivamente, evidenciando a homogeneidade pré-tratamento. Houve interação grupo*fazenda (P=0,02), onde na fazenda A o grupo G-400 teve maior taxa de prenhez [G-300= 33,8% (27/80); G-400= 45,5% (25/55)], entretanto, na fazenda B o G-300 apresentou maior taxa [G-300= 68,3% (97/152); G-400= 54,6% (83/152)]. Não foi verificada interação ECC*Grupo (P=0,77) para taxa de prenhez. Verificou-se que na fazenda com resultados inferiores, a dose de 400UI de eCG aumentou a taxa de prenhez à IATF em primíparas Nelore. Conclui-se que a dose de eCG recomendada para aumentar a taxa de concepção em primíparas Nelore é variável de acordo com a fazenda.

Agradecimentos: MSD, HoRa Agronegócio e Empresa Marinho de Agropecuária.

Eficiência de diferentes protocolos para IATF conforme tratamento com GnRH no início do protocolo e com dose dupla de PGF-2 α na retirada do dispositivo de P4

*Juan Sepúlveda¹; Evandro D.F. de Souza²; Mariana Pallú Viziack³; Flavia Morag Elliff³;
Rodolfo Daniel Mingoti³; Pietro Sampaio Baruselli³.*

¹Bovinos Virtual – México; ²Ourofino Saúde Animal – Cravinhos-SP-Brasil; ³Departamento de Reprodução Animal – FMVZ USP – São Paulo-SP-Brasil

O objetivo deste estudo foi avaliar os tratamentos com GnRH no início do protocolo de IATF e com dose dupla de PGF-2 α na retirada do dispositivo de P4 sobre a taxa de concepção em vacas da raça holandês (*Bos taurus*). O estudo foi desenvolvido pela empresa *Bovinos Virtual* no México. O estudo utilizou o delineamento inteiramente casualizado em arranjo fatorial 2x2. Um total de 691 vacas foram submetidas aos grupos experimentais: G1 – controle (n=173); G2 – aplicação *i.m.* de 0,01mg de GnRH (2,5mL de Sincroforte®, Ourofino, Brasil) no D-10 (n=199); G3 – aplicação *i.m.* de 1,052 mg de cloprostenol sódico (PGF-2 α ; 4mL de Sincrocio®, Ourofino, Brasil) no D-2 (n=166) e G4 – aplicação *i.m.* de 0,01mg de GnRH no D-10 e 1,052 mg de PGF-2 α no D-2 (n=153). O protocolo de IATF consistiu na aplicação *i.m.* de 2mg de BE no D-10 (2mL de Sincrodiol®, Ourofino, Brasil) e na inserção de um dispositivo intravaginal de 1g de P4 (Sincrogest®, Ourofino, Brasil); no D-2 foi retirado o dispositivo e foi feita a aplicação *i.m.* de 0,526mg de PGF-2 α (2mL de Sincrocio®, Ourofino, Brasil) e de 1mg de CE (1mL de SincroCP®, Ourofino, Brasil); no D0 foi realizada a IATF. Foram realizados exames ultrassonográficos no D-3 para verificar a presença de corpos lúteos e nos D30 e D60 para a determinação da taxa de prenhez e de perda gestacional (entre 30 e 60 dias após a IA). Foram coletadas informações de época de ano, temperatura e umidade para cálculos de índice de temperatura e umidade (ITH), tendo como base a média histórica da região. Os dados foram analisados pelos PROC GLIMMIX do SAS. Não foi observado efeito de touro (P=0,18). Não foi observado interação GnRH*PGF-2 α (P=0,57), efeito de GnRH no D-10 (P=0,29) e efeito de dose dupla de PGF-2 α no D-2 (P=0,77) sobre a taxa de prenhez no D30. Não houve efeito na perda gestacional entre D30 e D60 (P=0,97). Houve efeito de GnRH no D-10 sobre a taxa de corpo lúteo no D-3 [BE=65,5%(207/316) vs. BE+GnRH=79,1%(261/330); P<0,001]. Não houve efeito do estresse calórico (ITH) no momento da IATF sobre a taxa de prenhez no D30 (P=0,39). Verificou-se tendência para a interação GnRH*ITH sobre a taxa de prenhez no D30 [BE=33,3%(51/153) vs. BE+GnRH=43,4%(76/175); P=0,09]. Em conclusão, os tratamentos com GnRH no início do protocolo e com dose dupla de PGF-2 α na retirada do dispositivo de P4 não aumentaram a taxa de concepção em vacas da raça holandês em lactação. No entanto, em períodos de estresse calórico houve uma tendência em melhorar a taxa de prenhez quando aplicado 0,01mg de GnRH *i.m.* no início do protocolo de IATF.

Agradecimentos: OUROFINO SAÚDE ANIMAL (Brasil) e BOVINOS VIRTUAL (México).

Nova e segura estratégia de ressincronização usando estradiol aos 14 dias pós-IATF em novilhas de corte

Igor Garcia Motta ¹, Cecília Constantino Rocha ¹, Danilo Zago Bissinoto ^{2,1}, Gilmar Arantes Ataíde Junior ¹, Gabriela Gabriela Dalmaso de Melo ¹, Bruna Bruna de Souza Lafuente ¹, Michele Ricieri Bastos ³, Kleber Kleber Menegon Lemes ⁴, Ed Hoffmann Madureira ¹, Guilherme Pugliesi ¹

¹ USP-FMVZ - Universidade de São Paulo - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (Pirassununga, SP, Brasil), ² FZEA - Faculdade de Engenharia de Alimentos e Zootecnia (Pirassununga, SP, Brasil), ³ Ourofino - Ourofino Saúde Animal (Cravinhos, SP, Brasil), ⁴ Boehringer-Ingelheim - Boehringer-Ingelheim (Campinas, SP, Brasil)

Objetivou-se avaliar o uso do benzoato de estradiol (BE) ou 17 β -estradiol (E2) associado a progesterona (P4) para ressincronização aos 14 dias pós-IATF e seu efeito na manutenção da gestação em novilhas de corte. No Exp1, novilhas Nelore de 16-18 meses foram submetidas à IATF (D0). No D14, os animais receberam um dispositivo intravaginal de P4 (1g, Sincrogest, Ourofino Saúde Animal, Cravinhos, SP) e foram alocados em 3 grupos: controle (sem tratamento; n=17); BE (1mg de BE, Sincrodiol, Ourofino; n=17); e E2+P4 (1mg E2 + 9mg P4, Betaproginn, Boehringer-Ingelheim, Campinas, SP; n=18). Avaliações ultrassonográficas (modo B e Doppler) foram realizadas diariamente do D14 ao D22 para mensuração dos folículos, área e perfusão sanguínea do corpo lúteo. No D22, os dispositivos foram removidos e o diagnóstico de gestação (DG) realizado pela detecção da luteólise conforme Pugliesi et al. (Biol Reprod, 4:1-12, 2014). As novilhas não-gestantes (NG) receberam 1mg de ciproionato de E2 (SincroCP, Ourofino), 500 μ g de cloprostenol sódico (Sincrocio, Ourofino) e 200UI de eCG (SincroeCG, Ourofino) no D22, e uma segunda IATF no D24. No Exp2, 919 novilhas Nelore e NeloreXAngus foram ressincronizadas conforme o Exp1. A presença do embrião viável foi avaliada no D28 (Exp1) e D37-67 (Exp2) após a primeira IATF, e 43-47 dias após a segunda IATF (Exp2). Os dados foram avaliados por ANOVA (PROC MIXED), teste Exato de Fisher ou regressão logística (PROC GLIMMIX) do SAS. No Exp1, a emergência folicular (dias) e o diâmetro (mm) do folículo dominante (FD) no D22 nas novilhas NG não diferiu ($P>0,1$) entre os grupos controle (2,8 \pm 0,6 e 11,9 \pm 0,9), BE (4 \pm 0,5 e 10,9 \pm 0,6) e E2+P4 (2,4 \pm 0,6 e 12,3 \pm 0,5). A emergência folicular no grupo BE ocorreu apenas nos dias 3 a 5 após o tratamento, enquanto nos demais foi dispersa. A luteólise ocorreu mais cedo ($P=0,03$) nos grupos BE (18,6 \pm 0,5 dias) e E2+P4 (19,1 \pm 0,5 dias) do que no controle (20,6 \pm 0,4 dias). A taxa de prenhez (TP) não diferiu ($P>0,1$) entre os grupos controle, BE e E2+P4 no DG22 (67,3%) e D28 (63,4%). No Exp2, o diâmetro (mm) do FD no D22 foi similar entre os grupos controle (11,9 \pm 1,8), BE (11,2 \pm 1,8) e E2+P4 (11,5 \pm 1,8). No Exp2, a TP não diferiu ($P>0,1$) entre os grupos controle, BE e E2+P4 no DG22 (53,2% [165/310], 53,6% [163/304] e 48,8% [149/305]) e D37-67 pós-IATF (44,3% [98/221], 43,2% [96/222], e 44,9% [97/216], respectivamente). A perda gestacional foi similar ($P>0,1$) nos grupos controle (18,3% [22/120]), BE (17,2% [20/116]), e E2+P4 (16,4% [19/116]). A TP na ressincronização foi 39,8% (49/123) no controle, 47,8% (55/115) no BE e 44,5% (57/128) no E2+P4 ($P>0,1$). Conclui-se que a administração de 1 mg de BE ou 1 mg de E2 + 9 mg de P4 aos 14 dias pós-IATF antecipa a luteólise nas novilhas NG mas não compromete a gestação, permitindo uma nova e segura opção para ressincronização super-precoce em novilhas de corte.

Agradecimentos: FAPESP (2015/10606-9,2017/18613-0); Ourofino Saúde Animal; Boehringer-Ingelheim; Geneplan; JA Reprogen.

Uso de hCG, eCG ou p-FSH na indução de estro de cabras e seus efeitos na dinâmica luteal e taxa de concepção

Juliane Teramachi Trevizan¹, Ricardo Perecin Nociti¹, Ana Carolina Pedrosa², Viviane Lopes Brair², Isabel Cosentino Oliveira³, Mario Felipe Alvarez Balara³, Ana Lúcia Rosa Silva Maia³, Jader Forquim Prastes⁴, Felipe Zandonadi Brandão³, Jeferson Ferreira da Fonseca⁴, Maria Emilia Oliveira¹

¹ Unesp/FCAV - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, 14884-900, Jaboticabal/SP, Brasil), ² UNIRP - Centro Universitário de Rio Preto (São José do Rio Preto, São Paulo, 15025-400, Brasil), ³ UFF - Universidade Federal Fluminense, Faculdade de Medicina Veterinária (Av. Vital Brasil Filho, 64, 24230-340, Niterói, RJ, Brasil), ⁴ EMPRAPA - Centro de Pesquisa Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Centro de Pesquisa Brasileira de Caprinos e Ovinos (Estrada Sobral, Groíras, km 04, 62010-970, Sobral, CE, Brasil)

O presente estudo testou a hipótese de que a hCG e FSH estimulam o desenvolvimento folicular e consequentemente de corpos lúteos, de maneira equivalente aos induzidos pela eCG em fêmeas caprinas. Oitenta e cinco cabras Toggenburg, no período de transição sazonal (dezembro, 21°S), foram submetidas a protocolo de indução/sincronização de estro de curta duração com esponja impregnada por acetato de medroxiprogesterona (60 mg MAP, 6 dias). Vinte e quatro horas antes da remoção da esponja, as fêmeas foram divididas em grupos de acordo com a gonadotrofina utilizada (eCG, 200 UI, n=32; hCG, 300UI, n=25; ou pFSH, 30 UI, n=28). Concomitantemente, todas as cabras receberam ainda 22,5 µg de d – cloprostenol. A dinâmica luteal foi acompanhada por meio da ultrassonografia Modo-B e Doppler Colorido em dias específicos (Dias 5, 8, 13, 18, 23 e 28) após o início do estro (Dia 0). Foram determinados parâmetros biométricos (diâmetro, área e volume), de ecogenicidade e ecotextura do tecido luteal (valor numérico de pixels e desvio padrão de pixels), e de vascularização (número de pixels coloridos). O diagnóstico de gestação foi realizado no Dia 28. As variáveis paramétricas foram submetidas a análise de variância, utilizando o programa R, sendo as médias comparadas pelo teste de Kruskal Wallis. As variáveis binomiais foram comparadas pelo teste de qui-quadrado (P<0,05). A resposta ao estro foi similar entre os tratamentos (93,90%, P=0,87). O grupo hCG foi caracterizado pelo maior número de estruturas luteais (P<0,001), porém os corpos lúteos apresentaram diâmetro e volume médios menores quando comparado com os grupos eCG e FSH (P = 0,024, para ambos). Nenhuma diferença foi encontrada em relação a área luteal, heterogeneidade do tecido luteal e características de vascularização (P>0,05). Quando os parâmetros biométricos dos CLs foram somados, cabras tratadas com eCG e hCG apresentaram maiores valores de diâmetro e volume total, comparada com os animais que tratados com pFSH (P= 0,006 e 0,011, respectivamente). A área de tecido luteal (somatório) não diferiu entre grupos (P = 0,123). A ecogenicidade dos corpos lúteos foi influenciada pela interação dos tratamentos e dias da avaliação, quando se registrou variação ao longo dos dias de avaliação de maneira distinta entre os grupos. Para o

grupo hCG houve redução da ecogenicidade nos Dias 23 e 28 em relação aos dias anteriores, entretanto, diferença entre os grupos foi verificada apenas para o Dia 28 ($P = 0,023$). A taxa de concepção foi similar entre os grupos (65.73%, $P=0,25$). Em conclusão, o uso da hCG e pFSH em protocolo de indução/sincronização de estro em cabras induzem dinâmica luteal e taxa de concepção equivalentes, sendo alternativas de substituição da eCG.

Efeito do GnRH na taxa de prenhez de vacas *Bos indicus* com e sem expressão de estro submetidas à IATF

Miguel Pizzolante Bottino ¹, Raphael Evangelista Orlandi ¹, Eduardo Alves Lima ¹, Luiz Manoel Souza Simões ¹, Ana Paula Castro Santos ¹, Paulo Henrique Alves Marinho ¹, João Paulo Martinelli Massoneto ², Luiz Antônio Scandiuzzi Júnior ², José Nélio Sousa Sales ¹

¹ UFLA - Universidade Federal de Lavras (Campus universitário, Lavras - MG, 37200-000, Brasil), ² AAP - Agropecuária Água Preta S/A (Agropecuária Água Preta S/A, Cocalinho, MT, Brasil)

O objetivo foi avaliar o efeito do tratamento com GnRH na taxa de prenhez de vacas *Bos indicus* com e sem expressão de estro submetidas à IATF. Foram utilizadas 343 vacas lactantes entre 30 e 60 dias pós parto e escore de condição corporal (ECC) de $2,8 \pm 0,1$ (escala de 1 a 5). Em dia aleatório do ciclo estral (D0), as vacas receberam 2 mg de benzoato de estradiol (Sincrodiol®, Ourofino, Brasil) e um dispositivo intravaginal de progesterona de primeiro uso (Sincrogest®, Ourofino, Brasil). No D8, as vacas receberam 500µg de Cloprostenol (Sincrocio®, Ourofino, Brasil), 1mg de cipionato de estradiol (ECP®, Pfizer, Brasil), 300UI de eCG (Folligon®, MSD, Brasil) e o dispositivo de progesterona foi removido. No D10, as fêmeas foram distribuídas de acordo com a expressão de estro, em um de dois tratamentos (Grupo Controle e Grupo GnRH). Os animais do grupo GnRH receberam 100µg de gonadorelina (Cystorelin®, Boehringer Ingelheim, Brasil) e as vacas do grupo controle não receberam tratamento. As vacas foram inseminadas em tempo fixo 48 horas após a retirada do dispositivo de progesterona. A identificação do estro foi realizada com auxílio de bastão de cera com marcação na base da cauda. O diagnóstico de gestação foi realizado 35 dias após a IATF por exame ultrassonográfico. Os dados foram analisados pelo procedimento GLIMMIX do SAS. Não houve interação entre tratamento e expressão de estro ($P=0,26$) e efeito de tratamento [Grupo Controle 49,4% (85/172) e Grupo GnRH 46,1% (83/180); $P=0,82$] na taxa de prenhez. No entanto, vacas que expressaram estro durante o protocolo apresentaram maior taxa de prenhez [estro 56,0% (122/218) e sem estro 34,3% (46/134); $P=0,0002$]. Nas vacas que expressaram estro [Controle 59,6% (65/109) e GnRH 52,3% (57/109) $P=0,27$] ou não [Controle 31,8% (20/63) e GnRH 36,6% (26/71) $P=0,56$], o tratamento com GnRH não interferiu na taxa de prenhez à IATF. Conclui-se, que a administração de GnRH no momento da IATF não interfere na taxa de prenhez de vacas com ou sem expressão de estro durante o protocolo.

Apoio:Fapemig, Agropecuária Água Preta e Ouro Fino.

Eficiência do protocolo de indução de ciclicidade com manejo único (progesterona injetável de longa ação) em novilhas nelore (*Bos indicus*) pré-púberes

Denis Fernando Cirino de Souza ⁴, Bruno Gonzalez de Freitas ¹, Rafael Canela de Camargo ³, Rafael Anjos ⁴, Bruna Martins Guerreiro ¹, Michele Ricieri Bastos ¹, Rodolfo Daniel Mingoti ⁵, Laísa Garcia da Silva ⁵, Bruna Lima Chechin Catussi ⁵, Augusto Rodrigues Felisbino Neto ²

¹ Ourofino - Ourofino Saúde Animal (Rodovia Anhanguera, KM298, Cravinhos - SP), ² FAZEN - FAZEN Distribuição de produtos agropecuários (Rua das Rosas, n39, Barra do Garças), ³ RC - RC Multiplicação genética (Rua Goiás, n1119, Barra do Garças - MT), ⁴ FERTY+ - FERTY+ Reprodução animal (Rua Goiás, n1119, Barra do Garças - MT), ⁵ VRA FMVZ/USP - Departamento de Reprodução Animal - FMVZ/USP (Avenida Professor Orlando Marques de Paiva, n 87, São Paulo - SP)

Buscando melhorar a eficiência reprodutiva em novilhas Nelore (*Bos indicus*) pré-púberes, este estudo avaliou o uso de protocolo de indução de ciclicidade com emprego de tratamento único com progesterona injetável previamente ao início do protocolo de IATF. Foram utilizadas 528 novilhas da raça Nelore (*Bos indicus*) de 14 meses de idade, peso vivo médio 303,1±30,2 kg. Todos os animais foram avaliados por ultrassonografia (Mindray® DP2200Vet) no dia -10 para detectar a presença de corpo lúteo (CL). Apenas novilhas pré-púberes (sem presença de CL) foram distribuídas aleatoriamente em 4 grupos experimentais: Grupo Controle Negativo (GCN, n=138), as novilhas não receberam nenhum tratamento hormonal; Grupo Controle Positivo (GCP; n=134), animais que receberam por 12 dias um dispositivo intravaginal de progesterona de 1g reutilizado (dispositivo utilizado previamente por 24 dias) e tratamento com 1mg i.m. de cipionato de estradiol (CE) na retirada; Grupo 1-P4LA (1-P4LA; n=130), as novilhas que receberam apenas um tratamento com 150mg i.m. de P4 de longa ação (Sincrogest injetável, Ourofino Saúde Animal) e Grupo P4LA+CE (P4LA+CE; n=126), animais que receberam tratamento com 150mg i.m. de P4 de longa ação no dia 0 e 1mg i.m. de CE no dia 12. Em todos os grupos, o protocolo de IATF foi realizado 24 dias após o início do protocolo de indução de ciclicidade. As variáveis foram analisadas pelo procedimento GLIMMIX do SAS®. Não houve interação entre tratamento e lote (P=0,15). Verificou-se que a taxa de ciclicidade no dia 24 foi maior nas novilhas tratadas para indução de ciclicidade [GCN: 30,8%b (41/133); GCP: 66,2%a (88/133); 1-P4LA: 56,9%a (74/130); P4LA+CE: 57,9%a (73/126); P<0,001]. Ainda, verificou-se que as novilhas mais pesadas tiveram maior taxa de ciclicidade no dia 24 [< 270 kg = 38%b (25/66); entre 270 e 300kg = 49%ab (92/188) e >300kg = 59%a (159/268); P=0,01]. A taxa de prenhez ao protocolo de IATF das novilhas submetidas previamente ao protocolo de indução de ciclicidade foi superior quando comparadas ao grupo controle [GCN = 23,9%(33/138)b; GCP = 38,8% (52/134)a; 1-P4LA = 40,6% (52/128)a; P4LA+CE = 29% (36/124)ab; P=0,04]. Concluiu-se que o tratamento único com 150mg i.m. de progesterona de longa ação aumentou as taxas de ciclicidade e de prenhez à IATF, comparado com o grupo controle negativo. Entretanto, não foram observadas diferenças entre o grupo controle positivo e o tratamento único com P4LA, podendo ser uma excelente estratégia para diminuir o número de manejos das novilhas sem afetar a eficiência reprodutiva do protocolo de indução de ciclicidade.

Agradecimentos: Ourofino Saúde Animal, Cravinhos-SP, Brasil.

Maior crescimento folicular e luteínico após tratamento homeopático de novilhas submetidas à IATF

Emanuel Binotto Ferreira ¹, Gustavo Martins Gomes dos Santos ², Katia Cristina Silva Santos ^{2,3}, Ivis da Silva Dias ⁴, Tamires Korchovei Sanches ³, Fábio Morotti ³, Guilherme de Paula Nogueira ⁵, Marcelo Marcondes Seneda ³

¹ *Real H - Real H Nutrição e Saúde Animal (Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil)*, ² *Sheep Embryo - Sheep Embryo Reprodução Animal (Londrina, Paraná, Brasil)*, ³ *UEL - Universidade Estadual de Londrina (Londrina, Paraná, Brasil)*, ⁴ *UNOPAR - Universidade do Norte do Paraná (Arapongas, Paraná, Brasil)*, ⁵ *UNESP - Universidade Estadual Paulista (Araçatuba, São Paulo, Brasil)*

Com o objetivo de avaliar o efeito da suplementação com produto homeopático sobre o desenvolvimento folicular e do CL, novilhas ½ Nelore x Aberdeen Angus (n = 40; 14 ± 1 meses) foram divididas em dois grupos: Controle (n = 20; 310 kg; ECC 3,75) e Pró-cio (n = 20; 304 kg; ECC 3,72). Todas foram mantidas em pastagem, recebendo sal mineral e água à vontade e 500 g de milho moído/animal/dia. Para o grupo Pró-cio, foi fornecido 20 g/animal de produto homeopático (Pró-cio®, Real H, Campo Grande, Brasil) juntamente com o milho, a partir de 28 dias antes da IATF (D-18) até 10 dias após (D20). No D0, todas as fêmeas receberam um dispositivo intravaginal de P4 (Fertilcare 600®, Vallée, Montes Claros, Brasil) e 2 mg BE (Fertilcare Benzoato Sincronização®, Vallée), IM. No D5, realizou-se a contagem de folículos antrais ≥ 3 mm de diâmetro (CFA) por ultrassonografia (transdutor linear 6 MHz; A5V, Sonoscape, Shenzhen, China) e realizou-se coleta de sangue para dosagem de hormônio Antimülleriano (AMH) por ELISA (Bovine AMH Elisa AL-114, Webster, EUA), utilizando soro obtido por centrifugação a 3000 g por 15 min. No D8, procedeu-se a retirada do dispositivo de P4; aplicação de 300 UI de eCG (Folligon®, MSD Saúde animal, São Paulo, Brasil), 530 µg de cloprostenol sódico (Ciosin®, MSD Saúde Animal) e 0,5 mg de CE (Fertilcare Ovulação®, Vallée), IM, fixação de adesivo identificador de estro na inserção da cauda (Fasco®, Alta Genetics, Uberaba, Brasil) e mensuração do diâmetro do folículo dominante (FD). No D10, todas as novilhas foram inseminadas com sêmen convencional de um único touro Brangus, avaliou-se a manifestação de estro e mensuração do folículo pré-ovulatório (FPO). No D20, realizou-se mensuração da área do CL e avaliação do fluxo sanguíneo do CL (escala 0-4) por ultrassonografia Doppler (PRF 0,5; WF 60/65; S8V, Sonoscape). A comparação entre os grupos foi realizada pelo teste T-student (dados paramétricos), ou Mann-Whitney (dados não paramétricos). As taxas foram analisadas pelo modelo de regressão logística binária. As análises foram realizadas no programa Minitab® 16.1.1, considerando significativo p ≤ 0,05. Não houve diferença na CFA (29,1 ± 3,0 e 31,4 ± 3,3), nem na dosagem de AMH (1322,03 ± 241,15 e 1274,44 ± 210,67 pg/ml; P<0,05) entre os grupos. As novilhas que receberam Pró-cio apresentaram maior diâmetro do FD (9,94 ± 0,42 mm) e FPO (11,61 ± 0,56 mm) em relação ao controle (FD: 7,72 ± 0,34 mm e FPO: 9,91 ± 0,37 mm), além de maior área do CL (3,26 ± 0,26 x 2,35 ± 0,16 cm²) e maior escore de vascularização médio do CL (3,06 x 2,26; P<0,05). Não

houve diferença na taxa de manifestação de estro (80% - Controle e 85% - Pró-Cio), nem na taxa de concepção (55% - Controle e 70% - Pró-Cio), entre os grupos ($P < 0,05$). As novilhas suplementadas com o produto homeopático apresentaram maior diâmetro do FD, FPO e CL; porém, não houve diferença na taxa de concepção à IATF.

Efeito da pré-exposição à progesterona injetável de longa-ação sobre a taxa de prenhez de vacas *Bos indicus* lactantes submetidas ao protocolo de sincronização da ovulação

Ana Paula Castro Santos¹, Raphael Evangelista Orlandi¹, Miguel Pizzolante Bottino¹, Luiz Manoel Souza Simões¹, Eduardo Alves Lima¹, Arthur Guerra Silva², Bruna Martins Guerreiro³, Michele Richeri Bastos³, Bruno Gonzalez de Freitas³, Fainer Lincoln Savazzi Bertoncini⁴, João Abdon dos Santos⁴, José Nélio Sousa Sales¹

¹ UFLA - Universidade Federal de Lavras (Lavras-MG), ² RG - RG Genética Avançada (Água Boa-MT), ³ OF - Ouro Fino Saúde Animal (Cravinhos-SP), ⁴ JA - JA Reprogen (Eunápolis-BA)

O objetivo desse estudo foi avaliar o efeito da exposição prévia de progesterona injetável (P4i) ao protocolo de IATF na taxa de prenhez de vacas *Bos indicus* lactantes com escore de condição corporal satisfatório. Foram utilizadas 988 vacas Nelore lactantes (114 primíparas e 874 múltíparas) com escore de condição corporal de $2,9 \pm 0,1$ (escala de 1 a 5) e pós-parto entre 30 e 60 dias. Dez dias antes do início do protocolo de sincronização da ovulação (D-10) as vacas foram divididas em dois grupos experimentais (Grupo Controle e grupo P4i) e no grupo P4i, as vacas receberam 150 mg de progesterona injetável (Sincrogest Injetável®, Ouro Fino, Brasil) por via intramuscular. Em ambos os grupos experimentais, as vacas receberam 2,0 mg de benzoato de estradiol (Sincrodiol®, Ouro Fino, Brasil) e um dispositivo intravaginal de progesterona (Sincrogest®, Ouro Fino, Brasil) no D0. Oito dias depois (D8), o dispositivo foi removido e as vacas receberam 500,0 µg de Cloprostenol (Sincrocio®, Ouro Fino, Brasil), 1,0 mg de cipionato de estradiol (SincroCP®, Ouro Fino, Brasil) e 300UI de gonadotrofina coriônica equina (eCG, SincroeCG®, Ouro Fino, Brasil). O diagnóstico de gestação foi realizado por ultrassonografia 30 dias após a IATF e em um subgrupo de animais ($n=352$) foi avaliada a ciclicidade no momento do diagnóstico de gestação (presença de corpo lúteo nos animais vazios). A análise estatística foi realizada pelo procedimento GLIMMIX do SAS. Taxa de prenhez [Controle 64,7% (322/498) e P4i 62,9% (308/490) $P=0,55$] e ciclicidade no diagnóstico de gestação [Controle 39,8% (70/176) e P4i 39,6% (72/182) $P=0,78$] foram semelhantes entre os grupos experimentais. Conclui-se que a exposição prévia de progesterona ao protocolo de IATF não interfere na taxa de prenhez e nem na ciclicidade de vacas Nelore lactantes com escore de condição corporal satisfatório. Apoio: RG Genética Avançada, JA Reprogen, Ouro Fino Saúde Animal e FAPEMIG.

Indução da ciclicidade e taxa de prenhez em novilhas taurinas de corte tratadas com progesterona injetável e cipionato de estradiol

Débora Schneid Vaz Luiz¹, Carolina Gabriela Becker Berlitz¹, Gabriella Santos Velho¹, Carolina Rodrigues Oliveira¹, Mateus Felipe Osório dos Santos¹, Bruna M. Guerreiro², Bruno

G. Freitas ², André Gustavo Cabrera Dalto ¹, Paulo Ricardo Loss Aguiar ³, João Batista Souza Borges ¹

¹ URB - Unidade de Reprodução de Bovinos, FAVET- UFRGS (Avenida Bento Gonçalves 9090, Porto Alegre/RS, CEP 91540-000), ² Ourofino SA - Ourofino Saúde Animal (Cravinhos SP), ³ ULBRA Canoas - Universidade Luterana do Brasil (Canoas/RS)

As taxas de prenhez de novilhas de corte em programas de IATF variam muito devido à taxa de ciclicidade ao início do período reprodutivo. O objetivo deste estudo foi avaliar um protocolo de progesterona injetável e cipionato de estradiol para indução da ciclicidade em novilhas taurinas de corte peripúberes. Foram utilizadas 270 novilhas Angus e Hereford, com idade de 24±3 meses, escore de condição corporal 3,1±0,3 (ECC, escala de 1 a 5) e peso corporal 328±41 Kg, mantidas em pastagens nativas. No dia -24, realizou-se a pesagem das novilhas, avaliação do trato genital por palpação retal e ultrassonografia transretal para determinação do escore do trato genital (ETR 1 a 5). Novilhas com ETR ≥2 foram selecionadas para o experimento, divididas em 2 grupos: Peripúberes (ETR 2 e 3, n= 99) e Cíclicas (ETR 4 e 5 n= 171). As 99 novilhas peripúberes foram tratadas no dia -24 com uma dose de 150 mg de progesterona injetável, i.m., (P4 injetável, Sincrogest[®] injetável, Ourofino, Brasil) e, no dia -12, com 1 mg de cipionato de estradiol, i.m., (CE, Sincro CP[®], Ourofino, Brasil). As novilhas cíclicas não receberam tratamento hormonal prévio ao protocolo para sincronização de estro e ovulação para IATF. No dia 0, as novilhas do grupo Peripúberes foram reavaliadas para o estabelecimento de novo ETR, ECC e peso vivo. Todas as novilhas receberam 2 mg de benzoato de estradiol (BE, Sincrodiol[®], Ourofino Saúde Animal), i.m., e implante intravaginal de progesterona 1 g (Sincrogest[®], Ourofino Saúde Animal). No dia 8, foram retirados os implantes, e aplicou-se 1 mg de CE e 500 µg de cloprostenol sódico (PGF, Sincrocio[®], Ourofino Saúde Animal), i.m. Após 48 horas, as novilhas receberam uma IATF. Trinta dias após a IATF, realizou-se o diagnóstico de gestação por ultrassonografia. Para as análises estatísticas, foram utilizados os testes de qui-quadrado e correlação de Pearson, com P ≤0,05. Em novilhas peripúberes, no dia -24, a indução da ciclicidade foi definida pela presença de corpo lúteo e/ou folículo ≥8,5 mm no dia 0. A taxa de indução da ciclicidade, no dia 0, foi de 65% nas novilhas peripúberes. A taxa de prenhez do grupo Peripúberes foi de 59,6% (ETR5= 70,3%; ETR4= 63%; ETR ≤ 3= 42,8%) e no grupo Cíclicas foi de 50,3% (ETR5= 51%; ETR4= 49%), não diferindo entre os grupos (P= 0,14). Foi detectada uma correlação positiva (r=0,147) entre o peso vivo e a taxa de prenhez apenas no grupo Peripúberes. Os resultados sugerem que o tratamento de novilhas taurinas peripúberes com P4 injetável e CE promoveu a indução da ciclicidade, possibilitando a obtenção de taxa de prenhez na IATF comparável à alcançada por novilhas cíclicas ao início do período reprodutivo.

Suplementação energética e proteica no crescimento folicular e na taxa de prenhez de vacas Bos indicus lactantes submetidas à IATF em estação de monta de 110 dias

Raphael Evangelista Orlandi ¹, Luiz Manoel Souza Simões ¹, Miguel Pizzolante Bottino ¹, Ana Paula Castro Santos ¹, Eduardo Alves Lima ¹, João Paulo Martinelli Massoneto ², Luiz Antônio Scanduzzi Júnior ², Paulo Henrique Borges Marques de Pádua ², José Nélio de Sousa Sales ¹

¹ UFLA - Universidade Federal de Lavras (Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000 • Lavras/MG), ² AAP - Agropecuária Água Preta S/A (Rodovia MT 326 Km 65, Zona Rural, Cocalinho-MT)

Avaliou-se o efeito da suplementação energética e proteica no crescimento folicular (CF) final e na taxa de prenhez (P/IA) de vacas Nelore lactantes submetidas à sincronização da ovulação. As vacas (n=342; 30 a 45 dias pós-parto e ECC de 2,6±0,1) foram distribuídas em 2 grupos experimentais (Controle e Suplemento) 12 dias antes do início do protocolo de IATF. No grupo Controle as vacas não receberam suplementação e no grupo Suplemento receberam 2,5kg suplemento/dia (2kg de milho moído, 400g de farelo de soja e 100g de ureia - 26,5% PB e 76,5% NDT) durante 26 dias (D-12 ao D14) atendendo às exigências de manutenção de vacas *Bos indicus* lactantes. As vacas permaneceram em pastagens de *B. humidicola* com livre acesso a água e sal mineral e foram realizados rodízios de pastos entre os tratamentos. Doze dias após o início da suplementação (D0), as vacas receberam 2mg de benzoato de estradiol (Sincrodiol®, Ourofino, Brasil) e um dispositivo intravaginal de progesterona (P4; Sincrogest®, Ourofino, Brasil). No D8, o dispositivo foi removido e as vacas receberam 500mg de Cloprostenol (Sincrocio®, Ourofino, Brasil), 300UI de eCG (SincroeCG®, Ourofino, Brasil) e 1mg de cipionato de estradiol (SincroCP®, Ourofino Brasil). No D10 as vacas foram inseminadas. O diagnóstico de gestação foi realizado por ultrassonografia (US) 30 dias após a IATF e as vacas não gestantes foram resincronizadas. Após a segunda IATF as vacas permaneceram com touro até o fim da estação de monta de 110 dias. Em um subgrupo de vacas (n=173) foi realizada US para avaliar o diâmetro (Ø) do folículo dominante (FD) e do CL, crescimento final do FD e ovulação. A análise estatística foi realizada pelo GLIMMIX do SAS. Não houve diferença entre os tratamentos no CF entre D8 e D10 (Controle 1,5±0,1mm/dia e Suplemento 1,6±0,1mm/dia; P=0,80), na taxa de CL na resincronização [Controle 46,9% (50/106) e Suplemento 57,6% (67/117); P=0,18], P/IA à primeira IATF [Controle 42,6% (72/169) e Suplemento 46,8% (81/173); P=0,29] e P/IA à segunda IATF [Controle 33,0% (29/88) e Suplemento 42,6% (35/82); P=0,19]. O Ø do FD no D0 (Controle 11,3±0,3mm e Suplemento 11,8±0,2mm; P=0,04), no D8 (Controle 9,4±0,2mm e Suplemento 10,2±0,3mm; P=0,01), no D10 (Controle 12,2±0,3mm e Suplemento 13,2±0,2mm; P=0,002), do CL no D14 (Controle 16,0±0,4mm e Suplemento 17,1±0,3mm; P=0,005), a taxa de ovulação [Controle 77,8% (82/106) e Suplemento 91,3% (107/117); P=0,0015] e a taxa de prenhez no final da estação de monta [Controle 77,7% (115/148) e Suplemento 87,8% (129/147); P=0,02] foram maiores nas vacas do grupo Suplemento. Houve tendência de maior manifestação de estro [Controle 70,8% (75/106) e Suplemento 80,3% (94/117); P=0,09] e taxa de prenhez pelo touro [Controle 44,0% (26/59) e Suplemento 61,7% (29/47); P=0,07] nas vacas do grupo Suplemento. Concluiu-se que a suplementação energética e proteica aumentou a fertilidade de vacas Nelore lactantes ao final da estação de monta.

Apoio: FAPEMIG; Agropecuária Água Preta.

Taxa de concepção de vacas Nelore lactantes com baixa, intermediária e alta contagem de folículos antrais submetidas a IATF com remoção temporária do bezerro

Fábio Lucas Zito de Moraes ^{1,2}, Mateus Anastacio da Silva ¹, Amanda Marchi Volpato ², João Basso de Souza ², Ana Clara Canto Souza ¹, Fábio Morotti ¹, Marcelo Marcondes Seneda ¹

¹ UEL - Universidade Estadual de Londrina (Rodovia Celso Garcia Cid. Pr 445 Km 380. Campus Universitário Cx. Postal 10.011. CEP 86.057-970. Londrina - PR), ² UNOPAR - Universidade Norte do Paraná (Av. Paris, 675 - Jd. Piza. CEP 86041-140 - Cx. P. 401 Londrina - Paraná)

Assumindo a hipótese de que vacas Nelore lactantes com baixa contagem de folículos antrais (CFA) apresentam maior taxa de concepção em protocolo de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) com a retirada temporária do bezerro, o objetivo do presente estudo foi avaliar a taxa de concepção de vacas Nelore lactantes com baixa, intermediária e alta CFA submetidas ao protocolo de IATF com remoção temporária do bezerro. Neste estudo foram utilizadas 342 vacas Nelore (*Bos taurus indicus*), cíclicas, com idade entre 48 e 120 meses, 30 a 45 dias pós-parto e escore de condição corporal entre 2,5 e 3,5 (escala 1-5). Em um dia aleatório do ciclo estral (Dia 0), as vacas receberam um dispositivo intravaginal contendo 1,9 g de progesterona (P4, CIDR®, Zoetis, São Paulo, Brasil) em associação à aplicação de 2,0 mg de benzoato de estradiol (Gonadiol®, Zoetis) por via intramuscular (IM). Após 7 dias foi administrado 48,2 mg de Cloprostenol sódico (IM, Estron®, União Química, São Paulo, Brasil). No dia 9, o dispositivo intravaginal de P4 foi removido, administrou-se 1,0 mg de cipionato de estradiol (IM, ECP®, Zoetis) e os bezerros foram removidos das vacas por um período de 48 horas, até o momento da IATF (Dia 11). Os bezerros permaneceram num centro de manejo com água, sal mineral e ração *ad libitum* até serem reintroduzidos no lote de matrizes após a inseminação. O diagnóstico de gestação foi realizado 30 dias após a IATF por ultrassonografia transretal (Aloka, SSD 500, Japão; transdutor linear de 5 MHz), nesse mesmo manejo a CFA foi avaliada, uma vez que essa característica apresenta alta repetibilidade individual durante as fases reprodutivas. Para determinação da CFA, todos os folículos >3 mm foram contados em cada ovário e número total de folículos foi registrado para cada vaca. Para a análise, as fêmeas (n = 342) foram classificadas como sendo de baixa (1º quartil, ≤ 15 folículos, n = 119), intermediária (vacas com ≥ 16 e ≤ 39 folículos, n = 166) e alta CFA (3º quartil, ≥ 40 folículos, n = 57). Os dados foram analisados pelo programa estatístico Minitab® 16.1.1., empregando o modelo linear generalizado e regressão logística, adotando p ≤ 0,05 para ser significativo. O número médio de folículos antrais diferiu (P<0,0001) entre os grupos de baixa, intermediária e alta CFA (13 ± 3, 26 ± 5 e 52 ± 16 folículos, respectivamente). A taxa de concepção foi semelhante (p = 0,238) entre as vacas do grupo de baixa (62,2%; 74/119), intermediária (60,2%; 100/166) e alta CFA (49,1%; 28/57). Embora não houve diferença na taxa de concepção entre os grupos de CFA, a remoção temporária do bezerro resultou em taxa de concepção semelhante a outros trabalhos que relacionaram CFA e IATF empregando gonadotrofina coriônica equina. Conclui-se que vacas Nelore lactantes classificadas como baixa, intermediária ou alta CFA apresentaram taxa de concepção semelhante quando submetidas a IATF associada a remoção temporária do bezerro.

Efeito da administração de progesterona de curta ação e do período de permanência do dispositivo intravaginal de progesterona na dinâmica folicular e na taxa de prenhez de novilhas *Bos indicus* resincronizadas 14 dias após a IATF

Luiz Manoel Souza Simões ¹, Eduardo Alves Lima ¹, Ana Paula Castro Santos ¹, Raphael

Evangelista Orlandi ¹, Miguel Pizzolante Bottino ¹, Paulo Henrique Alves Marinho ¹, Luiz Antônio Scandiuzzi JR ², João Paulo Martinelli Massoneto ², José Camisão Souza ¹, Alexandre Henryli Souza ³, Pietro Sampaio Baruselli ⁴, José Nélio Sousa Sales ¹

¹ UFLA - Universidade Federal de Lavras (Lavras, MG, Brasil), ² AAP - Agropecuária Água Preta S/A (Cocalinho, MT, Brasil), ³ CEVA - Ceva Saúde Animal (Paulínea, SP, Brasil), ⁴ USP - Universidade de São Paulo (São Paulo, SP, Brasil)

O objetivo do estudo foi avaliar o efeito da administração de progesterona de curta ação (Afisterone®, CEVA, Brasil) e do tempo de permanência do dispositivo de progesterona (DP4) na dinâmica folicular, na taxa de prenhez (P/IA) da 1ª IATF, da 2ª IATF e do total (1ª e 2ª IATF) e na porcentagem de falso positivo (%Falso+) por Doppler em novilhas Nelore submetidas a ressincronização superprecoce. Catorze dias após a IATF (D14), 1065 novilhas Nelore (24,5±0,1 meses e 3,5±0,1 de ECC) receberam um DP4 (Prociclar, CEVA, Brasil) e foram alocadas em arranjo fatorial 2X2 para receber ou não 50mg de Afisterone® i.m e o DP4 permanecer por 6 (6DayP4) ou 8 dias (8DayP4). Na remoção do DP4 (D20 e D22), foi realizado diagnóstico de gestação por ultrassonografia (US) em Color Doppler da vascularização luteal (DGDoppler). Nas novilhas diagnosticadas não gestantes (baixa ou ausente vascularização de CL) administraram-se 150µg de D-Cloprostenol (Veteglan, CEVA, Brasil), 0,6mg de cipionato de estradiol (Cipionato HC, CEVA, Brasil) e 300UI de eCG (Folligon, MSD, Brasil). A IATF foi realizada 48h após a remoção do DP4. Exames de US modo B foram realizados na retirada do DP4 e na IA da 2ª IATF para mensurar o diâmetro do FD (DFD) e 30 dias após IA para avaliar a P/IA. Novilhas gestantes por Doppler foram submetidas à US em modo B oito dias após o Doppler para diagnóstico de gestação e avaliação da %Falso+. A análise estatística foi realizada pelo GLIMMIX do SAS. Nas variáveis avaliadas não houve interação entre administração de Afisterone e tempo de permanência do DP4. A P/IA foi semelhante entre as novilhas que receberam ou não Afisterone no DGDoppler (P=0,88), na 1ª IATF (P=0,37), na 2ª IATF (P=0,47), no total (P=0,65) e na %Falso+ (P=0,27). Além disso, o tempo de permanência do DP4 não interferiu na P/IA no DGDoppler (P=0,36), na 1ª IATF (P=0,20), na 2ª IATF (P=0,84) e no total (P=0,43). No entanto, a antecipação do DGDoppler (20 dias após a IATF) aumenta a %Falso+ [6DayP4 - 33,6% (106/315) e 8DayP4 - 23,3% (67/288); P=0,01]. O dFD na retirada do DP4 foi semelhante entre as novilhas que receberam ou não Afisterone (P=0,79) e maior nas novilhas que permaneceram com o DP4 por 8 dias (6DayP4 - 10,3±0,2mm e 8DayP4 - 11,2±0,2mm; P=0,001). O dFD na IATF foi maior em novilhas que receberam Afisterone (P4 - 12,9±0,2mm e semP4 - 12,3±0,2mm; P=0,03) e semelhante entre os tempos de permanência do DP4 (P=0,24). A taxa de ovulação precoce (antes da IATF) foi semelhante entre as novilhas que receberam ou não Afisterone (P=0,13) e entre os tempos de permanência do DP4 (P=0,14). Conclui-se que na ressincronização superprecoce não é necessário administrar Afisterone no início do protocolo e a redução de 8 para 6 dias no tempo de permanência do dispositivo de progesterona não interfere na fertilidade de novilhas Nelore. No entanto, a antecipação do diagnóstico de gestação por avaliação da vascularização luteal com Doppler (20 dias após a IATF) aumenta a porcentagem de falsos positivos.

Ésteres de estradiol na indução e sincronização da ovulação de búfalas leiteiras submetidas ao protocolo de IATF durante a estação reprodutiva desfavorável

Nelcio Antonio Tonizza de Carvalho ¹, Júlia Gleyci Soares de Carvalho ^{2,5}, José Nélio Souza Sales ³, Ana Maria Krüger ⁴, Bruna Martins Guerreiro ⁴, Bruno Gonzales de Freitas ⁴, Pietro Sampaio Baruselli ⁵

¹ UPD - IZ - Unidade de Pesquisa e Desenvolvimento de Registro-Centro de Zootecnia Diversificada-Instituto de Zootecnia (Registro-SP), ² UFESP - Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina, Centro de Pesquisa em Urologia (São Paulo-SP), ³ UFL - Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Lavras (Lavras-MG), ⁴ Ourofino - Ourofino Agronegócio (Cravinhos-SP), ⁵ VRA-FMVZ-USP - Departamento de Reprodução Animal, VRA-FMVZ-USP (São Paulo-SP)

Avaliou-se o efeito da administração de dois ésteres de estradiol [Benzoato (BE) e Cipionato (CP)] na indução e sincronização da ovulação de búfalas lactantes submetidas ao protocolo de IATF durante a estação reprodutiva desfavorável (primavera-verão; hemisfério sul). A hipótese levantada foi que o CP apresenta similares resultados ao BE na indução e sincronização da ovulação, e na taxa de concepção. O objetivo da utilização do CP como indutor da ovulação foi reduzir o número de manejos (4 para 3) e o custo de implantação do protocolo. Em dia aleatório do ciclo estral (D0), no período da manhã, 231 búfalas lactantes receberam um dispositivo intravaginal de progesterona (P4; 1,0g; Sincrogest[®], Ourofino Agronegócio, Brasil) e 2,0mg im de BE (Sincrodiol[®], Ourofino Agronegócio). No D9 (manhã), os animais receberam 0,53mg im de PGF_{2α} (Cloprostenol sódico, Sincrocio[®], Ourofino Agronegócio) e 400UI im de eCG (SincroeCG[®], Ourofino Agronegócio), seguido da remoção do dispositivo intravaginal de P4. Nesse instante, as búfalas foram divididas em dois grupos (GBE; n=117 e GCP; n=114) de acordo com o número de partos, o período pós-parto, o escore de condição corporal, a atividade ovariana e o diâmetro (Æ) do maior folículo no D9. Os animais do GCP receberam 1,0mg im de CP (SincroCP[®], Ourofino Agronegócio) no D9 (manhã) e, 24h mais tarde (D10), as búfalas do GBE receberam 1,0mg im de BE (Sincrodiol[®]). Todas as búfalas foram submetidas à IATF 56h após a administração de PGF_{2α} (D11, tarde). Em um subgrupo de animais (GBE, n=27 e GCP, n=29), avaliou-se os ovários por ultrassonografia (Mindray DP2200Vet, China) no D0, nos D9 e D10 (intervalo de 24h), e do D11 ao D13 (12/12 horas), para verificar a atividade ovariana, estabelecer os diâmetros foliculares, a taxa de crescimento folicular, o momento da ovulação e a taxa de ovulação. As demais búfalas também foram submetidas à ultrassonografia (Mindray DP2200Vet) para a aferição da atividade ovariana (D0 e D9), do Æ do maior folículo (D9) e para o diagnóstico de gestação (D41). A análise estatística foi realizada pelo procedimento GLIMMIX do SAS[®]. Não houve diferença entre os grupos experimentais (GBE vs. GCP) para as variáveis Ø do folículo ovulatório (13,4±0,5mm vs. 13,0±0,5mm; P=0,72); momento da ovulação (71,0±1,4h vs. 68,2±2,8h, P=0,35) e a taxa de ovulação [70,4% (19/27) vs. 62,1% (18/29); P=0,31]. Verificou-se maior taxa de crescimento folicular entre a administração de PGF_{2α} e a IATF (1,1±0,1mm/dia vs. 0,9±0,1mm/dia; P=0,08), maior Ø folicular na IATF (12,5±0,5mm vs. 11,3±0,6mm; P=0,08) e menor taxa de concepção [36,2% (42/116) vs. 49,5% (56/113); P=0,04] para os animais do GBE em comparação ao GCP, respectivamente. Conclui-se que a indução da ovulação com CP resulta em satisfatórias resposta folicular, taxas de ovulação e

de concepção em búfalas sincronizadas para a IATF durante a estação reprodutiva desfavorável, com redução no número de manejos e nos custos de implantação do protocolo.

Efeito do ECP e do GnRH na expressão de cio e fertilidade de vacas de corte submetidas à IATF

Vanessa Lemos de Souza ^{1,2}, Paulo Marcos Araújo Neves ^{1,2}, George Moreira da Silva ^{3,2},
Elizângela Mírian Moreira ², Jéssica de Souza Andrade ^{1,2}, Luiz Francisco Machado Pfeifer ²

¹ UNIR - Universidade Federal de Rondônia (Br 364 Km 9,5 sentido Acre), ² Embrapa - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Centro de Pesquisa Agroflorestal de Rondônia (Br 364 Km 5,5 s/n - Zona Rural. Porto Velho - RO), ³ FIMCA - Faculdades Integradas Aparício Carvalho (R. das Ararás, 241 - Eldorado, Porto Velho - RO)

Vacas que apresentam cio entre a retirada do implante e a IATF possuem maiores taxas de prenhez. Entretanto, os ésteres de estradiol podem induzir fêmeas a exibirem cio sem necessariamente possuírem folículos pré-ovulatórios. Os objetivos desse estudo foram avaliar o efeito do cio, da aplicação de ECP e GnRH na fertilidade de vacas submetidas à IATF. Neste estudo 804 vacas pós-parto da raça Nelore foram submetidas ao protocolo de IATF; no Dia 0, todas as fêmeas receberam 2 mg de benzoato de estradiol (BE, Gonadiol[®], Zoetis, São Paulo, Brasil) i.m., e um implante intravaginal de liberação de progesterona (CIDR[®], Pfizer Saúde Animal, São Paulo, Brasil). No dia 7, as fêmeas receberam 150 µg de d-Cloprostenol (Croniben[®], Biogénesis Bagó, Buenos Aires, Argentina) análogo de PGF i.m.. No dia 9, as fêmeas receberam 300 UI de eCG, (Novormon[®], Zoetis, São Paulo, Brasil) i.m. e o CIDR[®] foi removido. Todas as vacas foram marcadas na região sacro-caudal com bastão marcador para identificação do cio e foram distribuídas aleatoriamente em três grupos: 1) grupo ECP (n = 270), vacas receberam 1 mg de ECP (E.C.P[®], Pfizer, São Paulo, Brasil, i.m)no D9; 2) grupo ECP+GnRH (n = 268), vacas receberam ECP no D9 e os animais que não apresentaram cio receberam GnRH no D11; e, 3) grupo GnRH (n=266), vacas não receberam ECP no D9 e somente os animais que não manifestaram cio receberam GnRH no D11. A dose de GnRH utilizada nos grupos ECP+GnRH e GnRH foi 10,5 µg de acetato de buserelina (Gonaxal[®], Biogénesis Bagó, Buenos Aires, Argentina) i.m.. Os animais foram submetidos à IATF no D11. Trinta dias após a IATF foi realizado o diagnóstico de gestação através de ultrassonografia transretal (SIUI[®] CTS-900, China). As análises estatísticas foram realizadas através do programa estatístico SAS (1998). A prenhez por IA (P/IA) e a proporção de vacas em cio foram analisadas pelo teste do Qui-quadrado. A proporção de animais em cio foi maior nos grupos ECP (68,14%, 184/270) e ECP+GnRH (56,34%; 151/268), quando comparado ao grupo GnRH (35,71%, 95/266; P<0.0001). Não houve diferença na P/IA entre os grupos ECP (58,51%, 158/270), ECP+GnRH (59,70%, 160/268) e GnRH (57,51%, 153/266; P=0.8). Considerando somente vacas que apresentaram cio, não houve diferença na P/IA entre os grupos ECP (61,41%, 113/184), ECP+GnRH (69,3%, 104/151) e GnRH (64,21%, 61/95; P>0.05). Entre os animais que não apresentaram cio, também não houve diferença (P>0.05) na P/IA entre os grupos ECP (52,32%; 45/86), ECP+GnRH (47,86%; 56/117) e GnRH (53,21%; 91/171). Desconsiderando o grupo experimental, os animais que apresentaram cio obtiveram maior P/IA (64,65%, 278/430)

do que animais que não manifestaram cio no momento da IATF (51,47%, 192/374; $P=0.0002$). Os resultados demonstram que vacas que receberam ECP tem maior expressão de cio. Além disso, vacas que apresentam cio no momento da IATF tem mais chances de prenhez. Finalmente, a administração de GnRH em vacas que não manifestaram cio no momento da IATF não aumentou a P/IA.

Efeitos da contagem de folículos antrais (CFA), peso e idade sobre a taxa de prenhez à IATF de novilhas Nelore

Geancarlos Carraro da Silva ¹, Christopher Junior Tavares Cardoso ², Daniela Moraes Pereira ¹, Giovanna de Lima Ortiz ¹, Mariana Santos ¹, Silvio da Silva Oliveira ¹, Aldair Félix da Silva ¹, Ana Caroline Bini de Lima ¹, Dieferson Pereira de Oliveira ¹, Janaína Menegazzo Gheller ¹, Érikliis Nogueira ³, Fabiana de Andrade Melo-Sterza ^{1,2}

¹ UEMS - Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul (Rod. Aquidauana-UEMS, km 12 CEP: 79200-000, Aquidauana-MS, Brasil), ² UFMS - Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (Av. Senador Felinto Muller, 2443, CEP: 79070-900, Campo Grande, MS, Brasil.), ³ Embrapa Pantanal - Embrapa Pantanal (Rua 21 de Setembro, 1880 - Aeroporto, Corumbá-MS, 79320-900)

O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da contagem de folículos antrais (CFA), peso e idade sobre a taxa de prenhez à IATF de novilhas Nelore. O experimento foi realizado na Fazenda São Judas, município de Anastácio-MS. Foram utilizadas 139 novilhas PO com idade entre 13 e 28 meses e peso médio de 323 ± 43.9 kg mantidas a pasto e consideradas como aptas a reprodução a partir de 275 kg, independentemente da idade. Para o procedimento de contagem folicular foi utilizado um aparelho de ultrassom com transdutor transretal SonoScape A5 VET® em dias aleatórios do ciclo estral. Todos os folículos ≥ 2 mm de diâmetro em ambos ovários foram contados para caracterizar a CFA, com o operador realizando rotação de aproximadamente 180°, afim de que todos os folículos fossem contados sem repetição. Imediatamente após a contagem, com o auxílio do “cineloop” era feita a conferência da CFA. Após a contagem dos folículos os animais eram pesados e submetidos ao protocolo de IATF. No (D0), animais receberam 2 mg de benzoato de estradiol (i.m.; RIC-BE®, Agener União, Brasil) e dispositivo intravaginal com 1 g de P4 (Primer®, Agener União, Brasil). No D8 foram retirados os implantes e aplicado via IM 1 mg de cipionato de estradiol (ECP®, Zoetis, Brasil), 150 µg de d-cloprostenol (Prolise®, Arsa, Argentina) e 300 UI de eCG (Folligon®, MSD, São Paulo, Brasil). A IA foi realizada após 48 horas da retirada do dispositivo. Após 30 dias da IA, os animais foram submetidos ao diagnóstico de gestação com o auxílio de ultrassonografia transretal. Os dados foram analisados pelo PROC GLIMMIX e PROC LOGISTIC do SAS, e os efeitos incluídos no modelo foram: idade, peso, CFA e prenhez. As variáveis que não tiveram efeitos significantes foram removidas do modelo. Não houve efeito do peso das novilhas ($P=0,097$) e da CFA ($P=0,1687$) sobre a taxa de prenhez à IATF, mas a idade apresentou efeito significativo ($P=0.008$), quanto maior a idade maior a taxa de prenhez. A CFA média foi de 21.2 ± 9.2 folículos entre os animais e não foi observada diferença ($P>0.05$) entre as idades. A taxa de prenhez aos 30 dias observada foi de 21,6%, Conclui-se, que a CFA não difere entre novilhas de 13 a 28 meses e não

tem influência sobre a prenhez, assim como peso não alterou a taxa de prenhez. No entanto, a prenhez é influenciada pela idade até 28 meses.

Uso de progesterona injetável para ressincronização super-precoce em vacas de corte *Bos indicus* submetidas a duas IATFs em 22 dias

Danilo Zago Bisinotto ^{2,1}, Barbara Piffero Mello ^{2,1}, Fábio de Carvalho Lahr ^{2,1}, Catia Aparecida Ferreira Gallimberti ¹, Leonardo Amaral ¹, Gabriela Dalmaso de Melo ¹, Michele Ricieri Bastos ³, Ed Hoffman Madureira ¹, Guilherme Pugliesi ¹

¹ FMVZ - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo (Pirassununga, SP), ² FZEA - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo (Pirassununga, SP), ³ Ourofino Saúde Animal - Ourofino Saúde Animal (Cravinhos, SP)

Objetivou-se com este estudo avaliar o tamanho do folículo pré-ovulatório e a taxa de prenhez em vacas submetidas à ressincronização super-precoce aos 12 dias (pós-IATF com ou sem o uso de progesterona injetável de longa ação (P4-LA). Vacas Nelore, pluríparas (n=293) e primíparas (n=83), com escore de condição corporal (ECC) entre 4 e 6 (escala: 1 a 9), entre 30-60 dias pós-parto, foram submetidas a um protocolo à base de progesterona e estradiol para IATF (Dia 0 = inseminação). No Dia 12, os animais foram divididos em 2 grupos (G). No G controle (n=184) as vacas receberam um novo dispositivo intravaginal de progesterona (0,96 g; Progestar, Boehringer-Ingelheim, Campinas, Brasil); enquanto no G P4-LA (n=192) as vacas receberam o dispositivo e 75mg de P4-LA i.m. (Sincrogest injetável, Ourofino, Cravinhos, Brasil). No Dia 20, os dispositivos foram removidos e as vacas submetidas à avaliação ultrassonográfica com Doppler colorido para identificar as fêmeas não-gestantes por meio da regressão do corpo lúteo, conforme estabelecido por Pugliesi et al. (Biol Reprod, 4: 1-12, 2014). Vacas identificadas como não-gestantes no Dia 20 (n=120) tiveram o dispositivo de P4 removido, receberam por via i.m. 500ug de cloprostenol sódico (Cioprostin, Boehringer-Ingelheim), 1mg de cipionato de estradiol (SincroCP, Ourofino) e 300 UI de eCG (Ecegon, Biogenesis Bagó, Vinhedo, Brasil) e foram submetidas à uma segunda IATF 48 horas após (D22). O tamanho do maior folículo ovariano foi mensurado por ultrassonografia transretal no dia da IATF. O diagnóstico de gestação foi realizado no Dia 52 por meio da ultrassonografia em modo B. Os dados paramétricos foram avaliados por ANOVA (PROC MIXED) e a taxa de prenhez por regressão logística (PROC GLIMMIX) do SAS, considerando-se no modelo ECC, tamanho do folículo, cio e prenhez. Não houve diferença (P>0,1) na taxa de prenhez nos Dias 20, 30 e 60 após a primeira IATF nos G controle (69%, 59,7% e 57%, respectivamente) e P4-LA (67% %, 55.7% e 55.2%, respectivamente). O tamanho do folículo pré-ovulatório não diferiu (P>0,1) entre os G controle e P4-LA (13,3 ± 0,38mm vs 13,5 ± 0,39mm respectivamente). Não houve interação significativa entre as variáveis investigadas. No entanto, as taxas de manifestação de estro e prenhez foram maiores (P<0,05) no G P4-LA (92,2% [59/64]; e 60,9% [39/64]; respectivamente) do que no grupo controle (75% [42/56] e 44,6% [25/56]). A taxa de prenhez acumulativa no Dia 30 após duas IATFs foi de 73,4% (135/184) no grupo controle e 79,3% (146/184) no grupo P4-LA (P>0,1). O uso de P4-LA no Dia 12 para ressincronização super-precoce associada com a

ultrassonografia Doppler para diagnóstico de gestação é uma alternativa benéfica para aumentar as taxas de prenhez em vacas de corte *Bos indicus* submetidas a duas IATFs em 22 dias.

Agradecimentos: FAPESP (processos: 2015/10606-9; 2016/23964-3; e 2017/26767-7); Ourofino Saúde Animal (Bruno Freitas); P-USP do campus Fernando Costa; e Boehringer-Ingelheim.

Suplementação com acetato de melengestrol (MGA®) após a IATF em vacas de corte lactantes e novilhas *Bos taurus*

Hirya Fernandes Pinto ¹, Daniela dos Santos Brum ¹, Natan da Cruz de Carvalho ¹, Normélio Alves Neto ³, Izaias Claro Junior ³, Ana Paula Martini ², Gilson Antonio Pessoa ², Aline Policarpo Baioco ², Emídio Ferreira Machado Filho ², Fabio Gallas Leivas ¹

¹ UNIPAMPA - BIOTECH, Lab. de Biotecnologia da Reprodução, Universidade Federal do Pampa (BR 472, Km 592, CP 118, Uruguaiana - RS), ² UFSM - Embryolab, Lab. de Embriologia Animal, DCGA, Universidade Federal e Santa Maria (Av. Roraima, 1000 - 7, Camobi, Santa Maria - RS), ³ Zoetis - Zoetis Brasil (Estr. Luís Fernando Rodrigues, 1701 - Vila Boa Vista, Campinas - SP)

O objetivo do estudo foi avaliar o efeito da suplementação oral com acetato de melengestrol (MGA, Zoetis, Brasil) sobre a taxa de prenhez de fêmeas *Bos taurus* após IATF e o desempenho reprodutivo ao final da estação de monta de 90 dias. Foram utilizados 242 animais (ECC=2,88; escala 1-5) de 2 propriedades no estado do RS, sendo 90 vacas (45 dias pós parto) e 152 novilhas. No início do protocolo os animais foram avaliados por ultrassonografia quanto à presença de CL (CLD0,=45%), receberam um dispositivo intravaginal de liberação de P4 (CIDR, Zoetis) e 2 mg benzoato de estradiol IM (Gonadiol, Zoetis). No D7 foi administrado 12,5 mg de dinoprost IM (Lutalyse, Zoetis). O dispositivo de P4 foi removido e administrado 0,5 mg de cipionato de estradiol IM (ECP, Zoetis) mais 300UI de eCG (Novormon, Zoetis) no D9. A inseminação foi realizada 48h após (D11). No 13º dia após a IATF até o 18º dia, as vacas e novilhas foram divididas homoganeamente quanto a ciclicidade e ECC em 2 grupos: *Grupo MGA* (n=117) que receberam 2,28 g de MGA® Premix (Zoetis, Brasil) por dia misturado ao sal comum (equivalente à 0,50 mg de Acetato de Melengestrol) e grupo *semMGA* (n=125) que recebeu apenas sal comum. O repasse com touro iniciou no D19 permanecendo até o D90. O diagnóstico de gestação foi realizado no D30, D90 e D120. As variáveis foram analisadas usando Proc GLIMMIX do SAS, e as médias comparadas por teste de Tukey-Kramer. Não houve efeito da categoria animal. A taxa de ciclicidade (presença de CL) aos 30 dias foi de 68,0 e 93,2% para os grupos *MGA* e *semMGA* (P=0,08). No D30, a prenhez da IATF foi 38,4% e 40,2% (P=0,44) e no D90 foi 74,4% e 88,9% (P=0,09) nos grupos *semMGA* e *comMGA*, respectivamente. A perda gestacional entre os dias 30 e 120 foi de 18,8% e 4,1% para os grupos *semMGA* e *MGA*, respectivamente (P<0,05). Com base nos resultados obtidos, pode-se inferir que a suplementação com MGA não melhorou a taxa de prenhez aos 30 dias, porém aumentou a taxa de prenhez ao final da estação de monta. Um número maior de animais deve ser testado para reiterar estes dados, assim como avaliar o efeito em diferentes categorias de animais e em diferentes condições de ciclicidade. Agradecimentos: Zoetis, Fazendas Baviera e Estância São José.

Efeito do tratamento com progesterona injetável no início da ressincronização superprecoce na taxa de prenhez à IATF de novilhas Nelore

Walter Antonio Gonçalves Junior ¹, Marcos Henrique Alcântara Colli ¹, Bruna Lima Chechin Catussi ¹, Romulo Germano de Rezende ¹, David Luís Andrea ², Marcio Wasilewski de Castro ², Bruno Gonzalez de Freitas ³, Bruna Martins Guerreiro ³, Pietro Sampaio Baruselli ¹

¹ USP - Universidade de São Paulo (Av Prof Orlando Marques de Paiva, 87, Cidade Universitária, São Paulo, SP, Brasil), ² NA - Nova Aliança (Campo Grande, MS, Brasil), ³ OF - Ourofino Saúde Animal (Cravinhos, SP, Brasil)

O tratamento com estradiol induziu a regressão do CL e comprometeu a taxa de concepção quando administrado 13 dias após a IATF (Vieira et al., 2014 SBTE). A P4 injetável poderia ser utilizada para promover a emergência sincronizada da onda de crescimento folicular através da supressão do folículo dominante LH dependente (Rezende et al., 2016 SBTE). O objetivo do estudo foi avaliar a taxa de prenhez de novilhas Nelore submetidas ao tratamento com P4 injetável ou não, no início do protocolo de ressincronização superprecoce. Para isso, foram utilizadas 1000 novilhas Nelore (24±4 meses e 320±20 kg) submetidas à uma primeira IATF. Após 14 dias da primeira inseminação, as novilhas foram distribuídas homogeneamente em três grupos: G-A50, 50 mg IM de P4 injetável (Afisterone[®], Hertape, Brasil) associado a um dispositivo de P4, previamente utilizado por oito dias (CIDR[®], Zoetis, Brasil); G-P4LA50, 50 mg IM de P4 injetável de longa ação (Sincrogest injetável[®], Ouro fino, Brasil) associado a um dispositivo intravaginal de P4 previamente utilizado por 8 dias (CIDR, Zoetis) e G-CONT, somente dispositivo previamente utilizado por 8 dias (CIDR[®], Zoetis). Oito dias após a distribuição (D22), todas as novilhas foram submetidas a remoção do dispositivo e DG via US modo doppler (S8[®], Sonoscape, China). Os animais com DG doppler negativo (Pugliesi et al, 2017) foram submetidos à mensuração do maior folículo presente nos ovários (FDD22) e a continuação do protocolo para a segunda IATF (G-A50, n=184; G-P4LA50, n=164; e G-CONT, n= 176). No dia 22, as novilhas com DG negativo receberam 12,5 mg IM de Dinoprost trometamina (Lutalyse[®], Zoetis), 200 UI de eCG (Novormon[®], Zoetis) e 0,5 mg de Cipionato de Estradiol (ECP[®], Zoetis) e pintura da base da cauda com bastão marcador de cera (Walmur[®], Brasil) para identificação da expressão de cio entre os dias 22 e 24. Todos os animais foram inseminados no D24 pelo mesmo inseminador e utilizando sêmen do mesmo touro e partida. O DG da ressincronização foi realizado via US modo B (DP2200[®], Mindray, China), 70 dias após a 2^o IA. Os dados foram analisados pelo Procedimento GLMIX do SAS 9.3. Não houve diferença significativa de FDD22 entre os tratamentos, G-A50: 10±2.1mm; G-P4LA50: 9.8±2.0mm e G-CONT: 9.7±2.2mm; P= 0,23 e na taxa de expressão de cio G-A50: 68% (123/182); G-P4LA50: 62% (102/164); G-CONT: 69% (121/175); P=0,62. Também, não houve diferença na taxa de prenhez aos 70 dias entre os grupos tratados e controle G-A50: 38,0% (70/184); G-P4LA50: 38,4% (63/164); G-CONT: 34,7% (61/176) P= 0,65. Não houve diferença na análise em contraste ortogonal (G-A50 vs G-P4LA50; P= 0.89), e na análise (G-CONT vs G-A50 + G-P4LA50; P= 0,35). Nenhuma diferença estatística foi encontrada entre os grupos tratados e não tratado, determinando a necessidade de mais estudos para determinação da necessidade do uso

ou não da P4 injetável no D14 associado ao dispositivo intravaginal no protocolo de ressincronização superprecoce.

Associação da fertilidade *in vivo* de touros com a produção *in vivo* de embriões

Guilherme Machado Zanatta ¹, Flávia Morag Elliff ¹, Alessandra Bridi ³, Gabriel Armond Crepaldi ², Rodolfo Daniel Mingoti ¹, Mayra Elena Ortiz D'Avila Assumpção ¹, Felipe Percin ³, Pietro Sampaio Baruselli ¹

¹ VRA - FMVZ/USP - Departamento de Reprodução Animal - FMVZ/Universidade de São Paulo (São Paulo/SP), ² ST Repro - ST Repro (Indaiatuba/SP), ³ ZMV - FZEA/USP - Departamento de Medicina Veterinária - Universidade de São Paulo (Pirassununga/SP)

O objetivo deste estudo foi avaliar a associação entre produção de embriões e a taxa de prenhez utilizando touros de alta e baixa fertilidade à campo. A fertilidade dos touros foi pré determinada em testes comparativos realizados pela empresa parceira neste experimento, utilizando-os no mesmo lote e apresentando diferença estatística na taxa de prenhez à IATF, determinando touros de alta e baixa fertilidade. Para isso, foram utilizadas 426 vacas Nelore, lactantes, sincronizadas para IATF. No início do protocolo de sincronização (D-10) foi administrado 2mg, IM, de Benzoato de estradiol (RIC BE[®], Agener União, Tecnopec, São Paulo/SP) associado a um dispositivo intravaginal impregnado com 0,750g de P4 (Prociclar[®], Hertape, Brasil). Após oito dias (D-2) foi realizada a remoção do dispositivo de P4 e a aplicação de 1mg, IM, de Cipionato de estradiol (ECP[®], Zoetis, São Paulo/SP), 0,150mg de D-cloprostenol (Veteglan Luteolítico[®], Hertap, Brasil) e 300UI de eCG (Novormon[®], Zoetis, São Paulo/SP). Após 48 horas da retirada do dispositivo (D0), todas as fêmeas foram inseminadas utilizando sêmen de touros, da raça Aberdeen Angus, de alta (n=3) ou baixa (n=3) fertilidade. Sete dias após a IATF (D7) foi avaliada a taxa de ovulação por ultrassonografia (DP2200[®] Mindray, China), sendo os animais distribuídos homogeneamente de acordo com touro e ovulação em dois grupos: Grupo Coleta (GC) e Grupo Prenhez (GP). Os animais do grupo GC foram submetidos à coleta de embriões pelo método não cirúrgico, no corno ipsilateral à ovulação. Os filtros foram lavados e os embriões rastreados em estereomicroscópio (Olympus, EUA). Os embriões foram classificados de acordo com as normas da IETS, lavados em PBS acrescido de 1% de Polivinilpirrolidona (PVP) e criopreservados em nitrogênio líquido. O diagnóstico de gestação das vacas do grupo GP foi realizado 30 dias após à IATF (D30). Os dados foram analisados pelo teste exato de Fisher e procedimento GLIMIX do SAS[®]. Não houve diferença na taxa de recuperação das estruturas de acordo com a fertilidade do touro: alta - 38,2% (39/102) e baixa - 31,1% (32/103), (P=0,31). No tocante à viabilidade dos embriões, os touros de alta fertilidade apresentaram diferença (P<0,001) entre embriões viáveis 87,2% (34/39) e não viáveis 12,8% (5/39). Já os touros de baixa fertilidade não apresentaram essa diferença [viáveis 59,4% (19/32) e não viáveis 40,6% (13/32), P=0,28]. Ainda, os touros de alta (87,2%; 34/39) apresentaram maior taxa de embriões viáveis quando comparado aos touros de baixa (59,4%; 19/32) fertilidade (P=0,013). Houve diferença (P=0,03) na taxa de prenhez à IATF entre os touros de alta (54,6%; 48/88) e de baixa (38,2%; 34/89) fertilidade. Touros de alta fertilidade produzem embriões de melhor viabilidade, havendo a necessidade de mais estudos para esclarecer tal fato.

Agradecimentos: ST Repro, Zoetis, Biodux, WTA, Progênie Pecuária, APTA – Andradina, Fazenda Santa Maria, Fazenda Nova Esperança.

Efeito da contagem de folículos antrais sobre a taxa de prenhez em novilhas nelore submetidas à inseminação artificial em tempo fixo

Guilherme Henrique Freitas Seugling ^{1,2}, Gabriella Carolina da Silva ¹, Ana Clara Bertolino Pereira ¹, José Gabriel Rigo Kairuz ¹, Luiz Aguinaldo Ricetto Pegorari Junior ¹, Maria Paula Marinho de Negreiros ¹, Guilherme Rosalem Vicentin ¹, Wanessa Blaschi ¹, Thales Ricardo Rigo Barreiros ¹

¹ UENP - Universidade Estadual do Norte do Paraná (Bandeirantes- Paraná), ² PIBIC, FAP - PR - Fundação Araucária do Estado do Paraná (Bandeirantes -PR)

O presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito da contagem de folículos antrais (CFA) sobre a taxa de concepção de novilhas Nelore submetidas a inseminação artificial em tempo fixo. Foram utilizadas 336 novilhas da raça Nelore, com escore de condição corporal entre 2,25 e 3,75 (escala 1 a 5), em uma propriedade rural localizada na região de Congonhinhas, Estado do Paraná. Os animais foram submetidos a dois exames ultrassonográficos com intervalo de 14 dias, para avaliação da ciclicidade pela presença de CL e os folículos antrais ≥ 3 mm foram contados por ultrassonografia usando transdutor linear transretal. As fêmeas receberam um dispositivo intravaginal de progesterona previamente utilizados por 32 dias (CIDR, Zoetis, Brasil). Dez dias depois, os dispositivos foram retirados e foi administrado 1 mg de benzoato de estradiol (Gonadiol, Zoetis, Brasil) por via intramuscular (IM). As novilhas foram submetidas à ultrassonografia 10 dias depois para detecção de CL e CFA e receberam uma aplicação de 2 mg de benzoato de estradiol (Gonadiol, Zoetis, Brasil) IM, mais um dispositivo intravaginal de progesterona previamente utilizado por 18 dias (CIDR, Zoetis, Brasil). Sete dias depois, os animais receberam 12,5 mg de dinoprost (Lutalyse, Zoetis, Brasil). Quarenta e oito horas depois os dispositivos foram retirados e os animais receberam 300 UI de ECG (Novormon, Zoetis, Brasil) e 1mg de cipionato de estradiol (ECP, Zoetis, Brasil) por via IM. A inseminação artificial foi realizada 48 horas após a retirada dos dispositivos intravaginais e diagnóstico de gestação foi realizado 35 dias depois por ultrassonografia. Os dados foram analisados por regressão logística ($P < 0,05$). As novilhas foram separadas por tercil e classificadas de acordo com a CFA (média \pm desvio padrão) em grupos de alta CFA ($35,5 \pm 5,5$ folículos, $n=112$), média CFA ($20,8 \pm 8,5$ folículos, $n=112$) e baixa CFA ($10,7 \pm 1,8$ folículos, $n=112$). A avaliação da ciclicidade resultou em 47,4% (158/336). No início do protocolo de IATF, 88,5% (295/336) apresentaram CL e se distribuíram em 32,2% (95/295) com CFA baixa, 35,5% (105/295) com CFA média e 32,2% (95/295) com CFA alta. A taxa de prenhez não apresentou interação com o ECC ($P > 0,05$) e não foi influenciada pela CFA ($P > 0,05$); [alta: 48,2% (54/112); média: 48,2% (54/112); baixa: 58,9% (66/112)]. Novilhas com CL no início do tratamento hormonal para IATF apresentaram semelhança ($P > 0,05$) na taxa de prenhez [alta: 48,4% (46/95); média: 49,5% (50/105); baixa: 57,8% (55/95)]. Em conclusão, CFA não se destacou como parâmetro relevante para avaliação prévia de novilhas.

Fomento: PIBIC-UENP, Fundação Araucária do Estado do Paraná.

Progesterona circulante em fêmeas de diferentes pesos corporais tratadas com implante vaginal

João Paulo de Andrade Guimarães João Paulo de Andrade Guimarães ², Gustavo Pereira Gustavo Pereira ², Amanda de Barros Martins Amanda de Barros Martins ¹, Humberto Del Hoyo Neri Humberto Del Hoyo Neri ², Ana Cristina Silva de Figueiredo Ana Cristina Silva de Figueiredo ^{1,2}, Eduardo Ramos Oliveira Eduardo Ramos Oliveira ², Carlos Antônio de Carvalho Fernandes Carlos Antônio de Carvalho Fernandes ^{2,1}, Miller Pereira Palhão Miller Pereira Palhão ¹

¹ *Unifenas - Universidade José do Rosário Vellano (Alfenas, MG)*, ² *Biotran LTDA - Biotecnologia e Treinamento em Reprodução Animal (Alfenas, MG)*

Objetivou-se mensurar as concentrações de progesterona (P4) em animais de diferentes pesos corporais e tratados com dispositivos intravaginais contendo diferentes concentrações de P4. Quarenta fêmeas bovinas (n=40), entre novilhas e vacas secas (receptoras de diferentes graus de sangue Zebuino x Taurino), foram pesadas e divididas em dois grupos de acordo com o peso corporal: G1 (n=20): 350 a 450 kg (345 a 432 kg); ou G2 (n=20): 451 a 600 kg (453 a 592 kg). Todos animais receberam previamente um protocolo hormonal para garantir a lise e evitar a formação de um novo corpo lúteo (CL). Brevemente, implante auricular de norgestomet mantido por 11 dias, iniciada no D-11, seguido de duas doses de prostaglandina, intervaladas de 12 h, administradas no D-3. Em seguida, de acordo com o peso corporal, os animais de cada grupo foram alocados em 2 tratamentos (T) de acordo o dispositivo de P4. No dia 0 (D0), os animais receberam dispositivos contendo 0,6 (T1) ou 1,2g (T2). Amostras de sangue foram coletadas antes da colocação do dispositivo, 12h após e diariamente até sua retirada (D8), amostragem adicional foi realizada 12h após a retirada. O arranjo experimental em fatorial 2x2 contou com os fatores Grupo e Tratamento. As amostras de sangue foram submetidas ao ensaio de quimioluminescência para determinar as concentrações de P4. Os dados referentes as concentrações de P4 foram testados quanto à normalidade e transformados em raiz quadrada para o ajuste. O modelo estatístico, incluindo os efeitos de cada fator e dia, bem como suas interações, foram analisados pelo procedimento PROC MIXED, considerando como diferenças estatísticas as probabilidades menores que 5%. Todas as análises realizadas no programa SAS (University Edition, SAS Institute). Médias marginais de P4 (LSMEANS) foram estimadas, considerando como covariância a amostra imediatamente anterior e comparadas de acordo com o dia. Independente do grupo ou tratamento, o pico nas concentrações plasmáticas de P4 ocorreu 12h após o início do tratamento, seguido de uma queda nos seus níveis até o dia 4, quando as concentrações atingiram um platô até a retirada do dispositivo. Nos animais mais leves, independente da concentração de P4 no dispositivo, o efeito da interação G*D (P<0,0001) evidenciou um pico de P4 mais elevado (3,6±1,3 vs. 2,0±1,0 ng/ml). Esta característica do pico de progesterona garantiu, mesmo com a queda subsequente, que estes animais tratados mantivessem níveis mais elevados de progesterona durante a fase de platô. O dispositivo intravaginal de 1,2g de P4 induz um pico mais elevado (3,5±1,4 vs. 2,1±1,0) e também mantém maiores concentrações de P4 ao longo de todo o tratamento, justificando a interação T*D

($P < 0,0001$). Estas diferenças observadas no comportamento fisiológico dos animais expostos ao tratamento podem indicar a necessidade de ajustes no tipo de progestágeno de acordo com o peso dos animais.

Suporte Financeiro: FAPEMIG.

Efeito do escore de condição corporal e contagem de folículos antrais na indução de puberdade em novilhas da raça nelore

Maria Paula Marinho de Negreiros^{1,2}, Guilherme Henrique Freitas Seugling¹, Luiz Aguiinaldo Ricetto Pegorari Junior¹, Gabriella Carolina da Silva¹, Ana Clara Bertolino Pereira¹, José Gabriel Rigo Kairuz¹, Guilherme Rosalem Vicentin¹, Wanessa Blaschi¹, Thales Ricardo Rigo Barreiros¹

¹ UENP - Universidade Estadual do Norte do Paraná (Rodovia BR – 369, Km 54, Vila Maria, CEP 86360-000 Bandeirantes - Paraná - Brasil), ² PIBIC - FAP - Fundação Araucária do Estado do Paraná (Bandeirantes-PR)

O presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito da contagem de folículos antrais (CFA) e do escore de condição corporal (ECC) sobre indução da puberdade em novilhas. Foram utilizadas 336 novilhas da raça Nelore, de 20 a 24 meses de idade, com 260 a 280 kg de peso vivo e escore de condição corporal entre 2,25 e 3,25 (escala 1=magra a 5=obesa). Os animais foram submetidos a dois exames ultrassonográficos com intervalo de 14 dias, para avaliação da ciclicidade pela presença de CL e CFA (folículos antrais ≥ 3 mm). Os grupos experimentais foram distribuídos por tercil ($n=112$) em alta CFA (32 a 64 folículos), média CFA (22 a 30 folículos) e baixa CFA (6 a 20 folículos). As fêmeas consideradas pré-púberes receberam um dispositivo intravaginal de progesterona previamente utilizados por 32 dias (CIDR, Zoetis, Brasil). Dez dias depois os dispositivos foram retirados e administrou-se 1 mg de benzoato de estradiol (Gonadiol, Zoetis, Brasil) por via IM. Os animais foram submetidos ultrassonografia após 10 dias para detecção de CL. Os resultados foram analisados por regressão logística ($P < 0,05$). Na avaliação de ciclicidade, 47,0% (158/336) das novilhas apresentaram CL. Novilhas com baixa CFA apresentaram menor ($P < 0,001$) ciclicidade (33,9%; 38/112) em relação a novilhas com média (52,6%; 59/112) ou alta CFA (50,0%, 61/112). A ciclicidade foi influenciada pelo ECC ($P=0,02$); [ECC $\leq 2,5$: 18,4% (7/38); ECC=2,75: 52,6% (42/85); ECC $\geq 3,0$: 50,0%; 104/213]. Na indução da puberdade ($n=178$ novilhas pré-púberes) observou-se semelhança ($P=0,30$) entre as novilhas com alta: 66,6% (34/51); média: 86,7% (46/53) e baixa CFA: 77,0% (57/74). A indução da puberdade não foi influenciada pelo ECC ($P=0,65$); [ECC $\leq 2,5$: 77,4% (24/31); ECC=2,75: 72,0% (31/43); ECC $\geq 3,0$: 78,8%; (82/104)]. Em conclusão, CFA e o ECC destacaram-se como aspectos importantes na avaliação de da ciclicidade de novilhas. A CFA apresentou resultados promissores e pode se constituir em fator relevante na avaliação de novilhas. Entretanto, a CFA não se destacou como parâmetro preditivo para indução da puberdade em novilhas.

Agradecimento: Fundação Araucária do Estado do Paraná.

Efeito do escore de condição corporal e contagem de folículos antrais na taxa de prenhez de vacas nelore pós-parto submetidas à inseminação artificial em tempo fixo

Luiz Aguinaldo Ricetto Pegorari Junior ^{1,2}, Guilherme Henrique Freitas Seugling ¹, Maria Paula Marinho de Negreiros ¹, Guilherme Rosalem Vicentin ¹, Gabriella Carolina da Silva ¹, José Gabriel Rigo Kairuz ¹, Ana Clara Bertolino Pereira ¹, Wanessa Blaschi ¹, Thales Ricardo Rigo Barreiros ¹

¹ UENP - Universidade Estadual do Norte do Paraná (Bandeirantes- Paraná), ² PIBIC - FAP - Fundação Araucária do Estado do Paraná (Bandeirantes-PR)

O presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito da ciclicidade, contagem de folículos antrais (CFA) e do escore de condição corporal (ECC) sobre a taxa de prenhez de vacas Nelore submetidas a inseminação artificial em tempo fixo. Foram utilizadas 979 vacas Nelore, com 30 a 45 dias pós-parto, com escore de condição corporal $2,7 \pm 0,5$ (escala 1 a 5), localizadas na região de Congonhinhas, Estado do Paraná. Os animais foram submetidos a dois exames ultrassonográficos com intervalo de 14 dias, para avaliação da ciclicidade pela presença de CL e os folículos antrais ≥ 3 mm foram contados por ultrassonografia usando transdutor linear transretal. No momento da segunda avaliação ultrassonográfica, as fêmeas receberam uma aplicação intramuscular (IM) 2 mg de benzoato de estradiol (Gonadiol, Zoetis, Brasil) e um dispositivo intravaginal contendo 1,9 g de progesterona (CIDR, Zoetis, Brasil). Nove dias depois os dispositivos foram retirados e administrado-se 12,5 mg de dinoprost (Lutalyse, Zoetis, Brasil), 300 UI de eCG IM (Novormon, Zoetis, Brasil) e 1 mg de cipionato de estradiol (ECP, Zoetis, Brasil) por via IM. A inseminação artificial foi realizada 48 horas após a retirada dos dispositivos intravaginais e diagnóstico de gestação foi realizado 35 dias depois por ultrassonografia. Os dados foram analisados por regressão logística ($P < 0,05$). A avaliação de ciclicidade resultou em apenas 15% (146/979) de vacas cíclicas. As vacas foram classificadas de acordo com a CFA (média \pm desvio padrão) em grupos de alta CFA ($35,5 \pm 5,5$ folículos, $n=185$), média CFA ($20,8 \pm 8,5$ folículos, $n=629$) e baixa CFA ($10,7 \pm 1,8$ folículos, $n=165$). A CFA foi maior ($P=0,001$) em vacas em anestro ($21, \pm 8,5$) do que nas vacas cíclicas ($18,6 \pm 8,2$). Entretanto a CFA não foi influenciada ($P=0,62$) pelo ECC (ECC $\leq 2,5$: $20,7 \pm 8,3$; ECC = $2,75$: $21,6 \pm 9,1$ e ECC $\geq 3,0$: $21,9 \pm 9,5$). A taxa de prenhez foi semelhante ($P=0,35$) em vacas cíclicas (60,2%, 88/146) e vacas em anestro (56,0%, 466/833). A taxa de prenhez foi influenciada ($P=0,005$) pela CFA [alta: 49,7% (92/185)^a; média: 56,1% (353/629)^{ab}; baixa: 66,0% (109/165)^b] e pelo ECC ($P=0,02$); [ECC $\leq 2,5$: 49,6% (151/304)^a; ECC = $2,75$: 56,2% (188/334)^{ab}; ECC $\geq 3,0$: 63,4%; 215/341)^b]. A taxa de prenhez apresentou interação com ECC ($P=0,02$) e CFA ($P=0,004$), resultando em taxa de prenhez superiores em vacas com baixa CFA e melhor ECC [alta CFA/ ECC $\leq 2,5$: 33,3% (16/48)^a, alta CFA/ ECC = $2,75$: 51,6% (32/62)^b, alta CFA/ ECC $\geq 3,0$: 57,8% (44/76)^b, média CFA/ ECC $\leq 2,5$: 53,0% (106/200)^a, média CFA/ ECC = $2,75$: 58,2% (127/218)^a, média CFA/ ECC $\geq 3,0$: 58,3% (122/209)^a, baixa CFA/ ECC $\leq 2,5$: 51,7% (29/56)^a, baixa CFA/ ECC = $2,75$: 53,7% (29/54)^a, baixa CFA/ ECC $\geq 3,0$: 87,5% (49/56)^b]. Em conclusão, vacas com menor CFA e melhor ECC apresentaram maiores taxas de prenhez. A CFA e ECC destacaram-se como aspectos importantes na avaliação prévia da fertilidade de vacas a serem submetidas a IATF.

Agradecimento: Fundação Araucária do Estado do Paraná.

Taxa de concepção de acordo com vascularização de corpo lúteo em vacas e novilhas receptoras de embrião

Anderson Kloster Munhoz ¹, Marcos Henrique Colombo Pereira ¹, José Luiz Moraes Vasconcelos ¹

¹ UNESP - BOTUCATU - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Unesp; Professor Doutor Walter Mauricio Correa s/n; Botucatu - SP)

A avaliação do tamanho de tecido luteal está correlacionada positivamente com as concentrações circulantes de P4, somado a isto, a avaliação da sua vascularização pode representar de forma mais precisa a função do CL (Bollwein et al. 2002;2012). Concentrações mais elevadas de P4 estão relacionadas com maior desenvolvimento do concepto (Mann and Lamming, 2001) e maior probabilidade de gestação. O objetivo desse estudo foi avaliar se a vascularização do CL impacta a taxa de concepção de receptoras Girolando submetidas a transferência de embrião em tempo fixo (TETF). Vacas (n=129) e novilhas (n=352) foram sincronizadas com o seguinte protocolo de TETF: D-11, 2mg de benzoato de estradiol i.m (Gonadiol®, Zoetis, Brasil) administrados concomitante à inserção do dispositivo intravaginal de 1,9g de P4 (CIDR®, Zoetis, Brasil); no D-4, administrou-se 12,5mg de dinoprost i.m (Lutalyse®, Zoetis, Brasil); no D-2, 1mg cipionato de estradiol i.m (vacas) ou 0,5mg i.m (novilhas) (ECP, Zoetis, Brasil) e retirada do CIDR; no D7 foi realizada a transferência de embriões em animais com CL, avaliado através de ultrassonografia color Doppler (Mindray Z5 Vet, DPS®). Neste momento foi determinado o grau de vascularização do CL: perfusão sanguínea periférica e central (PPC), perfusão sanguínea periférica apenas (PP), ausência de perfusão sanguínea (AP). A transferência de embriões foi realizada no corno uterino ipsilateral ao CL, foram utilizados embriões produzidos *in vitro* frescos. O diagnóstico de gestação foi realizado no D32 e D60. Avaliou-se a taxa de prenhez dos animais de acordo com a classificação do CL no momento da TETF. Para avaliar as variáveis binomiais utilizou-se o PROC GLIMMIX do SAS (Cary, USA). Foi considerado significância quando $P \leq 0,05$ e tendência quando $P \leq 0,10$. Em novilhas, 68% (241/352) apresentaram CL PPC, 26% (90/352) PP e 6% (21/352) AP, já nas vacas, 74% (96/129) apresentaram CL PPC, 23% (30/129) PP e 2% (3/129) AP. Em novilhas o CL PPC apresentou maior taxa de concepção aos 30 dias [56% (135/241); $P=0.05$] em relação ao CL AP [33,3% (7/21)], sendo que o CL PP não diferiu dos demais [50% (45/90); $P>0.10$]. Em vacas, não houve diferença na taxa de prenhez entre as classes de perfusão sanguínea do CL [PPC=42,1% (39/93); PP=40% (12/30); AP=33,3% (1/3); $P=0.94$]. Não houve efeito da classe do CL na perda de gestação entre 30 e 60 dias nas novilhas [PPC=9,6% (15/135); PP=11,1% (6/45); AP = 14,3% (1/7); $P=0.90$] e em vacas [PPC=17,5% (7/40); PP=16,6% (2/12); AP 0% (0/1) $P=0.90$]. Em conclusão, novilhas com ausência da perfusão do CL apresentaram menor taxa de concepção, entretanto apenas 6% dos animais apresentaram esse grau de vascularização; já em vacas, este efeito não foi observado e somente 2% dos animais apresentaram ausência da perfusão do CL. A utilização dessa técnica de avaliação de vascularização do corpo lúteo não traria melhoras significativas na fertilidade em programas de TETF pois apenas 5% dos animais apresentaram ausência de perfusão do CL.

Efeito da dose de progesterona injetável de curta ação (50 vs 100mg) no dia 14 da ressinchronização superprecoce

Felipe Barbosa dos Santos ¹, Laís De Abreu ², Catussi Bruna Catussi ², Caroline Pereira Da Costa ², Jerónimo Moreno Cruz ³, Flávia Morag Elliff ², Mariana Dulce Delle Vedove Ortolan ², Rodolfo Daniel Mingotti ², Luciano Penteado Da Silva ¹, Pietro Sampaio Baruselli ²

¹ FIRMASA - Firmasa - Tecnologia Para Pecuária, Ltda (LONDRINA - PR), ² USP - Universidade de São Paulo (São paulo - SP), ³ UNC - Universidade Nacional da Colômbia (Colômbia)

O presente estudo avaliou o uso de diferentes dosagens de progesterona injetável (P4) de curta ação (Afisterone[®], Hertape Calier, Juatuba, Brasil) no protocolo de ressinchronização superprecoce. Para tal, foram usadas 690 vacas, sendo 635 da raça Nelore (*Bos indicus*) e 55 cruzadas (*Bos taurus x Bos indicus*), ECC médio de 2,99±0,4, oriundas de três propriedades situadas no Estado do Paraná, Brasil; [Fazenda A (n=162), Fazenda B (n=333) e Fazenda C (n=195)]. Na primeira IATF a taxa de concepção foi de 55,7% (384/690). Os animais identificados como não gestantes (n=306) foram ressinchronizados e reinseminados. O protocolo de ressinchronização consistiu de inserção de dispositivo de P4 (Fertilcare 1200[®]; Vallé, Montes Claros, Brasil) 14 dias (D14) após a 1^a IATF em todos os animais do lote, associado ou não, a diferentes doses de P4 injetável de curta ação *i.m.*, de acordo com os seguintes tratamentos: Grupo Controle [somente dispositivo intravaginal de liberação de P4; n=101], Grupo P4-50 [50mg de P4 injetável (Afisterone[®], Hertape Calier, Juatuba, Brasil); n=100] e Grupo P4-100 [100mg de P4 injetável (Afisterone[®], Hertape Calier, Juatuba, Brasil); n=105]. No dia 22 (D22) foi realizada a remoção do dispositivo intravaginal com P4 e avaliação ultrassonográfica transretal, em frequência de 7,2 MHz (SonoScape[®]S8). Realizou-se o diagnóstico de gestação pela funcionalidade do CL, através do modo Color Doppler; tendo como referência fluxo sanguíneo >25% para vacas prenhes. As vacas diagnosticadas como não gestantes foram tratadas com 0,530 mg de cloprostenol sódico *i.m.* (Ciosin[®], MSD, São Paulo, Brasil) associado a 1 mg de CE *i.m.* (Fertilcare Ovulação[®], Vallé, Montes Claros, Brasil) e 300 UI de eCG *i.m.* (Folligon[®], MSD, São Paulo, Brasil). A segunda IATF foi realizada 48 horas após a retirada do dispositivo de P4 (D24). O diagnóstico de gestação da ressinchronização foi realizado 30 dias após a inseminação (D54). Os dados foram analisados pelo procedimento GLIMMIX do SAS. Não foi observada interação entre grupo*categoria (P=0,68) e grupo*fazenda (P=0,31) na taxa de prenhez da ressinchronização. Não houve diferença na taxa de prenhez conforme os grupos experimentais [Grupo Controle= 35,7% (36/101); Grupo P4-50= 37,0% (37/100); Grupo P4-100= 39,1% (41/105); P=0,80]. Conclui-se que o uso de diferentes dosagens de P4 injetável de curta ação não incrementou a taxa de prenhez ao protocolo de ressinchronização aos 14 dias com o uso de ultrassonografia Doppler.

Agradecimentos: Firmasa[®] – Tecnologia Para Pecuária Ltda., Fazenda Empeyreo, Rancho Ouro Fino e Agropecuária Casacchi.

Determinação dos níveis plasmáticos de Progesterona obtidos com diferentes doses de progesterona por via intramuscular em leitoas pré-púberes

Gisele Mouro Ravagnani ¹, Bruna Martins Guerreiro ², Cristian Hernando Martinez Garcia ¹, Bruno Bracco Donatelli Muro ¹, Maitê Vidal Mendonça ¹, Marina da Silva Passarelli ¹, Ana Paula Pinotti Pavanelli ¹, Denis Hideki Nakasone ¹, Bruno Gonzalez de Freitas ², Andrea Panzardi ², Rodolfo Daniel Mingoti ¹, André Furugen Cesar de Andrade ¹

¹ NPS - FMVZ/USP - Núcleo de Pesquisa em Suínos (Pirassununga - SP), ² Ourofino Saúde Animal - Ourofino Saúde Animal (Cravinhos - São Paulo), ³ VRA - FMVZ/USP - Departamento de Reprodução Animal (Av. Orlando Marques de Paiva, 87 - cidade universitária - São Paulo)

O controle do ciclo estral das fêmeas utilizando biotécnicas como a IATF possibilita a programação do manejo e do ciclo de produção das propriedades, sendo esta pouco difundida na suinocultura quando comparada às outras espécies. A progesterona (P4) determina a duração do ciclo estral por meio do bloqueio da secreção do GnRH e consequentemente de LH e a ovulação (DIAS et al., *Domest Anim Endocrinol*, 39:155-162, 2010). Sabe-se que a utilização da P4 poderá auxiliar no controle farmacológico do ciclo estral das fêmeas suínas, possibilitando a programação reprodutiva, e consequentemente de todo o ciclo de produção das granjas. O objetivo deste estudo foi avaliar o perfil plasmático de P4 em fêmeas suínas após o tratamento com diferentes doses de P4 (Sincrogest[®] Injetável, Ourofino Saúde Animal, Cravinhos, Brasil), pois espera-se que a utilização deste fármaco promova perfil plasmático de P4 semelhante à fase do diestro do ciclo estral. Foram utilizadas 18 leitoas pré-púberes, com aproximadamente 100-120 dias de idade, divididas em 3 grupos experimentais: 7ml de solução fisiológica (G1-Controle, n=6), 3,5mL de Sincrogest[®] Injetável (G2-525mg, n=6) e 7mL de Sincrogest[®] Injetável (G3-1050mg, n=6). Os níveis séricos de P4 foram determinados a partir de sangue coletado antes dos tratamentos, 12 horas após; 1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9 e 10 dias após a administração do produto. As dosagens de progesterona plasmáticas foram realizadas no Laboratório de Endocrinologia Animal da UNESP-Araçatuba. Os dados foram submetidos ao programa SAS (versão 9.4) e o delineamento experimental foi em bloco onde cada leitoa foi considerada uma unidade experimental, o nível de significância considerado foi de 5%. A concentração plasmática máxima de P4 após a aplicação do tratamento foi de 21,37±0,97ng/m para G2 24 após a aplicação e 31,04±1,68ng/mL para G3, 12 horas após a aplicação, respectivamente, sendo estes valores similares aos encontrados na literatura, já no G1, como era esperado, a concentração sérica de P4 foi de 0ng/mL, pois as leitoas eram pré-púberes. Em porcas, os níveis de P4 são de 0,5ng/mL na fase folicular e de 35ng/mL no 15º dia do ciclo estral (fase luteínica) seguido de uma queda na concentração em 48 horas (STABENFELDT et al., *J Reprod Fert*, 20:443-449, 1969). A partir desses resultados é possível afirmar que a utilização do Sincrogest[®] Injetável resulta em concentrações plasmáticas próximas às encontradas no diestro, e com isso é possível dar continuidade nos estudos.

Administração de Benzoato de Estradiol em protocolos de ressincronização iniciados 13 dias após a inseminação

Amanda de Barros Martins ¹, Rodrigo Domiciano Alvarez , Jairo Pereira Neves ¹, Carlos Antônio de Carvalho Fernandes ¹, Miller Pereira Palhão ¹

¹ UNIFENAS - Universidade José do Rosário Vellano (Rod. MG 179, Km 0 Câmpus
Universitário. Alfenas/ MG. CEP: 37132-440)

Objetivou-se avaliar a taxa de gestação em animais submetidos ao protocolo de ressincronização no D13, utilizando Benzoato de Estradiol (BE) como agente de sincronização da onda folicular. No estudo foram utilizadas 428 fêmeas Nelore, provenientes de Porto Esperidião, MT. Os animais foram mantidos em sistema de manejo extensivo, suplementados com sal mineral e livre acesso à água. Todos receberam um mesmo protocolo hormonal, considerando como D0 o dia da 1ª IATF. No D-10: inserção do dispositivo intravaginal de 1g de progesterona (P4) (Primer®, Agener União, SP) e 2mg de BE (Ric-BE®, Agener União, SP); D-2: retirada do implante, 0,150mg de D-Cloprostenol (Prolise®, Agener União, SP), 10mg de FSH (Folltropin-V, Agener União, SP) e 0,5mg de Cipionato de Estradiol (SincroCP®, Ouro Fino, SP). Treze dias (D13) após 1ª IATF, os animais foram distribuídos entre os grupos Ressinc (n=314) e controle (n=114). No Ressinc, os animais receberam protocolo hormonal semelhante ao primeiro, diferindo a concentração da primeira dose de BE (1mg) e, no D21 diagnosticadas como positivas (CL vascularizado) ou negativas (sem CL ou CL sem vascularização, segundo Guimarães et al., 2015). O exame do D21 foi realizado pela ultrassonografia em modo Doppler (S6V Sonoscape). Nos animais negativos o segundo protocolo hormonal foi concluído, sendo os animais reinseminados 2 dias mais tarde (D23). Os animais do grupo controle não foram submetidos ao segundo protocolo, sendo diagnosticados apenas em D30. O escore de condição corporal (ECC) foi semelhante entre os grupos animais: $2,6 \pm 0,2$ e $2,5 \pm 0,1$, respectivamente, Ressinc e Controle. As variáveis ECC, tipo de implante (1, 2 ou 3 usos), raça (Cruzados ou Nelore), categoria (Primíparas ou Multíparas), touro e inseminador foram testados para taxa de gestação aos 30 dias. A taxa de gestação no diagnóstico realizado com Doppler (D21) foi contrastada ao diagnóstico convencional (D30) e, a taxa de gestação aos 30 dias também foi comparada entre os grupos Ressinc e controle. Todas as comparações foram realizadas utilizando o procedimento *PROC FREQ* do SAS, considerando significativas as probabilidades menores que 5%. Nenhum dos efeitos periféricos demonstraram significância sobre a taxa de gestação aos 30 dias (valor de p variou de 0,13 a 0,98), porém houve uma diferença ($P < 0,0001$) entre o diagnóstico realizado no D21 (63,4% em modo Doppler -199/314) e no D30 (59,3% no modo B - 254/428). O protocolo de ressincronização não afetou significativamente ($P < 0,7$) a taxa de gestação aos 30 dias entre os grupos controle (57,9%, 66/114) e Ressinc (59,9%, 188/314). A diferença entre D21 e D30 pode se dar por vários motivos, entre eles uma ovulação tardia. Contudo, o protocolo hormonal aplicado para ressincronização iniciado no D13 e utilizando 1mg de BE não afetou a taxa de concepção da primeira IATF.

Agradecimentos: FAPEMIG (Suporte financeiro) e as propriedades onde foi realizado o estudo.

Efeito do tratamento adicional de prostaglandina ao final de protocolo de ressincronização precoce em vacas taurinas: influência do escore de condição corporal e ciclicidade sobre a taxa de prenhez

Emidio Ferreira Machado Filho ¹, Aline Policarpo Baioco ¹, Getúlio José Milhoreto Da Silveira ¹, João Furtado Colombo ¹, Ana Paula Martini ¹, Hirya Fernandes Pinto ², Giovane Wolffenbutter Carloto ², normélio alves neto ⁴, Izaías Claro Junior ⁴, Fabio Gallas Leivas ², Manoel Francisco de Sá Filho ³, Gilson Antonio Pessoa ¹

¹ UFMSM - Universidade Federal de Santa Maria (Santa Maria-RS), ² Unipampa - Universidade Federal do Pampa (Campus Unipampa, Uruguaiana-RS), ³ Alta Genetics - Alta Genetics (Uberaba-MG), ⁴ Zoetis - Zoetis (São Paulo)

O objetivo foi avaliar a influência do momento da aplicação de prostaglandina em relação à ciclicidade e ECC sobre a taxa de prenhez em protocolos de ressincronização. O experimento foi desenvolvido na estação reprodutiva 2017-2018 (ER) em 10 fazendas das regiões centroccidental e sudoeste do Rio Grande do Sul, Brasil. Um total de 2.347 vacas taurinas apresentando ECC de $2,69 \pm 0,15$ foram utilizadas neste estudo. No dia -11 (D0) todas as vacas receberam protocolo de sincronização do estro com benzoato de estradiol (2 mg, im, Gonadiol®, Zoetis) e um dispositivo intravaginal de progesterona novo (CIDR®, Zoetis, Brasil). No dia -4 (D7), administraram-se dinoprost trometamina (12,5 mg, im, Lutalyse®, Zoetis), no dia -2 (D9) cipionato de estradiol (0,6 mg im, ECP®, Zoetis) e eCG (300 UI, im, Novormon®, Zoetis) além da remoção do CIDR®, sendo a IATF realizada no dia 0 (D11). No D23 todos os animais receberam um CIDR® e aplicação de Gonadiol® independente de diagnóstico de gestação (DG), isto é, vacas gestantes e não gestantes. No D30 realizou-se diagnóstico de gestação por US, nas vacas gestantes (43,5%; 1021/2347) o CIDR® foi retirado e estas liberadas, enquanto vacas não gestantes (56,5%; 1326/2347) foram avaliadas quanto a ciclicidade, ou seja, presença (cíclica) ou ausência de CL (anestro) e receberam uma dose de Lutalyse®. No D32 os animais foram divididos em 2 grupos (G1 e G2), ambos grupos receberam Novormon® e ECP®, e o G2 recebeu uma segunda dose de Lutalyse®. A IATF foi realizada no D34 e o DG no D64. Os dados foram analisados usando o procedimento Glimmix e o procedimento de frequência do SAS. A taxa de prenhez média da ressincronização foi similar entre os grupos, sendo G1 de 39,5% (266/674) e G2 de 40,6% (265/652). A taxa de prenhez relacionada à ciclicidade também foi similar entre os grupos G1 e G2, sendo 31,1% (108/347) e 38,6% (141/365) nas vacas em anestro e 48,3% (158/327) e 43,4% (124/286) nas cíclicas, respectivamente. Observou-se que vacas cíclicas obtiveram taxas de prenhez superiores (46%; 282/613) quando comparadas às vacas em anestro (35%; 249/712; $P=0,01$). Neste estudo, 71,5% (1679/2347) das vacas encontravam-se na categoria de $ECC \leq 2,75$. No grupo $ECC \leq 2,75$ apenas 24,6% das vacas apresentavam CL no D0, enquanto que no grupo ≥ 3 havia 81,4% das vacas cíclicas ($P < 0,001$). No início da ressincronização, o grupo $ECC \leq 2,75$ apresentava 57,5% das vacas cíclicas e grupo ≥ 3 havia 87,7%. A taxa de prenhez a 1ª e 2ª IATF foi superior nas vacas com $ECC \geq 3$ (66,5%, 444/668 e 46,0%, 103/224) comparado as vacas com $ECC \leq 2,75$ (34,3%, 576/1679 e 38,8%, 428/1102; $P=0,0230$), respectivamente. Deste modo conclui-se que não houve diferenças na taxa de prenhez entre os grupos avaliados quanto o momento da aplicação de prostaglandina, entretanto vacas cíclicas obtiveram taxas de concepção superior às em anestro tanto na 1ª quanto

na 2ª IATF. Adequar o ECC no início da ER continua sendo um grande desafio com vacas taurinas no RS.

RESSINC 21: protocolo para ressincronização com intervalos de 21 dias e 100% de taxa de serviço - dados preliminares

João Paulo Nascimento Andrade ¹, Yuri Barbosa Guerson ¹, Marcos Henrique de Alcantra Colli ², Bruno Pena Carvalho ⁴, Fabiana Sonnewend ⁵, Júlio César Ferraz Jacob ¹, José Nélio de Sousa Sales ³, Marco Roberto Bourg Mello ¹

¹ UFRRJ - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (Seropédica-RJ), ² USP - Universidade de São Paulo (São Paulo - SP), ³ UFLA - Universidade Federal de Lavras (Lavras - MG), ⁴ EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Rio Branco - AC), ⁵ Autônoma - Médica Veterinária (Valença - RJ)

O objetivo do estudo foi desenvolver um protocolo de ressincronização adaptado ao cio de retorno, com intervalo de 21 dias entre IATFs. O experimento foi realizado na Fazenda Santana (Valença-RJ) utilizando 76 novilhas Nelores, nulíparas com peso vivo médio de 333,4kg, com fornecimento *ad libitum* de água e com suplemento mineral. Os tratamentos iniciaram-se em dia aleatório do ciclo estral, considerado como dia menos dez (D-10), quando as fêmeas receberam um dispositivo intravaginal (DI) contendo 1,9 g de progesterona de 3º uso (CIDR®, Zoetis, Brasil) e aplicação intramuscular (im) de 2,0 mg de benzoato de estradiol (SINCRODIOL®, Ourofino, Brasil). No D-2, o DI foi removido e aplicado 150 µg de cloprostenol (VETEGLAN®, Hertape, Brasil), 1 mg de cipionato de estradiol (E.C.P®, Zoetis, Brasil) e 300 UI de eCG (FOLLIGON®, MSD, Brasil). A IATF foi realizada no D0 em todos os animais. Após 12 dias (D12) da 1ª IATF, iniciaram-se os tratamentos da ressincronização, onde todas as fêmeas receberam novamente um DI de 3º uso. No D19, o DI foi removido e aplicado 300 UI de eCG. No D21, realizou-se o diagnóstico de gestação (DG) com ultrassom Doppler (Mindray-Z5VET) (Pugliesi et al., *Biology of Reproduction*, 95,1-12, 2014). O escore de vascularização do CL foi classificado em uma escala de 0 a 4 (0= 0%; 1= 1 a 25%; 2= 26 a 50%; 3= 51 a 75% e 4=76 a 100%) em que o animal com escore 0 ou 1 foi considerado não gestante e escore ≥ 2 , gestantes. Fêmeas consideradas não gestantes, imediatamente após o DG, foram inseminadas (2ª IATF) e receberam uma aplicação im de 0,1mg de gonadorelina (FERTAGYL®, MSD, Brasil). No D33, novilhas consideradas vazias na última avaliação receberam novamente um DI de 3º uso, repetindo o tratamento de ressincronização e a metodologia de DG descrita anteriormente para a realização da 3ª IATF. Realizou-se DG com ultrassom no módulo bidimensional (Mindray DP-2200 Vet) 12 dias após o último DG com Doppler para verificar a existência de falsos positivos e/ou negativos. A taxa de concepção foi analisada pelo teste do Qui-quadrado com nível de significância de 5%. No DG com Doppler não houve falso negativo e o falso positivo foi de 22 e 25%, respectivamente na 2ª IATF e 3ª IATF. Não foram observadas diferenças nas concepções da 1ª IATF 38% (29/76) com as ressincronizações na 2ª (46% - 18/39) e 3ª (36% - 8/22) IATF ($P>0,05$). Os resultados apresentados permitem concluir pela primeira vez ser possível controlar o ciclo estral de fêmeas bovinas, associado a um DG precoce, permitindo a inseminação de fêmeas a cada 21 dias sem necessitar da detecção de estro. Com o protocolo proposto, é possível

mimetizar o estado fisiológico de uma fêmea bovina cíclica, trabalhando com uma taxa de serviço de 100% durante a estação de monta e acumulando 72% de prenhez. O protocolo de ressincronização proposto apresentou concepções semelhantes aos da IATF convencional, proporcionando uma prenhez acumulada em nulíparas satisfatória, em apenas 42 dias.

Efeito de um único tratamento com kisspeptina ou acetato de busserelina no momento da inseminação artificial em tempo fixo na: dinâmica da dispersão da ovulação, taxa de ovulação e taxa de prenhez em novilhas Nelore pré-púberes

Marcos Henrique Alcantara Colli¹, Romulo Germano de Rezende¹, Flávia Morag Elliff¹, Guilherme Machado Zanatta¹, Rodolfo Daniel Mingoti¹, Laisa Garcia da Silva¹, José Ricardo Garla de Maio², Bruno Gonzalez de Freitas², Gustavo Guerino Macedo, Pietro Sampaio Baruselli¹

¹ VRA/USP - Departamento de Reprodução Animal (VRA-FMVZ-USP) (Departamento de Reprodução Animal (FMVZ-USP), Rua Prof. Orlando Marques de Paiva 87, CEP: 05508-270, Butantã, São Paulo, SP, Brazil;), ² Ouro Fino - Ouro Fino Saúde Animal (Rod. Anhanguera SP 330, Km 298, CEP 14140-000, Cravinhos, Brazil;), ⁴ UFU - Departamento de Reprodução Animal (FAMEV-UFU) (Departamento de Reprodução Animal, (FAMEV-UFU), Av. Pará 1720, CEP: 38400902, Umuarama, Uberlândia, MG, Brazil)

O objetivo dos experimentos foi avaliar os efeitos do tratamento com kisspeptina ou acetato de busserelina comparados a novilhas nelore não tratadas pré-púberes com idade de 14±0.9 meses, ECC 3.3±0.3 (1-5) e peso corporal 272±20.2kg. Os experimentos foram realizados em duas fazendas localizadas no estado do Mato Grosso do Sul, Brasil. As novilhas foram sincronizadas usando implante auricular contendo 3mg de Norgestomet (Crestar, Saúde Animal) associado ao tratamento i.m. de 1mg de BE (Fertilcare Sincronização, Vallée Saúde Animal) no D0. Oito dias após (D8), o implante auricular foi removido e 200 UI i.m. de eCG (Folligon, MSD), 0.5mg i.m. de CE (Fertilcare Ovulação, Vallée) e 0.265mg i.m. de PGF (Ciosin, MSD) foram administrados. No D10, as novilhas foram alocadas em um destes tratamentos: G1: sem tratamento adicional, G2: tratamento com 3mg i.m. de kisspeptina murina; e G3: tratamento com 0,01mg i.m. de acetato de busserelina no D10, em que apenas novilhas do experimento 2 foram submetidas à IATF. No experimento 1: 30 novilhas foram usadas, exames ultrassonográficos (US) foram realizados no D-10 e D0, para classificação de puberdade baseado na presença do CL; do D8 ao D11 (com 12h de intervalo entre os exames) para mensuração do maior folículo (LF) e identificar o momento da ovulação e no D17 para confirmar as ovulações. No experimento 2: 592 novilhas foram usadas. Exames de US foram feitos no D-10 e D10 para classificação de puberdade; no D8 e no D10 para mensuração do LF, no D17 para checar a taxa de ovulação; e para avaliar a taxa de prenhez por IA (P/IA) no D40. Foram usados os PROC GLM e PROC GLIMMIX dos SAS para análise dos dados. No experimento 1 não houve efeitos no momento da ovulação [G1=78.9±9.4h, G2=76.5±8.9h; G3=82.5±11.9h e G4=69.0±8.5h(P=0.82)] e tamanho do LF pré-ovulatório [G1=9.5±1.3mm, G2=9.9±0.9mm; G3=10.5±2.1mm e G4=10.8±1.2mm (P=0.34)]. No experimento 2 não houve efeito na taxa de ovulação [G1=84.5%(169/200); G2=88.9%(176/198) e GnRH=88.1%(171/194; P=0.38)]; na P/IA aos 30 dias

[Controle=44.5%(89/200); G3=43.4%(86/198) e GnRH=41.8%(81/194; P=0.77). Porém houve um efeito positivo (P=0.03) da expressão de cio entre o D8 e D10 na P/IA [Estro: 46.3%^a(217/468) x Sem Estro: 31.5%^b(39/124) porém não houve interação Trat*Estro (P=0.23)]. Houve efeito positivo (P=0.0004) ClasseFD no D10 na P/IA [$>10.6=50.3\%^a(152/302)$ x $\leq 10.6=35.9\%^b(104/290)$ porém não houve interação Trat*ClasseFD (P=0.29)]. Sem efeito na P/IA aos 60 dias [G1=43.0% (86/200); G2=40.4% (80/198) e G3=37.1% (72/194; P=0.56) e sem efeito na perda de prenhez entre 30 e 60d após IA [G1=3.4% (3/89); G2=7.0% (6/86) e G3=11.1% (9/81; P=0.17). Desta forma, é possível concluir que o tratamento com Kisspeptina (3.0mg) ou Acetato de Buserelina (0.01mg) não foram eficientes em melhorar a sincronização da ovulação, taxa de ovulação, P/IA aos 30 e 60d após IA e evitar a perda gestacional em novilhas nelore pré-púberes de 14 meses de idade.

Fatores que influenciam na taxa de concepção à TETF de receptoras da raça Holandesa avaliadas por ultrassonografia Collor Doppler

Flavio Aragon Lima², Romulo Germano de Rezende ¹, Sergio Soriano ², Alex Fagner sica ², Lais abreu ¹, Rodolfo Mingoti ¹, Flávia Morag Elliff ¹, Guilherme Zanatta ¹, Pietro Sampaio Baruselli ¹

¹ USP - Universidade de São Paulo (avenida professor orlando marques de paiva 87), ² FC - Fazenda Colorado (Araras SP)

Os objetivos do presente estudo foram: 1) avaliar a influência do fluxo sanguíneo do CL no momento da TETF na taxa de concepção (TC) aos 30 dias e perda gestacional de vacas holandesas em lactação e 2) avaliar os fatores que influenciam na TC de receptoras de embrião da raça holandesa em lactação. Os animais foram submetidos à avaliação ultrassonográfica modo B para aferir a ovulação ao protocolo de TETF. As vacas que apresentavam CL (n=358) foram classificadas como aptas a receberem um embrião. Todas as receptoras aptas foram submetidas a ultrassonografia modo Collor Doppler e foi avaliado o fluxo sanguíneo do CL (FSCL), seguindo o critério de avaliação de escore (0-4) de fluxo sanguíneo periférico e central. Após as avaliações de fluxo sanguíneo os animais foram classificados agrupados em: Fluxo excelente (N=79), Bom (N=251) e Ruim (N=28) para análise de TC de acordo com a o FSCL. As informações de DEL, número de lactações, produção de leite, apresentação de estro, e número de serviços foram coletadas, para estabelecimento de correlações a taxa de concepção. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o SAS, as variáveis relacionadas a TC, perda gestacional foram analisadas pelo procedimento GLIMMIX, e as correlações foram realizadas utilizando o procedimento CORR. Foi também realizada regressão multivariável/best model para estabelecer a equação de probabilidade de TC30 dias pelo procedimento GLMSELECT. A TC média dos animais classificados aptos pela ultrassonografia modo B foi de 35%. Não houve diferença significativa entre o Fluxo sanguíneo e TC aos 30 dias entre a classificação do FS: Excelente 42% (33/79); Bom 35% (89/251); e Ruim 18% (5/28) (P=0,14). As variáveis analisadas que possuem correlação significativa (valor de R seguido de valor de P) com a TC30D são: DEL - correlação negativa (R= -0,14 / P=0,007); FSCL no momento da TETF - correlação positiva (R= 0,12 / P=0,02); Número de serviços - correlação negativa (R= -0,12 / P=0,02); Não foram

observadas correlações entre taxa de concepção e apresentação de estro, produção de leite, e número de lactações. Foi estabelecida uma equação para probabilidade de concepção de receptoras da raça holandesa em lactação considerando as variáveis de maior influência onde: Probabilidade de Concepção (%;30dias) = 0.3894 - 0.0006*(DEL) + 0.2915*(Fluxo_total) - 0.0379*(número_lactações). Os dados obtidos neste estudo indicam que a avaliação do fluxo sanguíneo do CL, juntamente com a informações de DEL e número de lactações pode ser uma importante ferramenta para predição de concepção de vacas holandesas receptoras de embrião em lactação.

Influência da progesterona injetável na taxa de prenhez e perda gestacional em búfalas criadas extensivamente na Amazônia

Haroldo Ribeiro¹, Sebastião Tavares¹, Alan Diego de Farias¹, Álvaro Neto¹, Anelise Ramos¹, Satish Kumar Chahar¹

¹ UFRA - Universidade Federal Rural da Amazonia (Av. Tancredo Neves 1701 Montese, Belém-Pará)

O objetivo foi avaliar a influência da progesterona injetável na taxa de prenhez e da perda gestacional em búfalas criadas extensivamente, assim como, o efeito do escore da condição corporal (ECC) e hora da IATF após a aplicação do GnRH. 118 búfalas pluríparas com predominância da raça Murrah foram utilizadas, divididas em dois grupos: O Grupo Tratamento-GT (58 búfalas) recebeu o protocolo: D0 (à tarde), 2,0 mg de BE, (Sincrodiol®, Ouro Fino, São Paulo, Brasil, IM) associado ao implante intravaginal de P4 0,5g monodose (Primer®, Tecnopec, São Paulo, Brasil); D9 (a tarde), retirada de P4 + 0,5 mg de PGF2 α (Sincrocio®, Ouro Fino, São Paulo, Brasil, IM) + 400UI de eCG (SincroeCG®, Ouro Fino, São Paulo, Brasil, IM); D11 (a tarde), 25 μ g de GnRH (Gestran Plus®, Tecnopec, São Paulo, Brasil, IM); D12 (pela manhã) a IATF. Neste grupo quatro dias após a IATF (D16) pela manhã, as búfalas, receberam 150 mg (1,0 ml, I.M) de P4, (Sincrogest®, Ouro Fino, São Paulo, Brasil). O grupo controle-GC (60 búfalas) foi submetido ao mesmo protocolo do grupo tratamento sem o (Sincrogest®). As búfalas tanto do GC e GT, foram selecionadas de acordo com escore da condição corporal em três intervalos, 34 com escore de 2,5 a 2,75; 66 com escore de 3,0 a 3,5 e 18 com escore igual ou maior que 3,75. Com relação a hora da IATF após aplicação de GnRH, 112 búfalas foram computadas, 34 foram inseminadas entre 07:00 a 09:00hs, 52 entre 09:01 a 11:00hs e 26 búfalas foram inseminadas das 11:00 hs a 12.00hs, respectivamente. Para analisar taxa de prenhez e taxa de perda gestacional foi utilizado o teste Exato de Fisher, assim como, as demais variáveis. Foram considerados significantes valores de $p \leq 0,05$. O diagnóstico de gestação aos 30 dias, após a IATF, foi realizado com auxílio de um ultrassom. A taxa de prenhez geral aos 30 dias foi de 57,6% (68/118), no GT foi de 58,6% (34/58) e no GC foi 56,6% (34/60). Aos 90 dias, a taxa de prenhez geral foi de 54,2%, no GT manteve-se os 58,6%, no entanto, a taxa do GC foi 50% (30/60). Aos 140 dias, não houve alteração das taxa de prenhez e perda gestacional da encontrada aos 90 dias, não diferindo estatisticamente ($P > 0,05$). Não houve influência da progesterona injetável após a IATF na taxa de prenhez e perda gestacional. De acordo ECC, a taxa de prenhez foi de 69,6%, para o intervalo de 3-3.5, que apresentou diferença ($P < 0,05$) ao intervalo de 2.5-2,75 com 35,2%. As búfalas com $ECC \geq 3,75$ a taxa foi de 55,5%.

Não houve diferença ($P > 0.05$) em relação ao horário da IATF, o intervalo de 07:00-9:00hs, a taxa de prenhez foi de 58,8%, no intervalo de 09,01-11:00hs a taxa foi de 53,8% e de 51,8% das 11:00hs a 12:00hs, respectivamente. Conclusão, a utilização de 1,0ml de P4 injetável após a IATF, não melhorou significativamente a taxa de prenhez e a perda gestacional, no entanto, búfalas criadas extensivamente em várzea com ECC entre 3 - 3,5 mostraram taxas de prenhez maior do que as búfalas com ECC entre 2,5-2,7.

Alta contagem de folículos antrais está relacionada a maiores taxas de prenhez aos 30 e 60 dias em vacas Holandesas

Ricardo Guella Dröher^{1*}, Tamires Korchovei Sanches^{1*}, Amanda Fonseca Zangirolamo^{1*},
Fábio Morotti^{1*}, Marcelo Marcondes Seneda^{1*}

¹ *Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia para a Cadeia Produtiva do Leite (INCT-LEITE), Universidade Estadual de Londrina, Rodovia Celso Garcia Cid-Campus Universitário, Cx Postal 10.011, Londrina, Paraná. * Laboratório de Reprodução Animal (ReproA), DCV-CCA, Universidade Estadual de Londrina, PR, Brasil.*

A contagem de folículos antrais (CFA) é uma característica que tem sido vinculada ao desempenho reprodutivo das fêmeas bovinas de corte e leite, subespécie *taurus* e *indicus*. Apesar de dados iniciais do Hemisfério Norte terem vinculado alta CFA a características de fertilidade, trabalhos mais recentes apresentaram controvérsias quanto à relação da CFA e índices reprodutivos. Desta forma, para investigar a CFA e desempenho reprodutivo em rebanhos de leite no Brasil, o objetivo deste trabalho foi comparar o diâmetro do folículo dominante e a taxa de concepção em vacas Holandesas ($n = 100$) submetidas à inseminação artificial (IA), de acordo com os grupos de baixa, intermediária e alta CFA. Utilizando sêmen congelado de um único touro, após detecção de cio por observação visual, as vacas foram inseminadas por um único técnico. A CFA foi determinada no dia do cio com a utilização de aparelho de ultrassom equipado com um transdutor intravaginal convexo, com contagem dos folículos antrais ≥ 2 mm. Aos 30 e 60 dias após a IA, o diagnóstico ultrassonográfico de gestação foi efetuado. Os quartis foram estabelecidos como G-baixa (≤ 19 folículos, $n = 30$), G-intermediária (≥ 20 e ≤ 29 folículos, $n = 41$) e G-alta CFA (≥ 30 folículos, $n = 29$). As variáveis foram analisadas pelo modelo linear generalizado inserindo a CFA como efeito fixo e as médias comparadas pelo teste de Tukey. A taxa de concepção foi analisada pelo teste Qui-quadrado considerando $p \leq 0,05$. As fêmeas de intermediária CFA apresentaram maior diâmetro do folículo dominante no momento da IA ($17,9 \pm 2,6$ mm) em relação ao G-Alta ($16,0 \pm 2,6$ mm; $P = 0,027$). Porém as fêmeas de alta CFA apresentaram maiores taxas de concepção (55,2 e 48,3%) em relação ao G-intermediária (29,3 e 24,4%) aos 30 e 60 dias de prenhez, respectivamente ($P = 0,03$ e $P = 0,04$). O G-baixa não apresentou diferença significativa, entre os grupos de G-alta e G-intermediária, para diâmetro do folículo dominante no dia da IA ($16,9 \pm 2,8$) bem como para taxa de concepção (36,7% e 36,7%) aos 30 e 60 dias após IA, respectivamente. Apesar das recentes controvérsias quanto ao efeito da CFA sobre índices reprodutivos, os dados do presente estudo estão em

acordo com os primeiros relatos descritos na Europa, demonstrando melhor desempenho reprodutivo para fêmeas Holandesas com alta CFA.

Perfil de liberação de LH circulante após tratamento com prostaglandina F2 α em vacas ovariectomizadas

Natália Ávila de Castro ¹, Elizângela Mírian Moreira ³, Jéssica Andrade ^{2,3}, Paulo Marcos de Araújo Neves ^{2,3}, Izabela Cristina Lemos ^{2,3}, Vanessa Lemos de Souza ^{2,3}, Vanessa Rachele Ribeiro Nunes ^{4,3}, Renata Reis da Silva ³, George Moreira da Silva ^{4,3}, Augusto Schneider ¹, Luiz Francisco Machado Pfeifer ³

¹ UFPEL - Universidade Federal de Pelotas (Capão do Leão - RS, 96160-000), ² UNIR - Universidade Federal de Rondônia (Av. Pres. Dutra, 2967 - Olaria, Porto Velho - RO, 76801-059), ³ Embrapa - Rondônia - Centro de Pesquisa Agroflorestal de Rondônia (Rodovia BR-364, Km 5,5, Porto Velho - RO, 76815-800), ⁴ FIMCA - Faculdades Integradas Aparício Carvalho (R. das Ararás, 241 - Eldorado, Porto Velho - RO, 78912-640)

A capacidade da prostaglandina F₂ α (PGF) induzir ovulação em bovinos, por um mecanismo independente do mecanismo de luteólise, já foi demonstrada anteriormente (Leonardi et al., Theriogenology, 78:1578-82, 2012). Entretanto, o mecanismo pelo qual a PGF atua ainda não foi esclarecido. O objetivo deste estudo foi avaliar o padrão de liberação de LH após o tratamento com PGF em vacas ovariectomizadas. A hipótese testada foi que a PGF induz a liberação hipofisária de LH. Nesse estudo, vacas ovariectomizadas da raça Girolando (n=14) foram aleatoriamente separadas em três grupos para receberem três injeções i.m. (Hora 0, 1 e 2) de um dos seguintes tratamentos: 300 μ g de d-Cloprostenol (análogo de PGF; Croniben[®], Curitiba, Brasil; Grupo PG, n=5), 100 μ g de lecirelina (análogo de GnRH; Gestran plus[®], Tecnopec, São Paulo, Brazil; Grupo GnRH, n=5) ou PBS (Grupo CTL, n=4) sem pré-tratamento com esteróide gonadal. As coletas de sangue para determinar as concentrações de LH circulante, foram realizadas 2 h antes do início do tratamento (Hora 0) e a cada hora até 6 h após o início do tratamento. Entre 6 e 36 h as amostras de sangue foram coletadas a cada 6 horas. A concentração plasmática de LH foi analisada por radioimunoensaio. Os dados foram analisados por Two-way ANOVA, sendo as médias comparadas entre os grupos pelo teste de Tukey. Previamente ao início dos tratamentos (Hora 0), a concentração de LH foi semelhante entre os grupos (P = 0,97, 4,48 \pm 0,25 ng/mL). Entretanto, uma hora após as primeiras injeções, a concentração de LH foi maior (P \leq 13,24 ng/mL) em comparação com os grupos PG e CTL (5,23 \pm 0,50 e 4,22 \pm 0,47 ng/mL, respectivamente), sendo que esta diferença se manteve por 4 horas após o tratamento. Após esse período, os níveis foram semelhantes (P > 0,05) entre os três grupos. Durante todo o período analisado, o padrão de secreção de LH não diferiu entre os grupos PGF ou CTL (P > 0,05), se mantendo entre 3 e 8 ng/mL. Os resultados demonstraram que a solução injetável de PGF não induz aumento de secreção de LH em vacas ovariectomizadas. Esses resultados sugerem que a PGF pode participar da ovulação por um mecanismo local no ovário, entretanto, para confirmar essa inferência, mais estudos precisam ser realizados.

Efeito da utilização de implantes intravaginais de progesterona de segundo e terceiro uso na taxa de prenhez de vacas Nelore submetidas IATF

Rafael Andrade Silva ¹, Maria Luiza Machado Pereira ¹, Ana Carolina dos Santos Oliveira ¹,
Alexandre Link Gasparim ²

¹ FURB - Universidade Regional de Blumenau (Rua Antônio da Veiga, 140 - Itoupava Seca 89030-903 - Blumenau - SC), ² TAURA - TAURA Maximização Pecuária (AV 7 DE SETEMBRO, 635, Setor Brasil, DIANOPOLIS - TO)

O objetivo desse estudo foi avaliar a taxa de prenhez em matrizes bovinas protocoladas com implantes de progesterona reutilizados. O experimento foi realizado na fazenda Sonho Meu, no município de Almas-TO no período de janeiro a fevereiro de 2017. As 203 matrizes da raça Nelore foram alocadas em dois lotes, o primeiro (n=101) utilizou implantes de segundo uso e o segundo lote (n=102) foi protocolado utilizando implantes de terceiro uso. Em dia aleatório do ciclo estral, denominado dia zero (D0), as vacas receberam um dispositivo intravaginal contendo 1g de progesterona (Sincrogest[®], Ourofino) e administração de 2 mg de Benzoato de Estradiol (2ml, Sincrodiol[®], Ourofino). No dia oito do protocolo (D8), o dispositivo de progesterona foi removido e administrado 0,5 mg Clorprostenol Sódico (Sincrocio[®], Ourofino), 1 mg de Cipionato de Estradiol (Sincrodiol[®], Ouro Fino) e 300 UI de gonadotrofina coriônica equina, (SincroeCG[®], Ourofino). As matrizes foram inseminadas artificialmente em tempo fixo no dia 10 (D10) com sêmen congelado de um touro da raça Angus. Trinta dias após as inseminações, as vacas foram submetidas a exames ultrassonográficos do útero (A5 Vet, transdutor transretal linear de 7,5 MHz, Sonoscape[®], China). As matrizes prenhes foram separadas das vazias e as últimas colocadas junto aos touros da propriedade para serem cobertas naturalmente. Os dados foram analisados utilizando teste Qui-quadrado com nível de significância de P<0,05 pelo software IBM SPSS Statistics 22. Entre as 203 matrizes bovinas submetidas a IATF, 94 animais receberam diagnóstico de gestação positivo, totalizando 46,3% do rebanho protocolado. Não houve diferença pelo nível de significância entre os dois lotes, o de 2º uso obteve 50,5% de prenhez (n=51), enquanto o lote de 3º uso apresentou 42,2% (n=43) P=0,2336. Os resultados deste trabalho confirmam o que já foi amplamente comprovado, que é possível utilizar implantes intravaginais de progesterona de segundo e terceiro uso sem que haja prejuízo nas taxas de prenhez, demonstrando a eficácia do dispositivo intravaginal de terceiro uso ressaltando o impacto ambiental positivo a partir da reutilização destes.

Influência da dificuldade de inseminação, temperamento e cortisol plasmático sobre a taxa de concepção de vacas e novilhas Nelore inseminadas em tempo fixo

Ana Carolina Bahia Teixeira ¹, Amanda Guimarães da Silva ², Juliana Wilke Diniz Horta ¹, Iuri Antunes Pereira Lima ¹, Paloma Clemente Pinto da Silva ¹, Emmanuel Henrique Oliveira Costa ¹, Isabella Marconato Noronha ³, Hugo Borges Graff ⁴, André Luís Rios Rodrigues ², Felipe Zandonadi Brandão ², Rogério Fonseca Guimarães Peres ^{5,3}, Leticia Zoccolaro Oliveira ¹

¹ UFMG - Universidade Federal de Minas Gerais (<https://vet.ufmg.br/>), ² UFF - Universidade Federal Fluminense (<http://www.uff.br/veterinaria/>), ³ FMVZ UNESP Botucatu - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP Botucatu (<http://www.fmvz.unesp.br/#!/graduacao/medicina-veterinaria/>), ⁴ AFB - Agropecuária Fazenda Brasil (<http://agropecuariaafb.com.br/>), ⁵ ABS - ABS PecPlan (<https://www.abspecplan.com.br/>), ⁶ Fazenda Jatobá - Fazenda Jatobá (www.grupojatoba.com.br), ⁷ EPAMIG - Departamento de Pesquisa, Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais, EPAMIG

O objetivo foi avaliar a influência do estresse e da dificuldade de inseminação (DifIA) sobre a fertilidade de fêmeas Nelore submetidas à IATF. Foram coletados dados de primeiro serviço de 165 fêmeas criadas a pasto, sendo 72 novilhas e 93 vacas pluríparas com 50 dias pós-parto (CEUA UFF 884/2016). As fêmeas receberam protocolo de IATF a base de estrógeno e progesterona (P4) e foram inseminadas com sêmen de quatro touros Angus, homoganeamente distribuídos, por dois inseminadores. No dia da retirada do implante de P4 (D9), anotou-se nota de temperamento (NTe; 1=calmo e 5=agitado), tempo da saída do brete (TSB) e coletou-se sangue das novilhas (punção da veia coccígea). No dia da IATF (D11) cada animal recebeu uma nota pela DifIA (1 a 3) e o tempo para se completar cada inseminação foi cronometrado (tempo de IA). Aos 40 dias após IATF a gestação foi diagnosticada. As dosagens séricas de cortisol foram determinadas por radioimunoensaio. A taxa de concepção (TC) foi analisada por regressão logística no SAS e as médias foram comparadas por teste de Tukey, considerando $P < 0,05$. A TC total foi 40% (66/165), sendo 36% (33/93) para vacas e 46% (33/72) para novilhas ($P = 0,124$). Não foi observada significância para touro, ECC ou inseminador sobre a TC e não foi observado efeito de Nte sobre TC, seja para pluríparas (N_{Te2}=36%, n=33; N_{Te3}=38%, n=44; N_{Te4}+N_{Te5}=25%, n=16), novilhas (N_{Te3}=50%, n=38; N_{Te4}+N_{Te5}=41%, n=34) ou ambas categorias avaliadas em conjunto (N_{Te2}=36%, n=33; N_{Te3}=44%, n=82; N_{Te4-5}=36%, n=50); ($P > 0,05$). Animais N_{Te2} saíram mais lentamente ($P < 0,001$) do brete do que animais N_{Te3}, e estes mais lentamente ($P < 0,001$) que animais N_{Te4-5}. A DifIA foi o fator que mais influenciou a TC quando os dados de vacas e novilhas foram analisados em conjunto, visto que uma tendência ($P = 0,082$) para maior TC foi observada nos animais em que não existiu dificuldade de IA (DifIA 1; TP=42%, n=143) em comparação aos animais que apresentaram moderada ou alta dificuldade (DifIA 2 + DifIA3; TP=27%, n=22). Foi observado menor ($P < 0,001$) tempo de IA para DifIA1 (17:31±06:02seg) do que para DifIA2e3 (30:10±15:45seg). Apenas amostras de novilhas com DifIA1 foram escolhidas para dosagem de cortisol. Quando os dados de cortisol foram separados em quartis, foi interessante notar que grupos com maiores ($P < 0,05$) níveis de cortisol apresentaram maiores ($P < 0,05$) médias Nte. Porém, a diferença na TC entre estes grupos de animais foi apenas numérica ($P > 0,05$), de modo que a TC (59%) das novilhas menos reativas (cortisol=4,12±1,12 ng/mL; N_{Te}=3,2±0,6; n=22) não diferiu ($P > 0,05$) da TC (41%) das mais agitadas (cortisol=7,76±1,33 ng/mL; N_{Te}=3,8±0,8; n=22). Concluiu-se que a avaliação subjetiva (N_{Te}) e numérica (TSB) do temperamento estão relacionadas com o nível de estresse do animal, embora estes parâmetros não tenham afetado a TC deste estudo. Porém, menor fertilidade na IATF pode ser observada naqueles animais em que se observa maior dificuldade e/ou tempo necessário para se completar a IA.

Bainha de inseminação artificial com três saídas para o sêmen na taxa de prenhez de vacas *Bos indicus* submetidas à IATF

Osnir Yoshime Watanabe ¹, Luiz Manoel Souza Simões ², João Paulo Martinelli Massoneto ³,
Luiz Antonio Scandiuzzi Junior ³, Leandro Inague , José Nélio Sousa Sales ²

¹ WTA - Watanabe Tecnologia Aplicada (Cravinhos – SP, Brasil), ² UFLA - Universidade Federal de Lavras (Lavras – MG, Brasil), ³ Agropecuária Água Preta S.A. (Cocalinho – MT, Brasil)

O objetivo desse estudo foi avaliar o efeito da bainha de inseminação artificial 3W na taxa de prenhez de vacas *Bos indicus* lactantes submetidas a protocolo de sincronização da ovulação a base de progesterona (P4) e estradiol. No estudo foram utilizadas 797 vacas Nelore lactantes com escore de condição corporal (ECC) de 2,71±0,01 (escala de 1 a 5) e pós-parto entre 30 e 60 dias. Em dia aleatório do ciclo estral (D0), as vacas receberam 2mg de benzoato de estradiol (BE; RIC-BE®, Tecnopec, Brasil) e um dispositivo intravaginal de P4 (Primer®, Tecnopec, Brasil). Oito dias depois (D8), o dispositivo de P4 foi removido e as vacas receberam 500mg de Cloprostenol (Estron®, Tecnopec, Brasil), 300 UI de eCG (Folligon®, MSD, Brasil) e 0,6mg de cipionato de estradiol (ECP®, Zoetis, Brasil). As vacas foram submetidas à IATF 48 horas após a retirada do dispositivo de P4 (D10). Nesse momento, as vacas foram distribuídas aleatoriamente em dois grupos (Grupo Controle e Grupo 3W). No Grupo Controle, vacas foram inseminadas com bainha de inseminação artificial com uma saída para o sêmen (Bainha Evolution, WTA, Brasil). No Grupo 3W, vacas foram inseminadas com bainha de inseminação com três saídas para o sêmen (Bainha 3W, WTA, Brasil). As inseminações foram realizadas por cinco técnicos experientes que não tinham conhecimento prévio dos tratamentos. O diagnóstico de gestação foi realizado por ultrassonografia 30 dias após a IATF. A análise estatística foi realizada pelo procedimento GLIMMIX do SAS. Não houve interação entre Tratamento/ECC e Tratamento/Inseminador. Verificou-se tendência de maior taxa de prenhez nas vacas do grupo 3W [Controle 40,3% (164/407) e 3W 42,1 (164/390); P=0,06]. Conclui-se que o uso da bainha para inseminação artificial com três saídas (bainha 3W) pode ser uma alternativa para aumentar à taxa de prenhez de vacas *Bos indicus* submetidas à IATF.

Taxa de prenhez em novilhas Angus resincronizadas 14 dias após a IATF utilizando ultrassonografia Color-Doppler para o diagnóstico de gestação

Santiago Pérez Wallace ¹, Manuel Agustin Silva ¹, Pablo Veiga ², Santiago Bidart ², Francisco Adrover ², Luis Oscar Zapata ³, Julian Bartolome ³

¹ Zoetis Argentina - Zoetis Argentina (Av. Fondo de la Legua 1171, 2º Piso. San Isidro; Buenos Aires, Argentina), ² Cabaña El Volcán - Cabaña El Volcán (Madres de Plaza 25 de Mayo 3020, Rosario, Santa Fe, Argentina), ³ FCV, UNLPam - Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Pampa (5 Oeste 11, Gral. Pico, La Pampa, Argentina)

O objetivo deste trabalho foi comparar a taxa de prenhez (TP) de novilhas da raça Aberdeen Angus ressincronizadas 14 dias e 22 dias após a IATF. O experimento foi realizado na Província de Buenos Aires, Argentina, onde 257 novilhas de dois anos de idade com um peso médio de 350 kg foram inseminadas seguindo um protocolo de IATF (D0= inserção de dispositivo intravaginal de 0.5g de P4 (DIB0.5®, Zoetis, Argentina) + 2mg de benzoato de estradiol (BE; Gonadiol®, Zoetis, Argentina); D7= retirada do dispositivo de P4 + 12.5mg de dinoprost trometamina (Lutalyse®, Zoetis, Argentina) + 0.5mg de cipionato de estradiol (CE; Cipiosyn®, Zoetis, Argentina) + 400 UI de gonadotropina coriônica equina (eCG; Novormon®, Zoetis, Argentina); D9= IA), e foram divididas aleatoriamente em dois grupos de tratamento, grupo Res14 e grupo Res22, para serem ressincronizadas com dois protocolos diferentes. Os animais do grupo Res14 (n=129) receberam um dispositivo de 0.5g de P4 (DIB®, Zoetis, Argentina) junto com 50mg de progesterona injetável de curta ação (Progesterona®, Laboratorio Rio de Janeiro, Argentina) 14 dias após a IA. No dia 22, o dispositivo intravaginal foi removido e o diagnóstico de gestação foi feito avaliando a vascularização do CL por ultrassonografia Color-Doppler (MyLabOne, Esaote, Holland; PRF=750Hz; Freq=6.6MHz; Ganho=55%). As novilhas não gestantes (vascularização <25% da área do CL ou ausência de CL) receberam 500µg de cloprostenol (Ciclase DL®, Zoetis, Argentina), 0.5mg de CE (Cipiosyn®, Zoetis, Argentina) e 400 UI de eCG (Novormon®, Zoetis, Argentina). A IA foi feita 48h mais tarde, no dia 24. No dia 30, o diagnóstico de gestação foi realizado por ultrassonografia modo B (HS-101V, Honda, Japan) para o cálculo da taxa de falso positivos (novilhas consideradas gestantes no dia 22, que foram não gestantes no dia 30). Os animais do grupo Res22 (n=128) receberam um dispositivo intravaginal de P4 e 1mg de BE no dia 22 após IA. A remoção do dispositivo foi feita no dia 30 junto com o diagnóstico de gestação por ultrassonografia modo B (DP10, Mindray, China). As Novilhas não gestantes receberam 500ug de cloprostenol (Ciclase DL®, Zoetis, Argentina), 0.5mg de CE (Cipiosyn®, Zoetis, Argentina), e 400 UI de eCG (Novormon®, Zoetis, Argentina). A IA foi feita 48h depois, no dia 32. Inseminações foram realizadas pelo mesmo inseminador usando apenas um touro. A TP foi comparada entre grupos por regressão logística usando software R Studio (R Foundation). Não foram encontradas diferenças estatísticas nas TP na primeira IATF (Res14= 60.4% vs Res22= 54.7%; P= 0.38), segunda IATF (Res14=47.1% vs Res22=50.0%; P=0.75), nem na TP acumulada (Res14=79.1% vs Res22=77.3%; P=0.73). A taxa de falsos positivos foi de 11.3% no grupo Res14 (10/88). Conclui-se que a ressincronização no dia 14 após IATF usando ultrassonografia Color-Doppler para o diagnóstico precoce de gestação pode ser utilizada em novilhas da raça Angus com resultados similares ao programa com intervalo de 32 dias entre IA.

Sincronização de estro com duas doses de cloprostenol em diferentes intervalos e inseminação artificial em cabras leiteiras

Gisele Caldas Bonato ¹, Joanna Maria Gonçalves de Souza-Fabjan ², Luana Rangel Côrtes ²,
Thaís de Almeida Oliveira ³, Aline Matos Arrais ⁴, Ana Lúcia Rosa e Silva Maia ², Jader
Forquim Prates ⁵, Maíra de Oliveira Veiga ⁶, Jeferson Ferreira da Fonseca ⁶

¹ UFV - Universidade Federal de Viçosa (Avenida Peter Henry Rolfs, s/n - Campus
Universitário, Viçosa - MG, 36570-900), ² UFF - Universidade Federal Fluminense (Av. Vital

Brazil Filho, 64, CEP 24230-340, Niterói, RJ, Brasil), ³ Unipac - Universidade Presidente Antônio Carlos (Av. Juiz de Fora, 1100, CEP: 36047-362, Juiz de Fora – MG, Brasil), ⁴ UFRRJ - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (Departamento de Reprodução e Avaliação Animal. Instituto de Zootecnia. Seropédica, Rio de Janeiro – Brasil), ⁵ IF Sudeste MG - Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologias Sudeste de Minas Gerais (Campus RIO POMBA – MG, Brasil), ⁶ Embrapa Caprinos e Ovinos - Embrapa Caprinos e Ovinos (Embrapa Gado de Leite, Núcleo Regional Sudeste da Embrapa Caprinos e Ovinos, Rodovia MG 133, km 42, Coronel Pacheco–MG, CEP: 36.155-000, Brasil)

O presente estudo avaliou a eficácia de dois protocolos para sincronização de estrocomdiferentes intervalos a fim de empregá-los em inseminação artificial (IA) em cabras leiteiras múltiparas da raça Saanen e Alpina em junho (fim da estação de acasalamento natural; 22° 16' 59" S) de 2017. Os animais foram divididos em dois grupos, de acordo com a raça, ordem de parto e escore da condição corporal, para receberem duas doses de 37,5 µg d-cloprostenol (Prolise[®], ARSA S.R.L., Buenos Aires, Argentina) por via latero-vulvar, em intervalos de tempo de 7,5 (n=23) e 11,5 (n=25) dias. A primeira dose foi feita entre 06:00 e 07:00 h e a segunda entre 17:00 e 18:00 h. O estro foi observado a cada 12 h após a segunda dose de d-cloprostenol por 96 h. As inseminações artificiais foram feitas com sêmen congelado comercial, descongelado por 30 s a 35 °C, a partir de 18 e 24 h (T7,5) e 10 e 24 h (T11,5) após o início do estro em função do intervalo para o estro e de acordo metodologia previamente estabelecida (Maia et al., Anim. Reprod. Sci., 181:16-23, 2017). Dados não paramétricos foram submetidos ao teste de qui-quadrado e os paramétricos (média ± DP) à análise de variância, todos os testes a um nível de significância de 5%. A percentagem de animais em estro foi 78,3% (18/23) para T7,5 e 80,0% (20/25) para T11,5 (P>0,05). Dos animais em estro, 77,7% (14/18) e 80,0% (16/20) apresentaram estro pela manhã para T7,5 e T11,5, respectivamente. Três animais de cada grupo foram submetidos à monta natural (MN) por apresentarem histórico frequente de repetição de estro e o restante foi submetido à IA. O intervalo para o estro foi menor (P<0,001) em T7,5 (40,0 ± 9,2 h) que em T11,5 (51,6 ± 11,7 h). Os intervalos da segunda dose de cloprostenol à IA e do início do estro à IA foram, respectivamente, de 64,4 ± 1,4 h e 26,1 ± 3,7 h para T7,5 e 68,8 ± 2,8 h e 16,6 ± 7,6 h para T11,5 (P<0,001). Dois animais foram a óbito no T7,5 no período de 60 dias da IA até o diagnóstico de gestação. Nenhum animal gestou após MN. Nos animais da IA, a taxa de concepção foi de 69,2% (9/13) para T7,5 e 70,6% (12/17) para T11,5 (P>0,05). Mesmo estando no final da estação reprodutiva, os protocolos foram capazes de sincronizar um percentual significativo de animais em uma janela curta de tempo, resultando em elevada taxa de concepção após IA.

Suporte Financeiro: CNPq (Projetos 310166 / 2012-8 e 479826 2013-7), Fapemig (Projeto CVZ-PPM 00201-17), e EMBRAPA (Projeto 02.08.02.005.00.04).

Influência das alterações do peso corporal, perda de escore de condição corporal e comportamento durante o período de manejo para IATF sobre a taxa de concepção de vacas Nelore

Maria Eduarda Scheel Bomtempo ¹, Jose Henrique Ayres Dias ¹, Katia Cristina Silva Santos ²,
Fabio Morotti ¹

¹ UEL - Universidade Estadual de Londrina (Rodovia Celso Garcia Cid - Pr 445 Km 380), ² Sheep Embryo - Sheep Embryo Reprodução Animal (Fazenda Santa Maria, Assai, Paraná)

O objetivo deste estudo foi avaliar a influência das alterações no peso corporal (PC), perda de escore de condição corporal (ECC) e comportamento durante o período de manejo de IATF sobre a taxa de concepção de vacas Nelore. O experimento foi conduzido na região do Pantanal com 189 multíparas entre (60 a 70 dias pós-parto), com idade média de 9 anos e mantidas em regime de pastejo contínuo de *Brachiaria humidicola*. As avaliações de peso, ECC e comportamento foram realizadas por um único avaliador 10 dias antes do início do protocolo de IATF (D₋₁₀), nos dias do protocolo (D₀, 8 e 10) e no diagnóstico de gestação (D₄₀). O peso foi determinado em balança digital (Kg), o ECC foi realizado com base na escala de 1 a 5 (Lowman et al., 1976) e o comportamento avaliado conforme os escores de recusa ao entrar no tronco (1 - sem recusa e 2 - com recusa) e de movimento no tronco (1 - calmo a 5 - violento); (Grandin, 1993). Em um dia aleatório do ciclo estral (D₀), as vacas receberam um dispositivo intravaginal de progesterona (P4) (2º uso, CIDR®, Zoetis, São Paulo, Brasil) e 2mg de benzoato de estradiol (Gonadiol®) por via intramuscular (IM). No D₈ retirou-se o dispositivo de P4 e foram administrados 300UI de eCG (Novormon®), 1mg de cipionato de estradiol (ECP®) e 16,75mg de dinoprost trometamina (Lutalyse®) por via IM. A IATF foi realizada 48 h após a indução da ovulação. O diagnóstico de gestação foi realizado por ultrassonografia transretal (transdutor linear de 5-MHz) 30 dias após a IATF (D₄₀). Para análise dos dados, a partir dos pesos e ECCs as vacas foram classificadas em ganhando ou mantendo/perdendo peso e ganhando ou mantendo/perdendo ECC. Quanto aos escores de comportamento, as vacas foram classificadas em calmas, reativas ou muito reativas. A taxa de concepção foi analisada pelo modelo de regressão logística e demais variáveis pelo modelo linear geral adotando $p \leq 0,05$. Os dias de manejo (D₋₁₀, 0, 8, 10 e 40) determinaram variação no peso (367 ± 40^b ; 349 ± 39^c ; 373 ± 41^b ; 363 ± 42^b e 393 ± 43^a ; $P=0,001$) e no ECC ($2,6 \pm 0,5^{ab}$; $2,4 \pm 0,2^b$; $2,5 \pm 0,2^{ab}$; $2,5 \pm 0,2^{ab}$ e $2,7 \pm 0,2^a$; $P=0,037$) respectivamente. Das 189 vacas acompanhadas durante todos os dias de manejo, 45,5% (86) foram classificadas como calmas, 32,3% (61) como reativas e 22,2% (42) como muito reativas. A taxa de concepção geral do estudo foi de 32,3% (61/189) e não sofreu influência do peso [ganhando = 32,9% (48/146) vs. perdendo/mantendo = 30,2% (13/43; $P=0,744$)], do ECC [ganhando = 35,1% (46/131) vs. perdendo/mantendo = 25,9% (15/58; $P=0,204$)] e do comportamento [calmas = 32,7% (28/86), reativas = 29,5% (18/61) e muito reativas = 35,7% (15/42; $P=0,204$)]. Nas condições deste estudo, os dias de práticas de manejo da IATF foram associados com variações no PC e ECC. No entanto, não foi identificado qualquer relação entre as variáveis analisadas e a taxa de concepção em vacas Nelore submetidas a IATF.

Suplementação de búfalas com gordura protegida: efeitos na produção leiteira e taxa de prenhez à IATF

Karine Casanova Da Silva ¹, Nathália Albaneze Anache ¹, Christopher Junior Tavares Cardoso ¹, Alexandre De Oliveira Bezerra ¹, Jean Do Prado Jara ², Érikliis Nogueira ^{4,1}, Mariane Gabriela Cesar Ribeiro Ferreira ⁵, Fabiana De Andrade Melo Sterza ^{5,1}, Walvonvites Baes Rodrigues ³, Naiara Zoccal Saraiva ⁶

¹ UFMS - Universidade Federal De Mato Grosso Do Sul (Campo Grande, MS, Brasil), ² UNIDERP - Universidade Anhanguera-Uniderp (Campo Grande, MS, Brasil), ³ FUNDECT - Fundação De Apoio Ao Desenvolvimento Do Ensino, Ciência E Tecnologia Do Estado De Mato Grosso Do Sul (Campo Grande, MS, Brasil), ⁴ EMBRAPA-PANTANAL - Empresa Brasileira De Pesquisa Agropecuária (Corumbá, MS, Brasil), ⁵ UEMS - Universidade Estadual De Mato Grosso Do Sul (Aquidauana, MS, Brasil), ⁶ EMBRAPA GADO DE LEITE - Empresa Brasileira De Pesquisa Agropecuária (Juiz De Fora, MG, Brasil)

Avaliaram-se os efeitos da suplementação lipídica com gordura protegida (GPR: óleo de palma) sobre os parâmetros produtivos, perfil metabólico e taxas de prenhez à IATF de 80 búfalas murras lactantes, aos 87,96±33,47 dias pós-parto, peso médio de 595±57,6 kg, idade entre 3 a 8 anos, população folicular de 8,8±3,3, em dois grupos experimentais: Gordura (G1) (EnerFAT®-150g/animal/dia, n=37) e Controle (G0) (EnerFAT®-0g/animal/dia, n=43). Ambos os grupos receberam suplementação de 2kg animal/dia de concentrado (20%PB), avaliação ginecológica por ultrassonografia, e período de adaptação da suplementação de 15 dias (total 142 dias de suplementação). Foram coletadas amostras de sangue antes do início da suplementação e no dia da IATF. Aos 30, 60 e 90 dias após o início da suplementação foram coletadas amostras de leite. As búfalas foram submetidas à IATF e resincronizadas após 30 dias. No dia 0 (D0), foi inserido o dispositivo intravaginal de progesterona com 0,6 g de P4 (Cronipress Monodose®, Biogenesis-Bago, Curitiba, PR) e 2 mg de Benzoato de Estradiol IM (RIC-BE®, Agener União, Brazil). No dia 9 (D9), removeu-se os dispositivos de P4 e aplicou-se 150 µg D-Cloprostenol IM (Prolise®, Arsa, Argentina) e 300 UI IM de Gonadotrofina Coriônica Equina (Folligon® 5000UI, MSD, São Paulo, Brasil). No dia 10 (D10), aplicou-se 1 mg de BE e após 36 horas (D12) foram submetidas à IATF. As variáveis incluídas no modelo foram: tratamento, categoria animal, inseminador, dias em lactação e produção leiteira, e quando não significativas excluídas. Para taxa de prenhez, assumiu-se uma distribuição binomial (prenhe e vazia), utilizando PROC GLIMMIX do SAS (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA), em um delineamento inteiramente casualizado. A taxa de prenhez à IATF, Resinc e IATF+Resinc, foram, respectivamente: G1 (62,2%;55,6%;60,9%), G0 (51,2%;66,7%;54,5%) (P>0,05). Não houve diferença entre os grupos (G1 e G0, respectivamente), na pesagem de leite corrigida para 4% de gordura, aos 30 dias de lactação (11,96±3,90; 11,66±4,71; P=0,5811), 60 dias (11,21±4,34; 11,52±4,92; P=0,8461) e aos 90 dias (10,70±3,76; 11,09±4,64; P=0,8631). Não houve diferença entre os níveis de concentração sanguínea de albumina (32,40±6,68; 26,62±8,05; P=0,07), colesterol total (121,40±25,88; 108,28±36,04; P=0,36), porém houve diferença entre os grupos, em relação à concentração de ureia (47,97±9,28; 28,60±6,11; P<0,0001) e glicose (65,61; 54,17; P=0,03). Em relação à composição do leite, não houve diferença dos parâmetros, gordura (5,42±1,56–5,15±1,63–P=0,47), sólidos não gordurosos (10,05±1,86; 10,35±1,73; P=0,37), densidade (36,12±7,20; 37,22±7,21; P=0,38), proteína (4,82,±2,65; 4,75±1,41; P=0,2), lactose (4,82±0,14; 4,82±0,19; P=0,89) e Ph (6,84±0,13; 6,85±0,07; P=0,99), de acordo com os tratamentos (P>0,05). Conclui-se que a suplementação com gordura protegida, na quantidade de 150g/animal, não apresentou efeito significativo nas taxas de prenhez, produção e qualidade do leite das búfalas.

Efeitos da narasina sobre a taxa de prenhez de vacas nelore sob pastejo e o desempenho de bezerros – resultados preliminares

Christopher Junior Tavares Cardoso¹, Ana Caroline Bini de Lima², Daniela Moraes Pereira², Geancarlos Carraro da Silva², Karine Casanova da Silva¹, Nathália Albanze Anache¹, Walvonvitis Baes Rodrigues³, Heitor Romero Marques Júnior⁴, Fabiana de Andrade Melo-Sterza², Érikllis Nogueira⁵

¹ UFMS - Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (Av. Senador Felinto Muller, 2443, CEP: 79070-900, Campo Grande, MS, Brasil.), ² UEMS - Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul (Rod. Aquidauana-UEMS, km 12 CEP: 79200-000, Aquidauana-MS, Brasil), ³ FUNDECT - Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul (R. São Paulo, 1436 - Monte Castelo, Campo Grande - MS, 79010-050), ⁴ UCDB - Universidade Católica Dom Bosco (Av. Tamandaré, 6000 - Jardim Seminario, Campo Grande - MS, 79117-010), ⁵ EMBRAPA - Pantanal - EMBRAPA - Pantanal (Rua 21 de Setembro, 1880 - Aeroporto, Corumbá - MS, 79320-900)

Os ionóforos têm sido utilizados por melhorar a conversão de forragem em proteína animal e aumentar a eficiência de utilização de nutrientes em bovinos. Avaliou-se os efeitos da mistura mineral (MM) com adição de narasina (Zimprova®; Elanco, Brasil) sobre o desempenho de bezerros e taxa de prenhez de vacas Nelore. Foram utilizadas 362 vacas multíparas, com peso inicial de 441,65±51,3 kg, ECC de 2,79±0,66 (escala de 1-5) e seus bezerros (n= 362, machos e fêmeas; 200 da raça Nelore e 162 cruzados ½ Nelore x ½ Aberdeen Angus). Os animais foram distribuídos nos tratamentos em um esquema fatorial 2x2: dois tratamentos (CONTROLE e NARASINA) e dois grupos raciais de bezerros (Nelore e ½ Angus x ½ Nelore), formando 4 grupos experimentais: NELCONTR: 100 vacas e 100 bezerros Nelore, CRUZCONTR: 82 vacas e 82 bezerros cruzados, NELTRAT: 100 vacas e 100 bezerros Nelore, e CRUZTRAT: 80 vacas e 80 bezerros cruzados. Todos os animais receberam a mesma dieta, diferindo-se apenas da inclusão de 13 ppm de narasina na MM (conforme recomendação do fabricante) para os grupos tratados. Os bezerros foram suplementados em creep-feeding e sem acesso ao suplemento das vacas. A suplementação começou 17 dias antes do início da estação de monta (EM) e foi respeitado um período de 7 dias para adaptação ruminal. A EM durou 90 dias, consistida de um protocolo básico de IATF com 3 manejos e 30 dias depois o repasse com touros na proporção 1:25, por 60 dias. Na IATF, as vacas foram inseminadas com sêmen de touros com fertilidade conhecida, distribuídos igualmente nos tratamentos. A suplementação das vacas e bezerros durou seis meses com término na desmama (8 meses). Os dados foram analisados pelo PROC GLIMMIX do SAS. O consumo de MM para as vacas CONTR foi em média 0.131 kg e 0.125 kg para o grupo NARASINA. Os bezerros cruzados consumiram em média 0.015 kg enquanto os nelore 0.010 kg. Não houve efeito (P>0,05) da narasina na taxa de prenhez na IATF (51.1% CONTR vs 51.7% NARASINA), bem como ao final da EM (75.0% CONTR vs 77.2% NARASINA). Por outro lado, o ganho de peso das vacas durante o período de suplementação foi maior (P=0.004) no grupo suplementado (6.63±30.40 kg CONTROLE vs 18.85±49.85 kg NARASINA). No entanto, o peso dos bezerros aos 205 dias apresentou interação (P=0.043), assim o efeito do tratamento depende do grupo racial. Verificou-se efeito do tratamento somente no grupo cruzado (CRUZTRAT 214.62±25.76^a kg vs. CRUZCONTR 198.14±26.40^b kg)

enquanto que nos bezerros Nelore não houve efeito do tratamento (NELTRAT 186.92±20.29 kg vs. NELCONTR 180.47±24.62kg). Efeito similar foi observado no ganho médio diário no qual o efeito do tratamento só foi observado nos bezerros cruzados (P=0.034; CRUZTRAT 0.87±0.12^a kg vs. CRUZCONTR 0.79±0.12^b kg) e (NELTRAT 0.74±0.09kg vs. NELCONTR 0.71±0.11kg). Conclui-se que a suplementação com narasina na MM durante a EM até a desmama promove aumento do peso das vacas e dos bezerros cruzados sem afetar a taxa de prenhez.

Eficiência do sêmen refrigerado na IATF de vacas Girolando

Oswaldo Almeida Resende ^{2,1}, Pedro Afonso P. Moreira Alves ¹, Rosane Scatamburlo Lizieire Fajardo ¹, Jaci de Almeida ⁴, Otávia Reis Silva ³, Marco Roberto Bourg de Mello ³

¹ PESAGRO-RIO - Empresa De Pesquisa Agropecuária Do Estado Do Rio De Janeiro (Rodovia BR 465, km 7. Seropédica - RJ - Brasil - CEP: 23890-000), ² EMBRAPA/CNPAB - Empresa Brasileira De Pesquisa Agropecuária/Agrobiologia (Rodovia BR 465, km 7 Seropédica - RJ - Brasil - CEP: 23890-000), ³ UFRRJ - Universidade Federal Rural Do Rio De Janeiro (Rodovia BR 465, km 7 Seropédica - RJ - Brasil - CEP: 23890-000), ⁴ UFMG/EV - Universidade Federal De Minas Gerais/Escola De Veterinária (Av. Pres. Antônio Carlos, 6627 - Pampulha, Belo Horizonte - MG, 31270-901)

AA inseminação artificial em tempo fixo (IATF) tem sido usada com sucesso em larga escala em bovinos de corte, promovendo grande impacto sócio econômico. Porém, a IATF em bovinos de leite ainda é pouco utilizada como alternativa viável a IA tradicional (com observação deaios), em face de variação nas taxas de concepção obtidas com sêmen congelado. Uma alternativa no intuito de promover incrementos nos índices reprodutivos, e consequentemente produtivos, tem sido pesquisar os efeitos da utilização de sêmen refrigerado a 5°C por até 48 horas, nos programas de IATF em rebanhos de corte e leiteiro. Portanto, o objetivo foi avaliar o uso de sêmen refrigerado, em um programa de IATF de vacas Girolando, comparando-o com sêmen congelado. Para tanto, foi realizado um experimento de IATF utilizando o rebanho de leite da PESAGRO RIO, em blocos ao acaso, no período de 2016 a 2017. O sêmen refrigerado foi proveniente de reprodutores oriundos de uma fazenda, localizada a 200 km de distância do rebanho a ser inseminado e o sêmen congelado foi comercial. Para refrigeração do sêmen, foram colhidos ejaculados de dois touros (Holandês e Gir, com idades de três anos), com parâmetros mínimos de qualidade seminal *in natura* de acordo com o CBRA ($\geq 70\%$ de motilidade progressiva, ≥ 3 de vigor espermático, $\leq 30\%$ defeitos morfológicos espermáticos totais, $\leq 10\%$ defeitos maiores). O sêmen foi colhido por meio de eletroejaculação, sendo o ejaculado diluído em Botubov® (Botupharma - Botucatu/SP), na concentração de 20×10^6 espermatozoides/dose. A refrigeração foi realizada a temperatura de 5°C por até 24 horas em sistema passivo (transporte em caixa de isopor com gelo reciclável, três horas, e posteriormente manutenção em geladeira comercial, a 5°C). No grupo inseminado com sêmen congelado comercial foram utilizados dois reprodutores (Holandês e Gir) de fertilidade conhecida. Na IATF foram sincronizadas 152 vacas Girolando lactantes (> 60 dias de pós-parto), sendo a indução a ovulação realizada em dia aleatório do ciclo estral. Todas as vacas receberam 2,0 mg de Benzoato de Estradiol (BE®) associado ao dispositivo intravaginal contendo 558 mg de progesterona (Cronipres®mono dose).

No D8 os dispositivos foram retirados, procedendo-se a administração de 530 mg cloprostenol sódico (Ciosin®), mais 1 mg de Cipionato de Estradiol (ECP®). As IATF foram realizadas entre 48-52 horas após a retirada da fonte de progesterona. Os resultados foram submetidos ao teste X^2 . As médias de prenhez foram: a) Sêmen refrigerado 64,5% (49/76) e Sêmen congelado 44,7% (34/76), para métodos de conservação ($P < 0,05$); b) Holandesa 53,7% (65/121) e Gir 58,1% (18/31), para raças dos touros ($P > 0,05$). A interação método de conservação x raça do touro não foi significativa ($P > 0,05$). Os resultados permitem concluir que, em rebanho Girolando, independentemente da raça do reprodutor, as taxas de prenhez na IATF, usando sêmen refrigerado são superiores as obtidas com sêmen congelado, com incremento de 20%.

Importância do diâmetro folicular e da ocorrência de estro e taxa de concepção de vacas Nelore submetidas à IATF

João Paulo Lollato¹, Guilherme A Veras³, M. C. Farias³, R. A. Silva Júnior³, Milton Maturana Filho², Reuel Luiz Gonçalves¹, C. C. Bartolomeu³, M. A. L. Oliveira³

¹ *Bio - Biogénesis Bagó Saúde Animal (Av. Manoel Ribas, 985 - 5º andar Cep: 80810 -000 Curitiba - PR Brasil)*, ² *VETPLAN - MF VETPLAN Consultoria Agropecuária (Rua José Ferreira, 130, Bairro do Lago, Águas da Prata-SP, CEP 13890-000, Águas da Prata-SP, Brasil)*, ³ *UFRPE - Departamento de Reprodução Animal, UFRPE, Pernambuco, Brasil (Universidade Federal Rural de Pernambuco, Pernambuco, Brasil)*

A correta execução e manipulação do desenvolvimento folicular nos momentos mais adequados do ciclo estral, pode gerar melhores resultados nos protocolos de IATF em vacas de corte. O objetivo desse estudo foi avaliar as associações entre o diâmetro folicular e a ocorrência de estro sobre a taxa de concepção de vacas Nelore submetidas a IATF. Foram utilizadas 203 vacas primíparas e multíparas da raça Nelore (*Bos indicus*) lactantes, mantidas em pastagem de *Brachiaria decumbens*, com livre acesso a água e suplementação mineral. O protocolo hormonal base utilizado foi: D0= inserção do implante Cronipres® Mono Dose + aplicação de 2 mg de BE (Bioestrogen®); D8,5= retirada do implante+ aplicação de 300 UI de eCG (Ecegon®), + 75 µg de D-Cloprostenol (PGF2α) + 1mg BE (Bioestrogen®). As fêmeas tiveram a base da cauda pintada com bastão marcador no momento da remoção do dispositivo. No D10 foi realizada a IATF no período da manhã. A taxa de prenhez (TP) foi avaliada por ultra-sonografia (Mindray M5 Vet, com probe linear de 5,0 MHz) aos 30 e 60 dias após a IATF. Os dados obtidos foram submetidos à análise de frequência e a análise de regressão logística, utilizando-se o programa Statistical Analyses System (SAS, 9.3) adotando-se nível de significância de 5%. A taxa média de ocorrência de estro foi de 58 para as va e a taxa de concepção de 51%. O diâmetro médio do folículo dominante, no momento da IATF, foi maior ($P < 0,05$) nas vacas que apresentaram estro ($11,70 \pm 0,19$ mm) em comparação com as que não apresentaram estro ($10,31 \pm 0,23$ mm). O diâmetro folicular médio, das vacas gestantes foi maior ($P < 0,05$) que as vacas não gestantes, tanto no momento da remoção do dispositivo de P4 ($9,62 \pm 0,24$ versus $8,15 \pm 0,22$ mm), quanto no momento da IATF ($12,21 \pm 0,22$ versus $10,31 \pm 0,22$ mm). Não houve diferença na taxa de prenhez entre as vacas que apresentaram folículos ovulatórios com diâmetros entre 11,1 mm e 14 mm (63,5%) com as vacas que apresentaram folículos $> 14,1$ mm (63,5%) ($P > 0,05$), no entanto,

vacas que apresentaram diâmetro folicular < 11,1 mm tiveram uma menor taxa de concepção (34,5%) ($P < 0.05$). A média do diâmetro folicular no momento da IATF foi de 11,4 mm. Vacas Nelore lactantes submetidas a IATF com folículo de maior diâmetro, no momento da IATF, foram mais propensas a manifestarem um maior percentual de estro e conseqüentemente maior taxa de prenhez.

Administração de hCG sete dias após início do estro eleva a taxa de gestação em cabras toggenburg submetidas a indução de estro sincronizado e acasaladas naturalmente

Luana Rangel Côrtes ¹, Maíra de Oliveira Fraga ², Dáfne dos Santos Silva ³, Jader Forquim Prates ⁴, Brenda Barbosa Martins ⁵, Lucas Machado Figueira ⁶, Gisele Caldas Bonato ⁷, Aline Matos Arrais ⁸, Joanna Maria Gonçalves Souza-Fabjan ¹, Felipe Zandonadi Brandão ¹, Jeferson Ferreira da Fonseca ²

¹ UFF - Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense (Av. Vital Brazil Filho, 64, CEP 24230-340, Niterói, RJ, Brazil), ² Embrapa Caprinos e Ovinos - Embrapa Caprinos e Ovinos (Estrada MG 133, CEP: 36.155-000, km 42, Coronel Pacheco, MG, Brazil.), ³ Unigranrio - Universidade do Grande Rio (Rua Prof. José de Souza Herdy, 1160, CEP: 25071-202, Duque de Caxias, RJ, Brazil.), ⁴ IF Sudeste de Minas Gerais - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Sudeste de Minas Gerais, Campus Rio Pomba (Av. Dr. José Sebastião da Paixão s/nº, CEP: 36180-000, Rio Pomba, MG, Brazil.), ⁵ UNIPAC - Universidade Presidente Antônio Carlos (Av. Juiz de Fora, 1100, CEP 36047-362, Juiz de Fora, MG, Brazil.), ⁶ UFLA - Universidade Federal de Lavras, Departamento de Medicina Veterinária (Câmus universitário, CEP: 37200-000, Lavras, MG, Brazil.), ⁷ UFV - Universidade Federal de Viçosa (Av. P.H. Holfs, s/n, Viçosa, MG, CEP: 36.570-000, Brazil.), ⁸ UFRRJ - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (BR-465, Km 7, Seropédica, RJ, CEP: 23.897-000, Brazil.)

O folículo dominante atinge seu diâmetro máximo no sexto dia após ovulação ou sete dias após início do estro (Castro et al., Theriogenology, 52:399 – 411, 1999). Sendo assim, este estudo investigou o efeito da administração do hCG no sétimo dia após o início do estro (D7) na taxa de gestação em cabras Toggenburg. O estudo foi conduzido durante os meses de Dezembro e Janeiro no município de Piau, MG, Brasil (latitude 21°35'S e longitude 43°15'O). Foram utilizadas 86 cabras da raça Toggenburg, com peso corporal médio de $49,2 \pm 10,5$ kg e escore de condição corporal de $2,8 \pm 0,4$ (escala de 1 a 5). Para sincronização do estro, todos os animais receberam esponjas intravaginais contendo 60 mg de acetato de medroxiprogesterona (Progespon; Syntex Indústria Bioquímica e Farmacêutica S.A., Buenos Aires, Argentina) por seis dias. Às 24 h antes da retirada da esponja, 200 UI de eCG (Folligon; Intervet International B.V., Boxmeer, Holanda) e 30 µg de d-cloprostenol (Prolise; ARSA S.R.L., Buenos Aires, Argentina) foram administradas por via intramuscular (i.m.). Após a retirada das esponjas, foi observado estro e realizado o acasalamento a cada 12 h, enquanto em estro, com machos previamente submetidos a exame andrológico. Os dois grupos experimentais foram formados de acordo com a ordem de entrada em estro, sendo que os animais do grupo controle receberam 1 mL de solução salina e os animais do grupo tratado 300 UI de hCG (Vetecor; Laboratórios Calier S. A., Barcelona, Espanha), ambos por via i.m. no D7. O diagnóstico de gestação foi realizado no

D30 por avaliação ultrassonográfica transretal. Para análise estatística, foi realizado o teste do Qui-quadrado com nível de significância de 5%. A taxa de gestação nas cabras que receberam hCG foi superior ($P=0,047$) às que receberam solução salina [90,7% (39/43) vs 74,4% (32/43)]. A utilização da hCG sete dias após o início do estro é uma estratégia eficiente para elevar a taxa de gestação em cabras submetidas a indução de estro sincronizado.

Suporte financeiro: Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig, CVZ PPM 00201-17).

Melhoria na eficiência reprodutiva de vacas acíclicas de corte na estação de monta

Jéssica Ruiz Pereira¹, Carlos Antonio de Carvalho Fernandes^{1,2}, Humberto Luis Neri¹, Ana Cristina Figueiredo^{1,2}, Gustavo Henrique Sousa Pereira¹, José Antonio Dias Garcia², Camilla Soares Scattaregi²

¹ Biotran - Biotran (Rua Tatuín, 447, Residencial Teixeira - Alfenas, 37132-346 - MG - Brasil),

² Unifenas - Universidade José do Rosário Vellano (BR 479, Km 0 - Alfenas - MG - Brasil)

O objetivo foi determinar por avaliações relacionadas ao balanço nutricional e à reprodução, a eficácia de um suplemento injetável, Aminofort®, em vacas de corte em anestro, submetidas a um protocolo de IATF em estação de monta. Utilizou-se 230 vacas zebuínas lactantes, primíparas e multíparas, acíclicas (sem CL), escore corporal (ECC) entre 2 e 3 (escala: 1 a 5), entre 45 e 60 dias pós parto. Quinze dias antes dos protocolos de IATF, foram distribuídas de acordo com o diâmetro do maior folículo, ECC e categoria (primípara ou multípara) em dois tratamentos. T1: (N=154) 10mL de Aminofort®, IM, em três doses, D-15, D0 e D10, e T2: (N=76) 10mL de soro fisiológico nos mesmos dias. O protocolo de IATF foi - D0: Implante de Progesterona (P4) e de 2mg de Benzoato de Estradiol IM, D8, retirada do implante, 0,5mg de Cloprostenol, 1,0mg de Cipionato de estradiol e 300UI de eCG IM e IATF em D10. Foi utilizado sêmen de um mesmo touro. Foram feitas avaliações ultrassonográficas em D-15, D10 para mensuração dos folículos, em D17 para verificação de CL e em D40 e ao final da estação para diagnóstico de gestação (Mindray™ – M5). A pesagem e avaliação do ECC foi realizada em D-15 e D40. Cinco dias após as IATFs as vacas foram soltas com touros de repasse. Os animais dos diferentes tratamentos permaneceram juntos em pastagem de *Brachiária decumbens* com sal mineral e água ad libitum. As médias de peso, ECC e diâmetro folicular foram submetidos a ANOVA. Os percentuais de animais cíclicos em D17 e gestantes nos dois períodos foram comparados por χ^2 . Análises a 5% de probabilidade. Não houve diferença ($P>0,05$) de peso e escore corporal na avaliação inicial, indicando distribuição adequada nos tratamentos. O ganho médio de peso ($317,0 \pm 31,3^a$ vs $222,8 \pm 30,4^b$ g/dia) e o ECC médio ($2,9 \pm 0,4^a$ vs $2,8 \pm 0,3^b$) avaliado em D40, foram superiores nas fêmeas tratadas com Aminofort ($P<0,05$). A média do diâmetro do folículo ovulatório em D10 ($10,9 \pm 3,4^a$ vs $9,6 \pm 2,9^b$ mm) e o percentual de vacas com CL em D17 (82,4% vs 69,7%) foi superior ($P<0,05$) nas fêmeas tratadas com Aminofort. A taxa de gestação em D40 foi de 42,2% e 31,6% para as fêmeas tratadas com Aminofort ou salina. Ao final da estação de monta, este percentual foi de 90,2 e 67,6% para T1 e T2, respectivamente ($P<0,05$). Mesmo não proporcionando diferenças na taxa de gestação em D40 o tratamento foi eficiente em tornar mais vacas cíclicas após o protocolo, e estas mais rapidamente serem servidas

por touros, o que levou a melhor taxa de gestação ao final da estação. A de ciclicidade é pré requisito para que a fêmea tenha condições de se tornar gestante, principalmente em monta natural. Conclui-se que a suplementação utilizada é eficiente em melhorar o desempenho de vacas zebuínas acíclicas em esquema de estação de monta.

Apoio: Eurofarma, Biotran, Unifenas, CNPq e Fapemig.

Curva de liberação de progesterona em um implante vaginal utilizado por três vezes em vacas e novilhas mestiças

Gustavo Henrique de Sousa Pereira ¹, Carlos Antônio de Carvalho Fernandes ^{1,2}, Humberto Luis Del Hoyo Neri Neri ¹, Ana Cristina Silva de Figueiredo Silva de Figueiredo ^{1,2}, Jéssica Ruiz Pereira Ruiz Pereira ¹, Raisse Marina da Silva Marina da Silva ¹, Ester Siqueira Caixeta Nogueira Siqueira Caixeta Nogueira ^{1,3}

¹ Biotran - Biotran LTDA (Rua Tatuin 447, 37132346, Alfenas MG Brasil), ² UNIFENAS - Univ. Jose do Rosario Vellano (Rod. MG 179 Km 0 Alfenas MG Brasil), ³ UNIFAL - Univ. Federal de Alfenas (Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700. Alfenas MG Brasil)

O estudo objetivou determinar a curva de liberação de progesterona (P4) de um dispositivo intra vaginal (DIV) contendo 1,25g de princípio ativo (Biprogest[®]–Bimeda, Brasil) em três utilizações consecutivas em fêmeas sem P4 endógena. Foram utilizadas 18 fêmeas bovinas mestiças, nove novilhas (322 a 375kg) e nove vacas (388 a 512kg). Previamente á inserção dos DIV, estas fêmeas receberam um outro DIV comercial e permaneceram com ele entre D-8 e D-1. Neste período receberam uma dose de PGF em D-8 e D-3. Em D0 foi realizada a avaliação ultrassonográfica (US) dos ovários utilizando ultrassonografia Doppler Colorido (Mindray – M5) para confirmar a ausência de corpo lúteo (CL) funcional e coletada uma amostra de sangue. Neste dia foi inserido o DIV. Outras amostras foram coletadas as 12, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168 e 192 horas, quando o implante foi removido, lavado e desinfetado. Neste dia, nova US foi realizada para verificação da ausência de CL. Nova amostra de sangue foi coletada 12 horas após a remoção do DIV (204 h). Para a segunda curva, sete dias mais tarde, os animais passaram pela mesma preparação e os DIV foram reutilizados. As mesmas avaliações e esquema de colheita de sangue foram repetidos. Os mesmos procedimentos foram seguidos para determinação da terceira curva. As dosagens de P4 foram feitas por Eletroquimiluminescencia (ECL) utilizando kits comerciais Elesys Progesterone III (Roche[®]). As concentrações médias de P4 entre as categorias e curvas foram comparadas por Anova (5% de probabilidade). O protocolo de remoção da P4 endógena foi eficiente em todos os animais nas três curvas. O coeficiente da variação intraensaio da dosagem de P4 foi de 1,37%. As concentrações médias de P4 na 1ª curva foram de 0,7±0,3; 3,5±1,1; 4,2±1,6; 4,1±1,6; 4,0±1,4; 3,4±1,0; 3,5±1,2; 2,9±0,9; 2,5±0,8; 2,2±0,7 e 0,7±0,3. Da 2ª curva 0,6±0,2; 3,3±1,1; 3,4±0,7; 3,2±0,7; 3,0±0,6; 2,7±0,8; 2,2±0,8; 1,8±0,8; 1,7±0,7; 1,6±0,7 e 0,4±0,3. Da 3ª curva 0,2±0,1; 1,2±0,3; 1,4±0,5; 1,5±0,6; 1,4±0,3; 1,3±0,3; 1,3±0,3; 1,0±0,3; 0,8±0,4; 0,7±0,1 e 0,3±0,1ng/mL para os momentos 0, 12, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192 e 204 horas, respectivamente. A concentração média de P4 foi de 3,3±1,3^a; 2,6±1,0^b e 1,2±0,4^c (P<0,05) para as curvas 1, 2 e 3, respectivamente. As novilhas exibiram maiores concentrações que as vacas (P<0,05) quando se considerou as curvas em

conjunto e nas utilizações 1 e 2. Nestas duas curvas, as novilhas apresentaram maiores concentrações ($P < 0,05$) em todos de 12 a 192 horas. As concentrações de P4 foram compatíveis com as consideradas capazes de bloquear o eixo hipotálamo/hipófise (acima de 0,8ng/mL) em novilhas em três utilizações e em vacas em dois usos. Conclui-se que o implante é eficiente para três utilizações em novilhas e duas em vacas, animais sem P4 endógena, em protocolos de IATF onde o implante permaneça por oito dias.

Apoio: Bimeda, Biotran, Fapemig, Capes, CNPq.

Efeito do uso de acetato de medroxiprogesterona nos dias 12 a 17 pós-cobertura sobre a função luteal de ovelhas deslanadas

Eduardo Kenji Nunes Arashiro ¹, Mario Felipe Alvarez Balaro ¹, Juliana Dantas Rodrigues Santos ¹, Marta Maria Campos Pereira da Costa ¹, Ana Beatriz da Silva Carvalho ¹, Felipe Zandonadi Brandão ¹

¹ UFF - Universidade Federal Fluminense (Rua Vital Brazil, 64, Niterói, RJ, Brasil, 24230-340)

A possibilidade de realizar o diagnóstico precoce de gestação em ovelhas 17 dias pós-inseminação utilizando a ultrassonografia (US) com Doppler colorido (Arashiro et al., Theriogenology, 106:247-252, 2018) permite que protocolos de ressincronização possam ser iniciados antes mesmo de se conhecer o status gestacional da fêmea. Contudo, a utilização de tais protocolos ainda depende da avaliação de seus efeitos sobre a função luteal e consequentes efeitos sobre uma provável gestação. O presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito do uso de acetato de medroxiprogesterona nos dias 12 a 17 pós-cobertura sobre a função luteal de ovinos. Ovelhas deslanadas (n=42) foram submetidas a um protocolo de sincronização do estro e ovulação sincronizada conforme Balaro et al., 2016 (Domestic Animal Endocrinology, 54:10-14). Este protocolo teve como base o uso de esponja intravaginal contendo 60mg de acetato de medroxiprogesterona por 6 dias, associado ao uso de 0,24 mg de cloprostenol sódico e 300 UI de gonadotrofina coriônica equina (24h antes da retirada da esponja), e 0,025mg de acetato de gonadorelina (24h após a retirada da esponja). Apenas parte das ovelhas (n=24) foram submetidas a detecção de estro e monta natural controlada (D0) com carneiros comprovadamente férteis (n=5). Uma segunda esponja intravaginal foi inserida 12 dias (D12) após o início das coberturas em metade das ovelhas submetidas à monta natural e em metade daquelas que não foram cobertas. Esta segunda esponja foi retirada 5 dias depois (D17). Amostras de sangue de todas as ovelhas foram diariamente coletadas em tubos com sistema de vácuo contendo EDTA para dosagem das concentrações plasmáticas de progesterona (P4). O diagnóstico de gestação foi realizado por US Modo-B no D30 e os animais foram retrospectivamente alocados nos seguintes grupos experimentais: Grupo 1 (G1), animais gestantes sem esponja (n=9); Grupo 2 (G2), animais gestantes com esponja (n=10); Grupo 3 (G3), animais não gestantes sem esponja (n=12); e Grupo 4 (G4), animais não gestantes com esponja (n=11). A abrupta redução da concentração de P4 (>50%) foi utilizada para determinação do momento da luteólise. Os dados foram submetidos à análise de normalidade e homocedasticidade e comparações entre os grupos foram realizadas por ANOVA e teste de Tukey com significância de 5%. Do D12 ao D17, a concentração plasmática de P4 não diferiu entre os animais gestantes com e sem esponja e nem

entre os animais não gestantes com e sem esponja. O momento da luteólise também não foi diferente entre os animais não gestantes (dia $14,58 \pm 1,11$ e $14,64 \pm 0,88$ para G3 e G4, respectivamente). Os presentes resultados mostram que a inserção de uma segunda esponja contendo acetato de medroxiprogesterona na segunda metade do ciclo não afetou concentração plasmática de progesterona e nem o momento esperado da luteólise. Tais resultados abrem a possibilidade de intensificação do manejo reprodutivo de ovelhas a partir do desenvolvimento de protocolos precoces de ressincronização do estro e ovulação.

Uso da ultrassonografia Color-Doppler na seleção de receptoras de embriões da raça Aberdeen Angus

Agustín Silva ¹, Pablo Veiga ³, Tomás Castro ³, Julián Bartolomé ², Santiago Perez Wallace ¹

¹ Zoetis Argentina - Zoetis Argentina (Fondo de la Legua 1171, San isidro, Argentina), ² FCV-UNLPam - Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Pampa (Coronel Gil 353, Santa Rosa, Argentina), ³ Cabaña El Volcán - Cabaña El Volcán (Madres de Plaza 25 de Mayo 3020 piso 6- Rosario- Santa Fe- Argentina)

A avaliação e seleção de receptoras de embriões são geralmente feitas por palpação retal e ultrassonografia em modo B do corpo lúteo (CL). Porém esta metodologia pode ser pouco eficiente e acurada, transferindo embriões em fêmeas com CL não funcional. O objetivo deste trabalho foi avaliar o impacto do fluxo sanguíneo do CL (CLBF) avaliado por ultrassonografia Color-Doppler no momento da transferência sobre a taxa de prenhez em receptoras da raça Aberdeen Angus. O experimento foi realizado na Província de Buenos Aires, Argentina, onde 93 vacas lactantes Angus com um período pós-parto de 60 dias receberam um embrião após serem sincronizadas seguindo o seguinte protocolo: D0= inserção de um dispositivo intravaginal contendo 1.9g de P4 (CIDR®, Zoetis, Argentina) + 2 mg de benzoato de estradiol (BE; Gonadiol®, Zoetis, Argentina); D7= retirada do dispositivo de P4 + 25mg dinoprost trometamina (Lutalyse®, Zoetis, Argentina); D8= 1mg BE. A detecção de cio foi realizada por observação visual e a transferência de embriões (TE) foi feita sete dias depois. No momento da TE os ovários foram avaliados por ultrassonografia Color-Doppler e modo B (MyLab one, Esaote, Holland) por um único técnico experiente com o intuito de avaliar o CLBF e o diâmetro do CL, com uma configuração de color de uma velocidade de 5 cm/s, com uma frequência de 6.6MHz. Os animais foram retrospectivamente divididos em dois grupos conforme o CLBF: Alto CLBF (fluxo sanguíneo $\geq 40\%$ da área do CL; n=64) e Baixo CLBF (fluxo sanguíneo $< 40\%$ da área do CL, n=29). O diagnóstico de gestação foi feito por ultrassonografia modo B (Aloka 500, Aloka, Japan) 30 dias após a TE. A taxa de prenhez (TP) e o diâmetro médio do CL foram comparados entre os grupos por regressão logística com uma distribuição binomial e teste t, respectivamente, usando a versão 3.2.3 do software estatístico R Studio (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria). Não houve diferença estatística na TP entre grupos (High CLBF=60.6%, Low CLBF =48.1%; P=0.27). O diâmetro médio do CL não foi diferente entre vacas com alto CLBF (21.34mm) e baixo CLBF (21.52mm; P=0.8). Os resultados mostraram que o diâmetro do CL não está relacionado com a funcionalidade do mesmo, como já foi demonstrado previamente (Pinaffi et al., Pesquisa Veterinária Brasileira, 35:5:470-476, 2015). Contrariamente a estudos

prévios (Pinaffi et al., Pesquisa Veterinária Brasileira, 35:5:470-476, 2015, e Pugliesi et al., Anais SBTE 2016, pag 238, 2016), nos quais receptoras zebuínas com maior funcionalidade do CL tiveram maior TP, o mesmo não foi encontrado no presente estudo. Mais estudos com maior número de animais por grupo estão sendo realizados baseados na diferença numérica na TP encontrada no presente trabalho.

Efeitos do uso Benzoato e Cipionato de estradiol no desenvolvimento folicular e ovulação de ovelhas

Sergio Farias Vargas Júnior¹, Karina Lemos Goularte¹, Diego Corrêa Silveira¹, Rafael Mielke Barbosa¹, Betina Capeletti¹, Nathália Wacholz Knabah¹, Fernando Caetano de Oliveira¹, Bernardo Garziera Gasperin¹, Rafael Gianella Mondadori¹, Arnaldo Diniz Vieira¹

¹ UFPel - Universidade Federal de Pelotas (Capão do Leão - RS)

A sincronização de estro com inseminação em tempo fixo em ovinos é realizada com base no momento estimado da maior concentração das ovulações, porém, até o momento os resultados são muito variáveis. Aparentemente, o Estradiol 17 β e Benzoato de Estradiol (BE) estimulam descargas de LH em ovinos semelhantes as concentrações pré-ovulatórios, porém existem poucos dados a respeito. Além disso, não se tem informações referentes ao Cipionato de Estradiol (CE). Portanto, este trabalho teve por objetivo determinar se o CE influencia o crescimento folicular e ovulação, em comparação ao BE. Para testar esta hipótese, ovelhas cíclicas (n=22) receberam uma esponja intravaginal impregnada com 60mg de MAP, mantido por 13 dias. No dia da remoção da esponja (Dia 0), todos os animais receberam 120 μ g i.m. de Cloprostenol sódico (Estron, Agener) para assegurar baixas concentrações de progesterona circulante. Os animais foram aleatoriamente divididos em quatro grupos experimentais: No D0 os animais do Controle negativo (CN; n=5), não receberam hormônios adicionais; Controle positivo (CP; n=5), receberam 300 UI de eCG (Novormon, Zoetis) e os animais do Grupo CE (n=6) receberam 250 μ g de CE i.m. (ECP, Zoetis). Vinte e quatro horas após (D1), os animais do Grupo BE (n=6) receberam 250 μ g de BE, i.m. (Gonadiol, Zoetis). O desenvolvimento folicular foi avaliado diariamente por ultrassonografia transretal desde o D0 até o desaparecimento do folículo ovulatório ou até o D4. O estro foi identificado com auxílio de rufião com colete marcador. A presença e número de CLs foi confirmada por laparoscopia no D7. Os dados foram avaliados por ANOVA e comparação de médias pelo teste T-Student. O diâmetro médio do folículo pré-ovulatório foi de 5,5 \pm 0,3 mm, não diferindo entre os grupos. No D1, a taxa de crescimento folicular do grupo CP foi maior do que nos demais (P=0,001). No D2, quando considerado o momento (24, 48, 72h) em relação ao crescimento do maior folículo, o Grupo BE teve maior crescimento folicular (P=0,001). Já no D3, o Controle negativo apresentou uma tendência (P=0,06) de maior taxa de crescimento em relação aos demais, que não diferiram entre si. Os animais apresentaram comportamento estral e ovulatório semelhante entre os tratamentos CN, CP, CE e BE (80%; 4/5, 100%; 5/5, 83%; 5/6 e 83%; 5/6) e (80%; 4/5, 100%; 5/5, 66,6%; 4/6 e 83%; 5/6), respectivamente. Ovelhas do CN, CP, CE e BE apresentaram, respectivamente, 1,25, 1,25, 1 e 1 CLs no D7. Pelas avaliações realizadas, houve um incremento no crescimento folicular 24 h após a aplicação de BE, porém, a resposta obtida com a aplicação do CE não foi

diferente ao final do período. Novos trabalhos devem ser conduzidos para determinar a capacidade do CE em induzir a descarga de LH e consolidar a função do BE como indutor de ovulação.

Inter-relação entre as Características Foliculares e Luteais de Fêmeas Bovinas Leiteiras submetidas a um Programa de Inseminação Artificial em Tempo Fixo

Tiago Oliveira Brandão ^{1,3}, Alexandra Soares Rodrigues ³, Gabriel Gomes Dalchiavon ³,
Jackeline Ferreira Dos Santos ³, Myrla Rodrigues Alcantara ³, Antonio de Lisboa Ribeiro Filho ²,
Rodrigo Freitas Bittencourt ², Marcos Chalhoub Coelho Lima ²

¹ IFNMG - Instituto Federal do Norte de Minas Gerais (Rodovia MG-404, Km 02, s/n, Salinas-MG), ² UFBA - Universidade Federal Da Bahia (Escola de Medicina Veterinária, Av. Adhemar de Barros, 500 - Ondina, Salvador - BA), ³ UFOB - Universidade Federal do Oeste da Bahia (Av. 23 de Agosto, 860, Centro, Barra-BA)

Objetivou-se correlacionar as características estruturais do folículo pré-ovulatório e os parâmetros morfofuncionais do corpo lúteo (CL) em fêmeas mestiças leiteiras submetidas a um protocolo para Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF). Foram utilizadas 116 vacas mestiças 3/4 Gir x Holandês, multíparas, não lactantes, com idade de $5,69 \pm 1,06$ anos, escore de condição corporal de $3,01 \pm 0,39$ (escala de 1 a 5) e criadas em pastagem com suplementação mineral e água *ad libitum*. Em um dia aleatório denominado dia zero (D0) foram iniciados os protocolos de sincronização por meio da inserção de dispositivo intravaginal de progesterona (P4) (DIB[®], Zoetis, São Paulo, Brasil) e aplicação de 2,0mg de benzoato de estradiol (Gonadiol[®], Zoetis, São Paulo, Brasil) por via intramuscular (IM). No dia nove (D9) removeu-se os dispositivos de P4 e administrou-se 12,5mg de dinoprost trometamina (Lutalyse[®], Zoetis, São Paulo, Brasil) IM, 0,6mg de cipionato de estradiol (E.C.P.[®], Zoetis, São Paulo, Brasil) IM e 300UI de Gonodotrofina Coriônica Equina (eCG) (Novormon[®], Zoetis, São Paulo, Brasil) IM. No dia 11 (D11), para determinação das características estruturais do folículo pré-ovulatório, os animais foram examinados por ultrassonografia (US) em modo B e doppler colorido, mensurando-se o diâmetro folicular (DFOL), a área da parede folicular (AFOL) e a área de vascularização da parede folicular (VFOL). No dia 24 (D24) foi realizada a US em modo B e doppler colorido do CL analisando-se o diâmetro luteal (DCL), área luteal (ACL) e área de vascularização do CL (VCL), neste momento, também foram coletadas amostras de sangue sendo averiguada a concentração séricas de P4 utilizando o imunoensaio *Access immunoassay systems progesterone* (Architect Progesterone Reagent Kit, Abbott Laboratórios do Brasil LTDA, São Paulo, Brasil). A análise estatística foi executada por meio do SPSS, versão 19, $P < 0,05$. A correlação entre as características foliculares (DFOL, AFOL e VFOL) e luteais (DCL, ACL, VCL e P4) foi estabelecida empregando-se o teste de correlação de Pearson. A média geral para DFOL, AFOL e VFOL foi, respectivamente, de $1,35 \pm 0,24$ cm; $0,63 \pm 0,14$ cm² e $0,28 \pm 0,09$ cm². No que se refere aos parâmetros luteais observou-se um DCL, ACL, VCL e concentrações de P4, em média, de $2,02 \pm 0,34$ cm; $3,24 \pm 0,94$ cm²; $1,18 \pm 0,59$ cm² e $8,64 \pm 3,26$ ng/mL, respectivamente. O DFOL demonstrou correlação positiva com DCL ($r=0,45$, $P=0,02$), ACL ($r=0,43$, $P=0,03$) e concentrações de P4 ($r=0,56$, $P=0,004$). Houve associação

positiva ($r=0,64$, $P=0,001$) entre AFOL e concentrações de P4. No que se refere ao VFOL foi verificada correlação positiva com DCL ($r=0,56$, $P=0,003$), VCL ($r=0,52$, $P=0,008$) e concentrações de P4 ($r=0,78$, $P=0,0003$). Conclui-se que existiu inter-relação positiva entre as características estruturais foliculares e os parâmetros morfofuncionais do corpo lúteo, possibilitando o emprego da mensuração folicular como ferramenta para pressupor a funcionalidade do CL e assim direcionar acasalamentos em programas de IATF.

Incidência de endometrite subclínica em vacas de corte pós-parto submetidas à IATF

Jéssica de Souza Andrade ^{1,6}, Renata Reis da Silva ², Izabela Cristina Lemos ^{5,6}, George Moreira da Silva ^{4,7}, Elizangêla Mirian Moreira ^{3,2}, Luiz Francisco Machado Pfeifer ²

¹BIONORTE - Rede de Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal), ²EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, ³FAPERO - Fundação Rondônia de Amparo à Pesquisa do Estado de Rondônia, ⁴FIMCA - Faculdades Integradas Aparício Carvalho ⁵UNIR - Fundação Universidade Federal de Rondônia, ⁶CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, ⁷CNPq - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

Endometrite subclínica (ESC) é uma condição inflamatória do útero que acomete vacas sem exibir sinais clínicos da doença. A ESC é caracterizada pela infiltração de células inflamatórias polimorfonucleares (PMN) no endométrio e pode afetar a fertilidade de vacas de corte pós-parto submetidas à inseminação artificial em tempo fixo (IATF). O objetivo deste estudo foi avaliar a incidência de vacas com endometrite subclínica e sua relação com a fertilidade de vacas de corte submetidas à IATF. No D0 do protocolo de IATF, 148 vacas Nelore lactantes, entre 21 e 60 dias pós-parto (DPP), foram submetidas à coleta citológica do tecido uterino por meio da técnica de *cytobrush*. As amostras coletadas foram fixadas em lâminas de vidro, coradas com kit Panótico (Corante Rápido RenyLab[®], Barbacena, Brasil) e depois submetidas à contagem de 200 células (incluindo células epiteliais e PMN, excluindo eritrócitos) sob microscopia. Logo após a coleta do *cytobrush*, todas as vacas receberam 2 mg de benzoato de estradiol (BE, Gonadiol[®], Zoetis, Buenos Aires, Argentina) intramuscular (i.m.) e um dispositivo intravaginal liberador de progesterona (CIDR[®], Zoetis, Buenos Aires, Argentina). O CIDR[®] foi removido no Dia 8 juntamente com aplicação de 150 µg D-Cloprostenol (análogo de Prostaglandina F2α, Croniben[®], Biogénesis-Bagó, Buenos Aires, Argentina) i.m., 1 mg de cipionato de estradiol (E.C.P[®], Pfizer, Cravinhos, Brasil) i.m., e 300 IU de eCG i.m. (Novormon[®], Zoetis, Cotia, Brasil). No Dia 10 todas as vacas foram submetidas à IATF. O diagnóstico de gestação foi realizado por ultrassonografia transretal 30 dias após a IATF. Foram consideradas com ESC, as vacas com proporção de células PMN no útero >5% (Santos et al., *Theriogenology*71: 739-745, 2009), Grupo ESC (n=41). As demais vacas foram consideradas sadias (n=107). A proporção de vacas prenhes foi analisada pelo teste do Qui-quadrado e análise de regressão foi feita para avaliar a relação entre a proporção de PMN no útero e os dias pós-parto. A prenhez por inseminação artificial (P/IA) foi maior ($P=0,004$) nas vacas sadias (50,46%, 54/107) do que nas vacas do grupo ESC (24,39%, 10/41). Foi observado que quanto maior o tempo transcorrido entre o parto e a coleta citológica, menor foi a proporção de células PMN no útero (% PMN =

13.3 – 0.23*DPP; R = 0.36; P<0.001). Esses resultados indicam que vacas com menor proporção de células PMN no útero tem maior P/IA na IATF e que a inflamação uterina diminui com o aumento dos DPP.

Utilização da associação do 17β-estradiol e progesterona para sincronização da ovulação em fêmeas de corte *Bos indicus*

Cecília Constantino Rocha¹, Barbara Piffero Mello³, Gabriela Dalmaso de Melo¹, Catia Aparecida Ferreira Gallimberti³, Igor Garcia Motta¹, Fábio de Carvalho Lahr³, Leonardo Amaral³, Kleber Menegon Lemes², Rafael José de Carvalho Moreira², Ed Hoffmann Madureira¹, Guilherme Pugliesi¹

¹ USP (FMVZ) - Universidade de São Paulo Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (Duque de Caxias Norte, 225, Jardim Elite), ² Boehringer Ingelheim - Boehringer Ingelheim Animal Health do Brasil Ltda (Campinas, São Paulo, Brasil), ³ USP (FZEA) - Universidade de São Paulo Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (Duque de Caxias Norte, 225, Jardim Elite)

Objetivou-se com este trabalho comparar o uso da associação da progesterona (P4) com 17β-estradiol (E₂) ou benzoato de E₂ (BE) para sincronização da emergência folicular em vacas de corte submetidas à IATF sobre: 1) o momento da emergência de uma nova onda folicular; 2) as características do folículo pré-ovulatório (FPO); e 3) a taxa de prenhez (TP). Para isso, no Exp1 vacas Nelore em lactação (n=12/grupo) foram submetidas a um protocolo de IATF e divididas em 2 grupos (BE e E₂). No D-10, o grupo BE recebeu um dispositivo intravaginal de P4 (0,96 g; Progestar®; Boehringer Ingelheim; Brasil), 500 µg de PGF_{2α} (Cloprostenol sódico; Cioprostinn®; Boehringer Ingelheim) e 2 mg de BE (Estrovulinn®; Boehringer Ingelheim). No grupo E₂, o BE foi substituído por 5,5 mg de E₂ associado a 50mg P4 (Betaproginn®; Boehringer Ingelheim). Após 8 dias o dispositivo foi retirado, PGF_{2α} foi aplicada e 12 horas após BE (1mg) foi injetado. A IATF foi realizada 36 horas após o BE (D0). Entre o D-10 e D0, realizou-se avaliações ultrassonográficas (US) diariamente para mensurar todos os folículos com diâmetro >4 mm. Nas últimas 48 horas pré-IATF, a porcentagem de perfusão sanguínea na parede folicular foi avaliada por US Color-Doppler do FPO. A ovulação foi confirmada no D1. No Exp2, vacas e novilhas Nelores e Tabapuã (n= 505) foram submetidas aos mesmos tratamentos do Exp1 (com exceção da PGF_{2α} no D-10). No D0 o diâmetro do FPO foi mensurado e o diagnóstico de gestação foi realizado no D30 e D60. A TP foi avaliada por regressão logística utilizando o PROC GLIMMIX do SAS. Foram incluídos no modelo final as variáveis tratamento, touro, eCG e cio. Os dados paramétricos foram avaliados por ANOVA usando o PROC MIXED. No Exp 1, a emergência folicular (3,4±0,2 dias), taxa de ovulação (87%) e TP (54%) não diferiram (P>0,1) entre os grupos. O diâmetro e perfusão do FPO não diferiram (P>0,1) no D0 (13,7±0,4mm e 53,8±3%, respectivamente). Entretanto, a perfusão do FPO no D-2 teve uma tendência de aumento (P=0,08) no grupo E₂ (47 ±3%) em relação ao BE (38,8±2%). No Exp2, não houve diferença no diâmetro do FPO entre os grupos (P>0,1). Uma interação (P<0,05) entre grupo e categoria foi observada para a TP no D30 e D60. Avaliando separadamente a TP em cada categoria, não foi observada diferença, entre os grupos BE e E₂ no D30 nas vacas pluríparas (61%, 99/164 vs. 56%,

92/165, respectivamente) e novilhas de 24 meses (45%, 20/46 vs. 50%, 16/36, respectivamente). Maior ($P < 0,05$) TP foi observada em primíparas no grupo E₂ (58%, 26/46) em comparação ao grupo BE (30%, 14/48) no D30. Conclui-se que E₂ quando associado a P₄ possui eficácia similar ao BE sobre a sincronização de nova onda folicular, desenvolvimento do FPO e TP em vacas pluríparas e novilhas. No entanto, em primíparas tal tratamento pode beneficiar a TP pós-IATF, mas estudos futuros são necessários em um maior número de animais.

Agradecimentos: FAPESP (2015/10606-9), CAPES, Boehringer Ingelheim Animal Health do Brasil Ltda.

Influência do ganho de peso sobre a taxa de concepção de vacas Nelore com baixa, intermediária e alta contagem de folículos antrais submetidas a IATF

Fábio Morotti¹, Andressa Guidugli Lindquist¹, Fábio Lucas Zito de Moraes^{1,2}, Amanda Marchi Volpato², João Basso de Souza², Marcelo Marcondes Seneda¹

¹ UEL - Universidade Estadual de Londrina (Rodovia Celso Garcia Cid, Pr 445, Km 380, Campus Universitário, Londrina-PR), ² UNOPAR - Universidade Norte do Paraná (Avenida Paris, 675, Jardim Piza, Londrina-PR)

O objetivo deste estudo foi avaliar a influência da variação de peso sobre a taxa de concepção de vacas Nelore com baixa, intermediária e alta contagem de folículos antrais (CFA) submetidas a inseminação artificial em tempo-fixado (IATF). Vacas Nelore (*Bos indicus*, N = 280), múltíparas (30 - 40 dias pós-parto), com escore de condição corporal variando de 2,0 a 4,5 (escala 1-5) foram selecionadas para receber um protocolo de IATF. Em um dia aleatório do ciclo estral (D0), as vacas receberam um dispositivo intravaginal com 1g de progesterona (P₄, 1º uso, Primer®, Tecnopec, São Paulo, Brasil) e 2mg de benzoato de estradiol (RIC BE®, Tecnopec) por via IM. No D9 retirou-se o dispositivo de P₄ e foram administrados 482µg de cloprostenol sódico (Estron®, Tecnopec), 300UI de gonadotrofina coriônica equina (Folligon®, MSD) e 1mg de cipionato de estradiol (Fertilcare ovulação®, MSD) por via IM. A IATF foi realizada 48 h após a retirada do dispositivo de P₄. A CFA (contagem de folículos ≥ 3 mm) foi determinada no D0 por ultrassonografia transretal. As vacas foram pesadas (Kg) 10 dias antes do início do protocolo e no momento do diagnóstico de gestação (D40), 30 dias após a IATF. Para análise, as vacas foram divididas segundo a CFA em grupos de baixa (≤ 15 folículos), intermediária (≥ 16 e ≤ 34 folículos) ou alta CFA (≥ 35 folículos), e segundo a variação do peso em ganhando (variação positiva de +10 a +90 kg), mantendo (variação de -9 a +9 kg) ou perdendo peso (variação negativa de -10 a -50 kg). Os dados foram analisados pelo modelo de regressão logística, incluindo todos efeitos e interações ($p \leq 0,05$). A taxa de concepção geral foi de 60,7% (170/280). Houve um efeito da variação do peso [ganhando = 65,9%^a (56/85), mantendo = 66,4%^a (75/113) e perdendo = 47,6%^b (39/82); $p = 0,010$], mas não da CFA [baixa = 62,8% (54/86), média = 60,7% (71/117) e alta = 58,4% (45/77); $p = 0,195$] sobre a taxa de concepção. Houve interação ($p = 0,043$) do peso e da CFA. Menor taxa de concepção ($p = 0,05$) foi observada em vacas perdendo peso, tanto no grupo de baixa [ganhando = 61,9%^a (13/21), mantendo = 76,9%^a (30/39) e perdendo = 42,3%^b (11/26)] quanto de alta CFA [ganhando = 69,2%^a (18/26), mantendo = 70,0%^a (14/20) e perdendo = 41,9%^b (13/31)]. No grupo

intermediária, não foi observado efeito da variação do peso [ganhando = 65,8% (25/38), mantendo = 57,4% (31/54) e perdendo = 60,0% (15/25); $p = 0,743$]. No presente estudo, conclui-se que a perda de peso, mas não a CFA ovarina, influencia a taxa de concepção em vacas Nelore submetidas a IATF.

Efeito de diferentes classes de escore de condição corporal sobre a taxa de concepção de vacas Nelore com baixa, intermediária e alta contagem de folículos antrais submetidas a IATF

Camila Bortoliero Costa ¹, Fábio Lucas Zito Moraes ¹, Fábio Morotti ¹, Paula Alvares Lunardelli ¹, Marcelo Marcondes Seneda ¹

¹ UEL - Universidade Estadual de Londrina (Rodovia Celso Garcia Cid, Pr 445 Km 380)

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito de diferentes classes de escore de condição corporal (ECC) sobre a taxa de concepção de vacas Nelore com baixa, intermediária e alta contagem de folículos antrais (CFA), submetidas ao protocolo de inseminação artificial em tempo-fixado (IATF). Foram utilizadas 721 vacas zebuínas, com idade entre 36 e 96 meses e ECC variando de 2,0 a 3,5 (escala 1-5). Os animais destinados à IATF, previamente foram submetidos a um protocolo padrão de sincronização da ovulação em um dia aleatório do ciclo estral denominado D0. Neste dia as fêmeas receberam a inserção de dispositivo intravaginal de progesterona (P4, Cronipres® Mono Dose M-24, Biogénesis Bagó, Buenos Aires, Argentina) em associação à aplicação de 2,0 mg de benzoato de estradiol (Bioestrogen®, Biogénesis Bagó) pela via intramuscular (IM). Após 8 dias (D8), o dispositivo de P4 foi removido e administrado por via IM 150 µg de d-cloprostenol sódico (Croniben® Biogénesis Bagó), 300 UI de gonadotrofina coriônica equina (Novormon®, MSD Saúde Animal, São Paulo, Brasil) e 1,0 mg de cipionato de estradiol (ECP®, Zoetis, São Paulo, Brasil). A CFA de cada animal foi determinada no D0, após exame ultrassonográfico com transdutor linear transretal de 5 MHz. O par de ovários (direito e esquerdo) foi avaliado e o número total de folículos antrais (≥ 3 mm de diâmetro) foi contado e registrado para cada animal. O diagnóstico de gestação foi realizado 30 dias após a data da inseminação. Para análise dos dados, os animais foram divididos em grupos de alta (≥ 30 folículos), intermediária (15 a 25 folículos) e baixa (≤ 10 folículos) CFA, bem como ranqueados em duas classes de ECC: 2,0 a 2,5 e 3,0 a 3,5. A taxa de concepção foi analisada pelo teste de Qui-quadrado adotando um valor de $p \leq 0,05$. No grupo de alta CFA, vacas com classe de ECC 2,0 a 2,5 apresentaram maior taxa de concepção que aquelas com ECC 3,0 a 3,5 (60,9%; [28/46] vs 38,0% [27/71]; $P < 0,05$). No entanto, vacas dos grupos intermediária e baixa CFA apresentaram taxa de concepção semelhante entre as classes de ECC 2,0 a 2,5 vs. 3,0 a 3,5, respectivamente (51,1% vs. 48,3% e 51,7% vs. 59,6%; $P > 0,05$). Considerando apenas o ECC 3,0 a 3,5 tanto o grupo de baixa, quanto intermediária resultaram em maior ($P < 0,05$) taxa de concepção em relação ao grupo de alta CFA. No entanto, este mesmo efeito não foi observado entre as vacas com classes de ECC 2,0 a 2,5. Em conclusão, a taxa de concepção de vacas Nelore com baixa, intermediária e alta CFA demonstraram sofrer influência das diferentes classes de escore de condição corporal quando submetidas a IATF.

Marcadores de estresse e inflamação em ovelhas inseminadas por laparoscopia

Andrez Pastorello Bohn ¹, Vitória Gasperin Guazzelli Costa ¹, Nathália Wacholz Knabah ¹,
Rafael Mielke Barbosa ¹, Jenniffer Hauschildt Dias ¹, Fernando Caetano de Oliveira ¹, Cristina
Sangoi Haas ¹, Augusto Schneider ¹, Rafael Gianella Mondadori ¹, Bernardo Garziera Gasperin ¹,
Arnaldo Diniz Vieira ¹

¹ UFPel - Universidade Federal de Pelotas (R. Gomes Carneiro, 1 - Centro, Pelotas - RS,
96010-610)

A crescente preocupação com o bem-estar animal tem estimulado a necessidade de identificar maneiras eficientes de contornar os efeitos negativos provocados por técnicas de manejo aplicadas aos ovinos. O procedimento laparoscópico indicado na IA com sêmen criopreservado é potencialmente determinante de desconforto e lesão tecidual. Porém, não existem informações suficientes sobre seu impacto em marcadores de estresse e inflamação. Desta forma, o objetivo deste estudo foi determinar o grau de alteração provocado nos níveis de cortisol (COR), proteína plasmática total (PPT), albumina sérica (ALB) e paraoxonase 1 (PON1) em ovelhas submetidas ou não ao manejo para laparoscopia (LAP). Todos os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFPel (CEEA 7340-2016). No início do procedimento (dia -12 = D-12), os animais (n=42) receberam uma esponja intravaginal impregnada com progestágeno (DIV; 60mg acetato de medroxiprogesterona). No D0, o DIV foi removido e os animais receberam uma injeção de 400 UI de eCG e foram divididos em três grupos: controle com coleta de sangue sem LAP (CON; n=4), tratamento com coleta de sangue com LAP (TRA; n=5) e controle sem coleta de sangue e IA com LAP (TP; n=33, apenas para determinação da taxa de prenhez). Entre 54-60 horas após a remoção do DIV, nos grupos TRA e TP foram realizadas as LAP (Killeen&Caffey, Aust. Vet. J. 59, 1982) e a aplicação de cetoprofeno (3mg/kg). No grupo TRA foram realizadas coletas de sangue por punção jugular no início do jejum sólido de 24 h (momento zero = M0) e aos 05 min (M1), 30 min (M2), 60 min (M3), 24 h (M4) e 48 h (M5) após a LAP. No grupo CON as coletas de sangue foram realizadas nos mesmos intervalos que no grupo TRA. As taxas de prenhez no grupo TP foram determinadas por ultrassonografia 25 dias após a IA. Os resultados foram avaliados através de análise de dados repetidos utilizando o *MIXED procedure* (SAS). Foram considerados os efeitos do grupo, momento e suas interações usando nível de significância de 5%. O grupo TRA apresentou maiores níveis de COR no M1 e M5. No intervalo entre M2-M4 os grupos CON e TRA apresentaram níveis semelhantes de COR. Os níveis de PPT foram semelhantes nos dois grupos, havendo apenas efeito do momento (P<0,05). Os níveis de ALB foram menores no grupo TRA no intervalo M1-M3. Os valores de PON1 foram semelhantes entre os grupos em todos os momentos avaliados. A taxa de prenhez aos 25 dias do grupo LAP foi de 37%, possivelmente devido a um efeito inibidor do anti-inflamatório sobre a ovulação. Com base no aumento dos níveis de COR e alteração momentânea das proteínas de fase aguda negativas, pode ser inferido que o manejo de LAP para IA causa estresse e reação inflamatória significativa até as primeiras 24 h após o procedimento. Portanto, é necessário investigar abordagens que minimizem o desconforto e a reação inflamatória, sem afetar negativamente o desempenho reprodutivo dos animais inseminados via laparoscópica.

Efeitos do temperamento e da suplementação mineral e vitamínica nas taxas de prenhez em fêmeas nelore submetidas à IATF

Barbara Piffero Mello ¹, Milton Maturana Filho ², Kleber Menegon Lemes ³, Thiago Santin ¹, Reuel Luiz Gonçalvez ⁴, João Paulo Mendes Lollato ⁴, Ed Hoffmann Madureira ¹, Claudia Maria Bertan Membrive ⁵

¹ FMVZ - USP - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Universidade de São Paulo (Pirassununga/SP), ² MF VetPlan - MF VetPlan Consultoria Veterinária (Águas da Prata/SP), ³ Boehringer Ingelheim - Boehringer Ingelheim (Paulínea/SP), ⁴ Biogénesis-Bagó - Biogénesis-Bagó (Curitiba/PR), ⁵ FCAT - UNESP - Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas (Dracena/SP)

Objetivou-se com este estudo avaliar os efeitos do temperamento de fêmeas Nelore submetidas à IATF (Exp.1) e a suplementação mineral e vitamínica (Adaptador®, Biogénesis Bagó, Brasil) (Exp.2) no diâmetro do folículo dominante no momento da IATF (FD), taxa de prenhez aos 30 (TP30) e 60 dias (TP60). Foram realizadas análises retrospectivas de dados obtidos nas estações de monta de 2012 a 2016 (Exp.1) e de 2014 e 2015 (Exp.2), no Campus da USP em Pirassununga/SP. Nos dois experimentos todas as fêmeas Nelore (novilhas, primíparas e pluríparas), com 50 ± 3 dias pós parto (D-10), foram submetidas ao mesmo protocolo de IATF, recebendo no D-10 um dispositivo intravaginal de progesterona (Cronipress Monodose®, Biogenesis Bagó) e uma aplicação intramuscular (IM) de 2mg de Benzoato de Estradiol (Bioestrogen®, Biogenesis Bagó). No D-2, os dispositivos foram removidos e aplicou-se via IM, 530µg de Cloprostenol Sódico (Croniben®, Biogenesis Bagó), 300 UI de eCG (Ecegon®, Biogenesis Bagó) e 1mg de Cipionato de Estradiol (Cronicip®, Biogenesis Bagó). Após 48 horas procedeu-se a IATF (D0). No D-10 do Exp.1 foi avaliado o Escore Composto de Reatividade (ECR) adaptado de Piovezan (1998), baseado na movimentação e respiração do animal durante sua permanência no tronco de contenção associando a velocidade de saída do tronco, classificando as fêmeas em calmas ($ECR \leq 4$; n=830) ou reativas ($ECR > 4$; n=1872). No Exp.2, nos dias 35 ± 3 pós-parto (D-45) e D-10, os animais foram divididos aleatoriamente em dois grupos para receberem, via subcutânea, uma injeção de 1mL/100kg de peso vivo do Adaptador® (Grupo Adaptador; n=942) ou de placebo (Grupo Controle; n=920). Foi realizada análise de frequência pelo PROC FREQ e análise de regressão logística pelo PROC LOGISTIC, utilizando o programa Statistical Analyses System (SAS, 9.3), com nível de significância de 5%. Em ambos experimentos não houve efeito ($P > 0,05$) de sêmen e estação de monta. No Exp.1, as fêmeas calmas quando comparadas às reativas, apresentaram maior FD (14,35mm vs. 13,43mm; $P = 0,01$) e TP60 (53,3% vs. 47,75%; $P = 0,02$), entretanto não houve diferença na TP30 (57,35% vs. 56,10%; $P = 0,13$), no ECC (1 a 9) no D-10 (5,65 vs. 5,45; $P = 0,06$) e na porcentagem de fêmeas ciclando no D-10 (59,45% vs. 56,33%; $P = 0,8$). No Exp. 2, o grupo Adaptador apresentou maior TP30 (58,37% vs. 50,27%; $P = 0,01$), TP60 (54,8% vs. 46%; $P = 0,01$) e maior ciclicidade no D-10 (56,83% vs. 46,63%; $P = 0,03$) quando comparado com grupo controle e não houve diferença quanto ao FD (13,93mm vs. 12,5mm; $P = 0,73$), ECC no D-10 (5,50 vs. 5,27; $P = 0,88$). Concluiu-se que fêmeas reativas possuem menor fertilidade quando comparadas às calmas e que a

suplementação do Adaptador® nos dias D-35, D-10 e D60, aumenta a taxa de prenhez e ciclicidade dos animais.

Metodologias de identificação do estro como alternativa de otimizar os resultados da IATF

Nathália Albaneze Anache ¹, Karine Casanova da Silva ¹, Walvonvitis Baes Rodrigues ², Jean do Prado Jara ³, Fernando Rech ¹, Pedro Paulo Pires ³, Christopher Junior Tavares Cardoso ¹, Ériklis Nogueira ²

¹ UFMS - Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (Pioneiros, Campo Grande - MS, 79074-460), ² EMBRAPA - Embrapa Pantanal (Rua 21 de Setembro, 1880 - Aeroporto, Corumbá - MS, 79320-900), ³ EMBRAPA - Embrapa Gado De Corte (Av. Rádio Maia, 830 - Vila Popular, Campo Grande - MS, 79106-550)

A pesquisa teve como objetivo comparar a eficácia de diferentes técnicas de detecção de cio em vacas Nelore submetidas a protocolos de IATF e suas relações com a fertilidade. Foram usadas as técnicas: T1-BOLUS: utilização de bolus intraruminal com sensor de temperatura (Trr), T2-BASTÃO: bastão marcador na região sacro-caudal (SILVA et al., 2016), em que: ESCT 1: sem expressão de cio; ESCT2: baixa expressão de cio; ESCT3: alta expressão de cio; T3- DRONE: observação visual de cio com auxílio de drone (DJI- PhAnton 3). O experimento foi realizado na EMBRAPA Gado de Corte, em Campo Grande – MS, com 44 vacas pluríparas, com peso médio de 372±40,97 e ECC de 3,04±0,60 (1-5), avaliadas pelas três técnicas. Foi realizada a introdução por via esofágica do bolus intraruminal com sensor de temperatura e a coleta de dados foi realizada durante os dias 8,9 e 10 do protocolo de IATF. O Trr funciona com sistema de telemetria por rádio frequência, que tem como princípio básico o uso de sensor que gera um impulso elétrico proporcional à variação fisiológica captados por antenas, que possuem alcance de 30 metros. Após a colocação do bolus, o protocolo de IATF utilizado foi: D0: colocação de dispositivo intravaginal de P4 e aplicação de BE (2mg) I.M.; D8: retirada do dispositivo e aplicação de PGF2 α (500 μ g) I.M., ECP (1mg) I.M. e 300 UI de eCG, I.M., e marcação dos animais com o bastão na região sacro-caudal e na região dorsal, para facilitar a identificação na observação visual com o drone, que ocorreu duas vezes ao dia (manhã e tarde) por 60 minutos nos dias 9 e 10. A IATF foi realizada no D10, onde foi avaliada a expressão do cio (ESCT 1-3). O Dg foi realizado 30 dias após a IATF, com ultrassonografia transretal. A expressão de cio de acordo com o método foi avaliada pelo teste de Qui- Quadrado (P<0,05). Para analisar o efeito do método de detecção de cio na probabilidade de prenhez de IATF foi utilizado o pacote PROC LOGISTIC do SAS. A quantidade de vacas identificadas em cio foi de: 61,36% (27/44) com o BOLUS; 56,81% (25/44) com DRONE, e 75% (33/44) com BASTÃO (considerando ESCT 2 e 3), não diferindo a % de cio entre os métodos de detecção (P= 0,17). A taxa de prenhez de IATF foi de 56% e a detecção de cio com bastão apresentou efeito (P= 0,006) na probabilidade de prenhez de IATF, assim como no grupo DRONE (P= 0,01). Já no BOLUS não houve efeito na probabilidade de prenhez (P= 0,35). A comparação dos métodos quanto à detecção do cio mostrou que a capacidade de observação das técnicas foi semelhante, porém, quando correlacionado com a taxa de prenhez da IATF, a utilização do bastão marcador e observação visual através de imagens com drone mostraram-se mais eficientes.

Efeito de diferentes concentrações de sêmen sexado na taxa de concepção de vacas Nelore múltiparas submetidas a IATF

Márcio de Oliveira Marques ¹, Mário Ribeiro Júnior ¹, Fábio Morotti ², Marcelo Marcondes Seneda ², Pietro Sampaio Baruselli ³

¹ *Geraembryo - Geraembryo Ass. Consult. Pec. Ltda (Cornélio Procópio, PR)*, ² *UEL - Universidade Estadual de Londrina (Londrina, PR)*, ³ *USP - Universidade de São Paulo (São Paulo, SP)*

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito de diferentes concentrações de sêmen sexado (SexedULTRA™, Sexing Technologies, Navasota, Texas) na taxa de concepção de vacas Nelore inseminadas em tempo fixo (IATF). Um total de 281 vacas múltiparas Nelore (*Bos indicus*; 35 a 60 dias pós-parto) e com escore de condição corporal (ECC) médio de $2,8 \pm 0,4$ (escala 1-5) foram submetidas a um protocolo de IATF que consistiu na inserção de um dispositivo de progesterona intravaginal (Fertilcare 600®, MSD, São Paulo, Brasil) e uma aplicação intramuscular (IM) de benzoato de estradiol (2 mg, Fertilcare Sincronização®, MSD) em um dia aleatório do ciclo estral (D0, 8:00 AM). Na remoção do dispositivo (D8; 6:00 AM), as vacas receberam cloprostenol sódico (0,530 mg IM, Ciosin®, MSD), gonadotrofina coriônica equina (300 UI IM, Folligon®, MSD) e cipionato de estradiol (1 mg IM, Fertilcare Ovulação®, MSD), além de pintura na base da cauda para avaliar a demonstração de estro. A IATF foi realizada 60 horas após a retirada do dispositivo (D10, 6:00 PM). Utilizando sêmen de um único touro Nelore com fertilidade conhecida, vacas que demonstraram estro (pintura removida) foram inseminadas aleatoriamente com sêmen sexado (fêmea) nas concentrações de 4, 6 ou 8×10^6 de espermatozoides. Vacas que mantiveram a pintura na cauda (sem manifestação de estro) foram inseminadas com sêmen convencional (não sexado; 20×10^6 de espermatozoides) do mesmo touro. O diagnóstico de gestação foi realizado por ultrassonografia transretal 30 dias após a IATF e ao final da estação de monta para se determinar a perda gestacional. Os dados foram analisados pelo modelo de regressão logística adotando $P \leq 0,05$. A taxa de demonstração de estro foi de 82,9% (233/281). A taxa de concepção foi semelhante ($P=0,59$) entre as vacas que receberam a dose de 4 (59,5%; 47/79), 6 (58,4%; 45/77) e 8×10^6 de espermatozoides (51,9%; 40/77). Não houve efeito do ECC ($P=0,58$) ou qualquer interação entre os fatores ($P>0,05$). No grupo de vacas que não apresentaram estro e foram inseminadas com sêmen convencional, 33,3% (16/48) ficaram gestantes. A taxa de perda gestacional com sêmen convencional foi de 6,3% (1/16) e com sêmen sexado foi de 6,8% (9/132), não diferindo ($P=0,61$) entre as três concentrações. Concluímos que as taxas de concepção à IATF em vacas Nelore paridas foram semelhantes com as doses de 4, 6 ou 8×10^6 de espermatozoides sexados.

Agradecimentos: Sexing Technologies Brasil e Agropecuária Loman.

Demonstração de estro e taxa de concepção à IATF de vacas nelore com alta, média ou baixa contagem de folículos antrais

José Henrique Ayres Dias¹, Gustavo Martins Gomes Santos², Nathalia Covre Silva¹, Bruno Ambrozini¹, Maria Eduarda Scheel Bomtempo¹, Katia Cristina Silva Santos^{1,2}

¹ UEL - Universidade Estadual de Londrina (Londrina, PR), ² Sheep Embryo - Sheep Embryo Reprodução Animal (Londrina, PR, Brasi)

O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência do número de folículos antrais (CFA) sobre a apresentação de estro de vacas Nelore durante a sincronização da ovulação. Vacas Nelore (Bos indicus; n = 271), multíparas, com 45 ± 15 dias pós-parto e ECC $3 \pm 0,5$ foram avaliadas por ultrassonografia (transdutor linear 6 MHz; A5V, Sonoscape, Shinzhen, China) para contagem de folículos antrais ≥ 3 mm de diâmetro no D0 (início do protocolo de IATF) e separação dos grupos, com base na média da população folicular ± 1 DP: alta CFA (G-Alta CFA; ≥ 50 folículos, n = 70), média CFA (G-Média CFA; 30-35 folículos, n = 114) ou baixa CFA (G-Baixa CFA; ≤ 25 folículos, n = 87). Em dias aleatórios do ciclo estral (D0), as vacas receberam um dispositivo intravaginal 1 g P4 (Fertilcare 1200®, Vallé, Montes Claros, Brasil) e 2 mg BE (Fertilcare sincronização®, Vallé), IM. Na retirada do implante (D8), receberam 500 ug de cloprostenol sódico (Ciosin®, MSD, São Paulo, Brasil), 300 UI eCG (Folligon®, MSD) e 1 mg CE (Fertilcare ovulação®, MSD), IM, e foram marcadas com tinta marcadora do tipo bastão (Raider®, Walmur, Alemanha) na base da cauda para posterior detecção de estro no dia da inseminação. As vacas foram inseminadas em tempo fixo (IATF) 48-52 h após a retirada do dispositivo de P4 (D10). A manifestação de estro foi considerada para as fêmeas cuja tinta foi removida da base da cauda. O diagnóstico de gestação por ultrassonografia foi realizado 30 dias após a IATF. A comparação entre as taxas de concepção e de apresentação de estro foi realizada pelo teste de Qui-quadrado. Para as análises, $p \leq 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo. Não houve diferença na taxa de apresentação de estro entre os grupos de baixa (69%; 60/87), média (76%; 87/114) e alta CFA (76%; 53/70; $p > 0,05$). A taxa de concepção à IATF não diferiu entre os grupos ($P > 0,05$; 44% - 38/87 G-Baixa CFA; 51% - 58/114 G-Média CFA; 57% - 40/70 G-Alta CFA). Concluiu-se que fêmeas Nelore com alta, média ou baixa CFA, submetidas a protocolo de IATF, não apresentaram diferença na taxa de manifestação de estro e na taxa de concepção.

O tratamento com eCG aumenta o crescimento folicular, a expressão de estro, a taxa de ovulação e a taxa de concepção em vacas Nelore primíparas submetidas à IATF

Bruna Lima Chechin Catussi¹, Roberta Machado Ferreira¹, Reuel Luiz Gonçalves², João Paulo Mendes Lollato², Caroline Pavoski², Atã Taygoara Loureiro², Rodolfo Daniel Mingotti¹, Pietro Sampaio Baruselli¹

¹ VRA/FMVZ - Departamento de Reprodução Animal/ Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (Av. Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva, 87- Cidade Universitária- São Paulo/ SP),
² BIOGÊNESIS BAGÓ - BIOGÊNESIS BAGÓ (Av. Manoel Ribas, 985 - Mercês, Curitiba - PR, 80810-000)

O objetivo do estudo foi avaliar o efeito de diferentes eCG sobre a dinâmica folicular ovariana e a taxa de concepção de primíparas submetidas à IATF, verificando assim a eficácia de dois produtos usualmente utilizados. Para tal, foram usadas 150 vacas Nelore (*Bos indicus*) primíparas com 35 a 50d pós-parto e ECC médio de $2,78 \pm 0,05$ (escala 1-5), da Fazenda Silmar, MT. As vacas foram tratadas com mesmo protocolo de sincronização de emergência de onda folicular e ovulação, diferindo apenas quanto ao uso ou não de diferentes eCG. Em dia aleatório do ciclo estral (D0) as vacas receberam um dispositivo intravaginal com 1g de P4 (Cronipres[®] Mono Dose, Biogénesis Bagó, Curitiba, Brasil) e 2mg de benzoato de estradiol (Bioestrogen[®], Biogénesis Bagó). No D8, o dispositivo foi removido e as vacas receberam 150µg de D-cloprostenol (Croniben[®], Biogénesis Bagó) e 1mg de cipionato de estradiol (Croni-Cip[®], Biogénesis Bagó). Nesse momento, as vacas foram avaliadas por ultrassonografia (Mindray[®] DP-2200Vet) para mensuração do diâmetro do folículo dominante (FD) e presença de CL. Em seguida, foram homogêneas distribuídas (ECC, diâmetro do FD e presença de CL) para receber ou não eCG, compondo os grupos: Controle (sem eCG, n=48), Ecegon (300 UI de Ecegon[®], Biogénesis Bagó, n=51) e Novormon (300 UI de Novormon[®], Zoetis, n=51). Bastão marcador de estro foi aplicado na base da cauda das vacas. A IATF foi realizada 48h após a retirada do dispositivo, junto a avaliação da ocorrência de estro e mensuração do FD. No D16, foi avaliada a ocorrência de ovulação e diâmetro do CL formado. O diagnóstico de gestação foi feito 33d após a IATF. Os dados foram analisados por regressão logística (PROC GLIMMIX do SAS[®]). As vacas dos grupos Controle, Ecegon e Novormon tiveram similares médias de ECC ($2,76 \pm 0,04$, $2,74 \pm 0,05$ e $2,84 \pm 0,04$; $P=0,27$), diâmetro do FD no D8 ($9,8 \pm 0,3$, $9,9 \pm 0,3$ e $9,8 \pm 0,3$ mm; $P=0,89$) e presença de CL [4,2% (2/48), 5,9% (3/51) e 5,9% (3/51); $P=0,96$], respectivamente. Comparativamente às vacas Controle, no D10, tratadas com Ecegon e Novormon tiveram maior diâmetro do FD ($10,8 \pm 0,4^b$ vs $12,2 \pm 0,3^a$ e $11,9 \pm 0,3^a$ mm; $P=0,008$), maior crescimento folicular diário ($0,5 \pm 0,08^b$ vs $1,2 \pm 0,11^a$ e $1,0 \pm 0,09^a$ mm; $P<0,0001$) e maior expressão de estro [68,8%^b (33/48) vs 86,3%^a (44/51) e 80,4%^a (41/51); $P=0,04$], respectivamente. No D16, maior taxa de ovulação [56,3%^b (27/48) vs 88,2%^a (45/51) e 80,4%^a(41/51); $P=0,002$] foi observada nos grupos Ecegon e Novormon, respectivamente. Porém, semelhante diâmetro do CL foi registrado entre os grupos ($13,7 \pm 0,5$ vs $14,8 \pm 0,4$ e $14,8 \pm 0,5$ mm; $P=0,20$). Maior taxa de concepção à IATF ($P=0,06$) foi registrada para vacas tratadas com Ecegon [56,9%^a (29/51)] e Novormon [52,9%^a (27/51)] comparadas às Controle [35,4%^b (17/48)]. Conclui-se que o tratamento com as duas marcas de eCG, aumenta o crescimento folicular, o diâmetro do FD e as taxas de ovulação, estro e concepção, sendo fundamental na IATF de primíparas.

Agradecimento: Condomínio Fazenda Silmar.

Avaliação de diferentes estratégias de suplementação mineral e vitamínica injetável na melhoria da fertilidade de vacas de corte em diferentes regiões do Brasil

Milton Maturana Filho ¹, Roberta Machado Ferreira Saran ⁵, João Abdon dos Santos dos Santos ³, João Paulo Mendes Lollato ², José Lauro Costa Junior ⁴, Charles Shutz ⁶, Clóvis Juk Fazzano ⁷, Rooveth Luis Melo de Souza ⁸, Reuel Luiz Gonçalves ²

¹ VETPLAN - MF VETPLAN Consultoria Agropecuária (Rua José Ferreira, 130, Bairro do Lago, Águas da Prata-SP, CEP 13890-000, Águas da Prata-SP, Brasil), ² Bio - Biogénesis Bagó Saúde Animal (Av. Manoel Ribas, 985 - 5º andar Cep: 80810 -000 Curitiba - PR Brasil), ³ JA REPROGEN - JA REPROGEN Serviços em reprodução e melhoramento Genético (Rua Mem de Sá, 590, Centro, Eunápolis-BA CEP 45820-052), ⁴ Mais Cria - Mais Cria Serviços em reprodução e melhoramento Genético (Rua Clovis Barreto, 112, São Luiz Jequié, BA CEP 45203-290), ⁵ MV - Médico Veterinário (Rua das Violetas, 257, Jd Rafaela Casa Branca SP CEP 13700-000), ⁶ MV2 - Médico Veterinário (Rua Ildebrando Souza Barbosa, 201, Piracema, Coxim MS CEP 79400-000), ⁷ MV3 - Médico Veterinário (Avenida Paulista. 333 Nova York Araçatuba SP CEP 18880-000), ⁸ MV4 - Médico Veterinário (Av. São Paulo 1235 Centro Pontes e Lacerda MT CEP 78250-000)

A suplementação estratégica de vitaminas e minerais tem sido associada a melhoria do desempenho reprodutivo em vacas de corte, principalmente, pelo fato de que a carência de Selênio, Zinco e Cobre, ocorre em grande parte do Brasil. Estes microminerais são essenciais a atividades metabólicas, reprodutivas e antioxidativas, principalmente em períodos de maior demanda e/ou estresse. Dois estudos foram realizados com o objetivo de comparar diferentes estratégias para suplementação mineral e vitamínica injetável (Kit Adaptador® MIN e VIT Biogénesis Bagó), com intuito de aumentar a fertilidade na estação de monta. O primeiro estudo foi realizado em fazendas comerciais em MG e SP, utilizando um delineamento inteiramente casualizado com arranjo fatorial de tratamentos (2X2), sendo os grupos experimentais: G1) 2 doses do suplemento, com intervalo de 20 dias (N=175); G2) 1 dose do suplemento no início do protocolo (n=175); G3) 1 dose do suplemento 20 dias antes do protocolo (n=175) e, G4) controle (n=175). O protocolo hormonal utilizado foi: D0= inserção do implante Cronipres® Mono Dose e aplicação de 2 mg de BE (Bioestrogen®); D8,5= retirada do implante e aplicação de 300 UI de eCG (Ecegon®,) e 75 µg de D-Cloprostenol (PGF2α, Croniben®) e 1mg BE (Biogénesis Bagó). No D10 foi realizada a IATF. A taxa de ciclicidade, e a taxa de concepção (TC) foram avaliadas por ultra-sonografia (Mindray DP 2200 Vet, com probe linear de 5,0 MHz). O segundo estudo foi realizado em 21 fazendas (n=9744), em parceria com duas empresas de reprodução e dois médicos veterinários, em diferentes regiões produtoras do Brasil, utilizando ou não uma dose do suplemento no início do protocolo de IATF (C=4982 e Trat=4762). Foram realizadas as análises de frequência e análise de regressão logística pelo PROC LOGISTIC, utilizando-se o programa SAS, 9.3 adotando-se nível de significância de 5%. No primeiro estudo, um efeito positivo do suplemento injetável no diâmetro do folículo dominante no momento da IATF (G1=15,3, G2= 13,1, G3=14,8 e G4=13,2 P=0.04). O tratamento melhorou a taxa de concepção, no primeiro (G1=61,1%, G2= 57,7%, G3=52,5% e G4=51,4% P=0.03), no segundo protocolo (G1=59%, G2= 62,5%, G3=60% e G4=50% P=0.03) e a taxa de prenhez acumulada (G1=82%, G2= 81,1%, G3=79,4% e G4=72% P=0.02). A taxa de ciclicidade das vacas vazias no primeiro (G1=75%, G2= 63,5%, G3=63,8% e G4=54,5% P<0.04) e no segundo protocolo de IATF (G1=65%, G2= 59,3%, G3=63% e G4=47,8% P=0.01), bem como o tamanho médio do corpo lúteo (G1=16,2, G2= 13,6, G3=16,1 e G4=12,9 P=0.02) foi superior nos animais tratados. No segundo estudo o tratamento também melhorou a taxa de prenhez, em múltiparas (C=48,1% vs Trat = 68,5% P<0.001), primíparas (C=50,3% vs Trat = 56,1% P=0.02) e novilhas (C=52,2% vs Trat = 57,3 % P=0.04). Portanto, a suplementação estratégica com KIT Adaptador® MIN e VIT (Biogénesis Bagó) aumenta a taxa de concepção e a ciclicidade em vacas de Corte de diversas categorias.

Avaliação da suplementação mineral e vitamínica injetável (Kit Adaptador® MIN e VIT, Biogénesis Bagó) na melhoria de parâmetros ovarianos e de fertilidade em vacas Nelore

Reuel Luiz Gonçalves ¹, Milton Maturana Filho ², João Paulo Mendes Lollato ¹, Kleber Menegon Lemes ³, Thiago Santin ³, Manuel Agustin Silva ³, Guillermo Mattioli ⁴, Juan Manuel Rodriguez Périco ¹, Ed Hoffmann Madureira ³

¹ Bio - Biogénesis Bagó Saúde Animal (Av. Manoel Ribas, 985 - 5º andar Cep: 80810 -000 Curitiba - PR Brasil), ² VETPLAN - MF VETPLAN Consultoria Agropecuária (Rua José Ferreira, 130, Bairro do Lago, Águas da Prata-SP, CEP 13890-000, Águas da Prata-SP, Brasil), ³ VRA - Departamento de Reprodução Animal, FMVZ/USP, São Paulo, Brasil (Avenida Duque de Caxias Norte, 225, Jd Elite, Campus da USP), ⁴ UNI LaPlata - Universidad de La Plata (Av 7 877, La Plata, Buenos Aires, 1900, Argentina)

A suplementação estratégica de vitaminas e minerais durante o período pré IATF tem sido associada a melhoria do desempenho reprodutivo em vacas de corte, no entanto, a carência de micronutrientes como Selênio, Manganês Zinco e Cobre e vitaminas como Retinol (A) e Tocoferol (E), ocorre em grande parte do Brasil. Estes microminerais e vitaminas são essenciais a atividades antioxidativas, que podem contribuir com melhoria da fertilidade em vacas de corte. O objetivo desse estudo foi verificar a eficiência da suplementação mineral e vitamínica injetável (KIT Adaptador® MIN e Adaptador® VIT, Biogénesis Bagó) no início dos protocolos de IATF durante a estação de monta na melhoria da fertilidade de vacas da raça nelore (n=1232). O experimento foi conduzido em fazendas comerciais e no setor de bovinos de corte do campus administrativo da USP de Pirassununga. Os animais foram divididos em dois grupos, sendo um grupo controle (C=610) que não recebeu suplementação e um grupo de animais tratados (trat=622) com KIT Adaptador® MIN e Adaptador® VIT no início do protocolo de IATF. O protocolo hormonal utilizado foi: D0= inserção do implante Cronipres® Mono Dose com 1 g de P4+ aplicação de 2 mg de BE (Bioestrogen®); D8,5= retirada do implante intravaginal de P4+ aplicação de 300 UI de eCG (Ecegon®), + 75 µg de D-Cloprostenol (PGF2α) + 1mg BE (Bioestrogen®). No D10 foi realizada a IATF no período da manhã. As avaliações dos parâmetros ovarianos foram realizadas no início do protocolo, na retirada do implante, no dia da IATF e no dia do diagnóstico de gestação por ultra-sonografia (Mindray DP2200 Vet, com probe linear de 5,0 MHz). A avaliação de concepção foi realizada nos dias 30 e 60 dias após a IATF Os dados obtidos foram submetidos à análise de frequência e a análise de regressão logística pelo PROC LOGISTIC, utilizando-se o programa Statistical Analyses System (SAS, 9.3) adotando-se nível de significância de 5%. O tratamento influenciou positivamente (P<0.05) o tamanho do folículo dominante no momento da retirada (C=12,5 mm vs Trat 13,2 mm) e também no dia da IATF (C=13,1mm vs Trat 14,4 mm). O tratamento também melhorou a taxa de prenhez (P<0.05), tanto no primeiro (C=46,5 % vs Trat 58,7 %) como no segundo protocolo de IATF (C=49,1 % vs Trat 55,6 %), conseqüentemente na taxa de prenhez acumulada (C=72 % vs Trat 80,9 %) e na taxa de concepção final da estação (C=81,1 % vs Trat 88,2 %). A taxa de ciclicidade das vacas vazias no primeiro (C=54,1 % vs Trat 66,5 % P<0.05) e no segundo protocolo de IATF (C=47,8% vs Trat 61,8 % P<0.05), bem como o tamanho médio do corpo

lúteo (C=12,6 mm vs Trat 14,4 mm P<0.05) foram superiores para os animais tratados. Portanto, a suplementação estratégica com KIT Adaptador® MIN e Adaptador® VIT, (Biogénesis Bagó) é eficiente na melhoria de resultados em programas de IATF e ressincronização em bovinos de Corte, principalmente por auxiliar no aumento do tamanho do folículo ovulatório dos animais.

Fertilidade após primeiro serviço na IATF e repasse com touro de novilhas Nelore submetidas a protocolo de indução precoce da puberdade com ou sem aplicação de PGF2 α

Paulo Sergio Lavigne Sampaio ², Ana Carolina Bahia Teixeira ¹, Juliana Wilke Diniz Horta ¹, Iuri Antunes Pereira Lima ¹, Fernanda Carolina Alves da Cruz ¹, Felipe Fantini dos Santos Scarpelli ¹, Isabella Macedo Coutinho ¹, Virginia Maria Toledo Vilela ¹, Gabriel Augusto Monteiro ¹, Clara Slade Oliveira ⁴, Fabio Morato Monteiro ³, Leticia Zoccolaro Oliveira ¹

¹ UFMG - Universidade Federal de Minas Gerais (Campus Pampulha da UFMG - Av. Antônio Carlos, 6627 - São Luiz, Belo Horizonte - MG, 31270-901), ² EAO (Empreendimentos Agropecuários e Obras SA) - Fazenda Boa Vista (distrito de Ibitupã, município de Ibicui - Bahia), ³ IZ - Instituto de Zootecnia (Sertãozinho, SP), ⁴ CNPGL - EMBRAPA Gado de Leite (Valença, RJ)

O objetivo foi avaliar a fertilidade de novilhas Nelore após protocolos de indução de puberdade com progesterona (P4), com ou sem aplicação de PGF2 α . Foram avaliados dois lotes de novilhas criadas a pasto e suplementadas com proteinado (3g/kg peso vivo), totalizando 389 animais. As novilhas do lote1 apresentavam 14,5m de idade e peso médio de 310kg (n=193) e as do lote2 14,0m e média de 296kg (n=196). O protocolo de indução da puberdade consistiu na aplicação de um dispositivo intravaginal de P4 de 4ºuso (CIDR, Zoetis) por 12d. No dia da retirada do dispositivo, metade dos animais recebeu 1mg i.m. de Cipionato de Estradiol (ECP, Zoetis) (CONT) e a outra metade recebeu 1mg i.m. de ECP mais 12.5mg i.m. de Dinoprost (Lutalyse, Zoetis) (gPGF). Aos 12d após remoção do dispositivo, foi iniciado o mesmo protocolo de IATF em todos os animais: no D0, aplicou-se CIDR (Zoetis) de 4ºuso e 2mg i.m. de BE (Gonadiol®, Zoetis). No D9, aplicou-se 12.5mg i.m. de Dinoprost (Lutalyse), 1mg i.m. de ECP (Zoetis) e removeu-se o CIDR. A IATF foi realizada 48h após (D11), utilizando sêmen de apenas um touro em todas as novilhas de ambos os lotes. Todas novilhas receberam 2,3g de acetato de melengestrol/animal/dia (MGA, Zoetis) no sal proteinado entre o D13 e o D18 pós IATF. Aos 20d após IATF, 15 touros de repasse foram incluídos em cada lote, permanecendo por 40d. O diagnóstico de gestação (DG) para avaliar taxa de concepção ao primeiro serviço (TC1) foi realizado 33d após IATF. Nas fêmeas diagnosticadas vazias nesse primeiro exame, o DG foi reavaliado 30d após a retirada dos touros (TC2). Dados das TC1 e TC2 foram transformados e comparados entre grupos (CONT e gPGF) pelo teste de Fisher no GraphPad INSTAT considerando P<0,05. Para TC1, houve diferença (P=0,0009) do lote1 (63,7%, n=123/193) comparada ao lote2 (46,9%; n=92/196), de modo que os lotes foram avaliados separadamente. No lote1, não houve efeito de ECC (P=0,2321), nem inseminador (Ins; Ins1=64,2% e Ins2=63,3%; P=0,8929), sobre TC1. Também não houve efeito (P=0,5881) do protocolo de indução da puberdade sobre a TC1 (CONT=61,8%, n=60/97; gPGF=65,6%, n=63/96), nem

sobre a TC2 (CONT=64,9%, n=24/37; gPGF=66,7%, n=22/33; P=0,8806). Ao final desse período avaliado, a TC total do lote1 foi 87,6% (169/193), sendo 86,6% (84/97) para CONT e 88,5% (85/96) para gPGF (P=0,6849). No lote2, não houve efeito de ECC (P=0,1214), porém houve de Inseminador. O Ins1 apresentou melhor (P=0,0050) TC1 para novilhas CONT (56,2%; n=27/48) e gPGF (59,1%; n=26/44) comparado com Ins2 (CONT=38,9%, n=21/54; gPGF=36,0%, n=18/50). Não houve efeito de tratamento sobre TC1 (CONT=47,0%, n=48/102; gPGF=46,8%, n=44/104; P=0,9733) nem sobre TC2 (CONT=35,2%, n=19/54; gPGF=50,0%, n=25/50; P=0,092). Ao final, a TC total do lote2 foi 69,4% (136/196), sendo 65,7%(67/102) para CONT e 73,4%(69/94) para gPGF (P=0,121). Concluiu-se que a adição de PGF2 α no final do protocolo de indução de puberdade não melhorou a fertilidade de novilhas precoces submetidas a IATF.

GnRH aumenta a taxa de prenhez em vacas Nelore submetidas a IATF e sem manifestação de estro

Guilherme A Veras¹, M. C. Farias¹, R. A. Silva Júnior¹, Milton Maturana Filho², Reuel Luiz Gonçalves³, João Paulo Mendes Lollato³, C. C. Bartolomeu¹, M. A. L. Oliveira¹

¹ UFRPE - Departamento de Reprodução Animal, UFRPE, Pernambuco, Brasil (Universidade Federal Rural de Pernambuco, Pernambuco, Brasil), ² VETPLAN - MF VETPLAN Consultoria Agropecuária (Rua José Ferreira, 130, Bairro do Lago, Águas da Prata-SP, CEP 13890-000, Águas da Prata-SP, Brasil), ³ Bio - Biogênese Bagó Saúde Animal (Av. Manoel Ribas, 985 - 5º andar Cep: 80810 -000 Curitiba - PR Brasil)

O objetivo foi avaliar a importância da ocorrência de estro e da administração de GnRH no momento da IATF na taxa de prenhez de vacas Nelore. Foram utilizadas 1.036 vacas primíparas e múltiparas da raça Nelore (*Bos indicus*), ECC médio de $2,80 \pm 0,02$ (escala 1-5) em 3 fazendas comerciais, localizadas nos estados do Maranhão, Paraíba e Sergipe, Brasil, que foram mantidas conforme manejo da fazenda, sob pastejo em *Brachiaria decumbens*, com livre acesso a água e suplementação mineral. O protocolo hormonal base utilizado foi: dispositivo intravaginal com 1,9g de P₄, novos e reutilizados e 2 mg de benzoato de estradiol im. No dia 7 receberam 12,5 mg de dinoprost im, no dia 9 os dispositivos intravaginal foram removidos e administrado 300 UI de eCG e 1 mg de cipionato de estradiol im, e inseminadas em tempo fixo após 48 - 52 horas. No momento da IATF, foram distribuídas homogeneamente de acordo com a ocorrência de estro e administrado 10,5 mcg de Acetato de Buserelina, GnRH: sem estro – sem GnRH, sem estro – com GnRH, com estro – sem GnRH e com estro – com GnRH. A taxa de prenhez foi avaliada por ultrassonografia (Mindray M5 Vet, com transdutor linear de 5,0 MHz). Os dados obtidos foram submetidos à análise de frequência pelo PROC FREQ e análise de regressão logística pelo PROC LOGISTIC, utilizando-se o programa Statistical Analyses System (SAS, 9.3) adotando-se nível de significância de 5%. A taxa de ocorrência de estro e taxa de prenhez foi 60% (621/1036) e 50,2% (520/1036), respectivamente. Vacas que apresentaram estro após protocolo de sincronização tiveram maior taxa de prenhez quando comparadas as que não apresentaram estro (P<0,05), no grupo controle (estro 55,7%, 205/368 e não estro 37,4%, 65/174) e no grupo GnRH (estro 54,9%, 139/253 e não estro 46,1%, 111/241). Vacas tratadas com GnRH e que não

apresentaram estro (46,1%, 111/241) apresentaram maior taxa de prenhez ($P < 0,05$) do que vacas controle (37,4%, 65/174). A ocorrência de estro foi fator importante associado a melhorias na taxa de prenhez em vacas Nelore lactantes, assim como, a administração de GnRH, em vacas que não exibiram estro.

A administração de hCG no sétimo dia após início do estro pode contornar efeitos negativos de protocolo de relaxamento cervical em ovelhas: Resultados preliminares

Aline Matos Arrais¹, Marco Roberto Bourg de Mello¹, Luana Rangel Côrtes², Gisele Caldas Bonato³, Thaís de Almeida Oliveira⁴, Bruno Pena Carvalho⁵, Jeferson Ferreira da Fonseca⁶

¹ UFRRJ - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (Seropédica, Rio de Janeiro- Brasil),

² UFF - Universidade Federal Fluminense (Niterói, Rio de Janeiro- Brasil), ³ UFV - Universidade Federal de Viçosa (Viçosa, Minas Gerais– Brasil.), ⁴ UNIPAC - Universidade Presidente Antônio Carlos (Juiz de Fora, Minas Gerais – Brasil.), ⁵ EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Rio Branco, Acre – Brasil), ⁶ EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Coronel Pacheco, Minas Gerais– Brasil)

O relaxamento cervical por meio da associação de benzoato de estradiol, cloprostenol e ocitocina permite a transposição cervical e coleta de embriões em ovelhas pelo método não cirúrgico (Fonseca et al., Theriogenology, 86:144-151, 2016). No entanto, em receptoras, a utilização deste protocolo torna-se inviável devido à utilização do cloprostenol, que é um agente luteolítico. Sabe-se que ovelhas formam corpos lúteos acessórios pela administração de hCG sete dias após o início do estro (Castro et al., Anim. Reprod., 12:148, 2015). Portanto, o objetivo deste estudo foi desenvolver um protocolo de relaxamento cervical em ovelhas receptoras de embrião sem comprometer o estabelecimento da futura gestação. Para isto, fêmeas ovinas mestiças cíclicas ($n=24$), com peso e escore da condição corporal (ECC) médio de $50,8 \pm 9,0$ Kg e $3,5 \pm 0,35$ respectivamente, foram submetidas à sincronização de estro pela administração de duas doses 30 μ g de d-cloprostenol (Prolise®, Tecnopec LTDA, São Paulo, Brasil), com intervalo de 11,5 dias, via intramuscular (i.m.). Dois carneiros (Santa Inês e Lacaune), previamente submetidos a exame andrológico, foram utilizados nas detecções de estro à cada 12 horas, por 96h, a partir da segunda aplicação de cloprostenol. As fêmeas foram acasaladas, no início do estro (D0) e a cada 12 horas se ainda em estro. De acordo com peso, ECC e início do estro, as fêmeas cobertas foram distribuídas de maneira uniforme nos seguintes grupos: Grupo 1= não submetidas a protocolo de relaxamento cervical (controle, $n=4$); Grupo 2= submetidas a protocolo de relaxamento cervical ($n=5$) pela administração de 1mg de BE (Benzoato HC®, Hertape Calier, Minas Gerais- Brasil) i.m., no D6 (16:00h) e 50 UI de OX (Ocitocina Forte UCB®, UCB saúde animal, São Paulo - Brasil), i.m. no D7 (08:00h); Grupo 3 = submetidas a protocolo de relaxamento + 300 UI hCG (Vetecor®, Hertape Calier, Minas Gerais- Brasil) i.m., no D7 às 16:00 h ($n=4$). O diagnóstico de gestação foi realizado no D30 por ultrassonografia transretal em modo B, com auxílio de transdutor linear de 7,5 MHz (Mindray® M5vet, Shenzhen, China). Os dados foram apresentados de forma descritiva. Treze ovelhas foram observadas em estro de 24 fêmeas submetidas ao protocolo de sincronização. A taxa de gestação foi de 75,0 % (3/4) em G1, 0,0% em G2 (0/5) e 50,0% em G3 (2/4). Os resultados preliminares sugerem que a associação de

benzoato de estradiol e ocitocina podem comprometer o estabelecimento da gestação e que o uso do hCG, ao término do protocolo, no D7, pode contornar parcialmente esses efeitos negativos, permitindo o estabelecimento da gestação.

Correlação da contagem de folículos antrais com hormônio anti-mülleriano e progesterona em novilhas *indicus-taurus* submetidas ao protocolo de sincronização da ovulação

Emilly Pitman de Castro ¹, Ana Clara Canto Souza ¹, Fábio Morotti ¹, Gustavo Martins Gomes dos Santos ², Katia Cristina Silva-Santos ², Celso Koetz Junior ³, Marcelo Marcondes Seneda ¹

¹ UEL - Universidade Estadual de Londrina (Rodovia Celso Garcia Cid - Pr 445 Km 380 - Cx. Postal 10.011 - Campus Universitário, Londrina - PR, 86057-970), ² Sheep Embryo - Sheep Embryo Reprodução Animal (Assaí - PR), ³ UNOPAR - UNOPAR Campus Arapongas (Rodovia PR 218, KM 01, Arapongas - PR, 86702-670)

Considerando-se os dados controversos entre fêmeas *Bos taurus* e *Bos indicus* quanto à contagem de folículos antrais (CFA) e variáveis reprodutivas, o objetivo deste estudo foi determinar as concentrações plasmáticas de hormônio anti-mülleriano (AMH) e de progesterona (P4) em novilhas *indicus-taurus* com diferentes CFA submetidas a protocolo de sincronização da ovulação, bem como determinar as correlações destes hormônios com o número de folículos antrais. Novilhas Bradford (5/8 Nelore x 3/8 Hereford, N=137), com 24 meses de idade e escore de condição corporal $3,0 \pm 0,5$ foram previamente examinadas por ultrassom equipado com transdutor microconvexo intravaginal (7,5 MHz) para contagem de folículos antrais (CFA; folículos ≥ 3 mm) e seleção dos grupos experimentais: alta (≥ 40 folículos; N=22), intermediária (≥ 20 e ≤ 25 folículos; N=22) e baixa CFA (≤ 10 folículos; N=23). Para sincronização da ovulação, em dia aleatório do ciclo estral (D0), todas as novilhas receberam um implante auricular de norgestomet (Crestar®, MSD, Brasil) e 2mg de benzoato de estradiol (Estrogin®, Farmavet, Brasil) por via intramuscular (IM). Na retirada do implante (D8), as novilhas receberam 500µg de cloprostenol (Ciosin®), 300 UI de gonadotrofina coriônica equina (Novormon®, Zoetis, Brasil) e 1mg de cipionato de estradiol (ECP®, Zoetis) por via IM. Exames ultrassonográficos foram realizados no D4 para determinar a CFA, a cada 12h a partir da remoção do implante (D8) para controle da ovulação, e 7 dias após a ovulação (D18) para mensuração do diâmetro do corpo lúteo (CL). Colheitas de sangue foram feitas no D4 e 18 para determinação das concentrações de AMH e P4, respectivamente. Em duplicata, as concentrações de AMH foram determinadas por Kit Elisa (DSL 10 14400-Beckman-Coulter®, Immunotech, República Tcheca) e de P4 por radioimunoensaio (kit RIA IM1188, Beckman Coulter®) em amostras de 100 µL. Os dados foram analisados pelo modelo linear generalizado e as correlações pelo coeficiente de Spearman. Para efeito significativo considerou-se $p \leq 0,05$. A CFA no D4 foi de $47,3 \pm 7,5a$ para o grupo alta, $23,4 \pm 2,2b$ para intermediária e $8,5 \pm 2,8c$ folículos para o grupo de baixa ($P < 0,0001$). As concentrações séricas do AMH no D4 foram de $0,53 \pm 0,05a$; $0,22 \pm 0,03b$ e $0,08 \pm 0,01c$ ng/mL para os grupos de alta, média e baixa CFA, respectivamente ($P < 0,0001$). O diâmetro médio do CL ($19,3 \pm 3,0$; $19,7 \pm 3,0$ e $20,4 \pm 3,0$ mm) e as concentrações séricas de P4 ($3,07 \pm 0,34$; $3,32 \pm 0,47$ e $3,17 \pm 0,34$ ng/mL) no D18 foram similares ($P > 0,05$) para os grupos de alta, intermediária e baixa CFA, respectivamente. A

correlação entre CFA e AMH foi de 0,80 ($P < 0,0001$) e entre CFA e P4 foi de 0,05 ($P > 0,05$). Conclui-se que novilhas *indicus-taurus* com diferentes CFA apresentam diferentes concentrações de AMH. Além disso, foi observado uma alta correlação entre a CFA e a concentração de AMH, seguindo padrão semelhante ao já descrito para fêmeas *taurus* e *indicus*.

Comparação de diferentes doses de eCG para protocolos de ressincronização de estro para IATF em ovinos

Augusto Ryonosuke Taira¹, Juliana Dantas Rodrigues Santos¹, Mário Felipe Alvarez Balara¹, Eduardo Kenji Nunes Arashiro¹, Isabel Oliveira Cosentino¹, Ana Beatriz da Silva Carvalho¹, Ana Luiza Cunha Bade¹, Rodolfo Ungerfeld², Felipe Zandonadi Brandão¹

¹ UFF - Universidade Federal Fluminense (R. Vital Brasil Filho, 64 - Santa Rosa, Niterói - RJ),

² FVET - Facultad de Veterinaria, Universidad de la República (Alberto Lasplaces, 11600 Montevideo, Uruguai)

A ressincronização de estro em fêmeas que não ficaram prenhes no primeiro serviço, associada ao diagnóstico precoce de gestação, podem aumentar a taxa de prenhez cumulativa e diminuir o intervalo entre partos. Todavia, há poucos estudos sobre ressincronização em ovinos. Assim, se faz necessário o estabelecimento de um protocolo eficiente, com a utilização de uma dose adequada de eCG. Deste modo, objetivou-se avaliar o uso de diferentes doses de eCG para um protocolo de ressincronização de estro e ovulação visando a IATF em ovinos. Um total de trinta ovelhas da raça Santa Inês foram submetidas a um protocolo hormonal de sincronização de estro (Balara et al., *Domestic Animal Endocrinology*, 54:10-14, 2016). No 12º dia do ciclo estral, todos os animais receberam uma esponja impregnada com 60 mg de acetato de medroxiprogesterona (MAP; Progespon, Schering Plough, São Paulo, Brasil). No 17º dia do ciclo estral, considerado como o dia do diagnóstico precoce da gestação em ovinos (Arashiro et al., *Theriogenology*, 106:247-252, 2018) e início do protocolo de ressincronização, as ovelhas foram randomizadas em três grupos experimentais ($n=10/\text{grupo}$) de acordo com as doses de eCG (Novormon, Schering Plough, São Paulo, Brasil) administrada. O G1, G2 e G3 receberam 300 UI, 200 UI de eCG e salina, respectivamente, no momento da retirada da esponja. Trinta e seis horas após a retirada da esponja, todos os animais receberam 0,025 mg de acetato de gonadorelina (Gestran Plus, Tecnopec, São Paulo, Brasil). A cada 12 h após a retirada da esponja, observou-se o comportamento sexual, assim como, o momento da ovulação por ultrassonografia transretal (Sonoscape S6, SonoScape, Shenzhen, China), confirmada pelo desaparecimento do(s) folículo(s) dominante(s). Os dados foram testados quanto à normalidade e homocedasticidade pelo teste de Lilliefors e Levene, respectivamente. Na sequência foi realizada a ANOVA e teste de Tukey para a comparação de médias. Variáveis não normais ou com variâncias desiguais foram analisadas pelo teste de Kruskal-Wallis com comparação de médias pelo teste de Dunn. Adotou-se 5% de significância para todos os testes. Não foram encontradas diferenças entre os grupos (G1, G2 e G3) quanto à duração do estro ($39,5 \pm 12,3$ vs. $31,9 \pm 12,1$ vs. $39,7 \pm 14,0$; $P > 0,05$), intervalo da retirada da esponja ao início do estro ($31,1 \pm 7,1$ vs. $30,3 \pm 9,8$ vs. $30,2 \pm 8,6$; $P > 0,05$), intervalo da retirada da esponja à ovulação ($46,8 \pm 11,5$ vs. $56,2 \pm 3,8$ vs. $54,1 \pm 14,9$; $P > 0,05$), início do estro à ovulação ($19,2 \pm 14,7$ vs. $24,3 \pm$

10,0 vs. 20,9 \pm 14,1; $P > 0,05$) e número de ovulações (1,2 \pm 0,4 vs. 1,1 \pm 0,3 vs. 1,1 \pm 0,4; $P > 0,05$). Todavia, o intervalo da retirada da esponja à ovulação em G2 apresentou homocedasticidade quando comparado às variâncias de G1 e G3, ou seja, o G2 concentrou mais o momento da ovulação. Deste modo, indica-se o protocolo de ressincronização para IATF em ovinos adotando a dose de 200 UI de eCG.

Comparação entre FSH e eCG em um protocolo para Inseminação Artificial em Tempo Fixo em fêmeas Nelore

Alexandra Soares Rodrigues ¹, Tiago Oliveira Brandão ², Jackeline Ferreira dos Santos ¹, Gabriel Gomes Dalchiavon ¹, Myrlla Rodrigues Alcantara ¹

¹ UFOB - Universidade Federal do Oeste da Bahia (Av. 23 de Agosto, 860, Centro, Barra, Bahia, Brasil CEP: 47100-000), ² IFNMG - Instituto Federal do Norte de Minas Gerais (Rodovia MG- 404 Km2 S/N, Salinas, MG CEP39560-000)

Objetivou-se avaliar a expressão do estro, o diâmetro do folículo ovulatório (DFOL) e a fertilidade de fêmeas Nelore lactantes tratadas com o hormônio folículo estimulante (FSH) ou gonadotrofina coriônica equina (eCG) como estimulantes do crescimento folicular em um protocolo para Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF). Para tanto, foram utilizadas 105 fêmeas da raça Nelore lactantes, com 50 a 60 dias pós-parto, pertencentes à categoria múltipara, escore de condição corporal (ECC) de 2,58 \pm 0,11 (escala de 1 a 5). Em um dia aleatório do ciclo estral denominado dia zero (D0) foi iniciado o protocolo de sincronização por meio da inserção de dispositivo intravaginal contendo 1,0g de progesterona (P4) (DIB[®], Zoetis, São Paulo, Brasil) e aplicação de 2,0mg de benzoato de estradiol (Gonadiol[®], Zoetis, São Paulo, Brasil) por via intramuscular (im). No dia oito (D8) removeu-se os dispositivos de P4 e administrou-se 12,5mg de dinoprost trometamina (Lutalyse[®], Zoetis, São Paulo, Brasil) im e 1mg de cipionato de estradiol (E.C.P.[®], Zoetis, São Paulo, Brasil) im. Neste momento, as fêmeas foram divididas equitativamente de acordo com o ECC em dois grupos: Grupo eCG - aplicação de 300UI de Gonodotrofina Coriônica Equina (eCG) (Novormon[®], Zoetis, São Paulo, Brasil) im e Grupo FSH - aplicação de 10 mg de Hormônio Folículo Estimulante (FSH) (Folltropin[®], Vetoquinol, São Paulo, Brasil) im. Os animais foram marcados com bastão marcador entre a tuberosidade sacral e a inserção da cauda para determinação da expressão do estro. No dia 10 (D10), previamente as IATFs, os animais foram avaliados de acordo com a expressão do estro verificada pela remoção da tinta do bastão marcador. Adicionalmente, as vacas foram examinadas por ultrassonografia transretal para mensuração do DFOL. As inseminações foram realizadas utilizando sêmen criopreservado de um único touro Nelore. O diagnóstico de gestação foi realizado por ultrassonografia transretal 30 dias após as IATFs. Os dados obtidos foram processados pelo SPSS considerando $P \leq 0,05$. Para avaliar as diferenças entre os grupos no DFOL utilizou-se a análise de variância e o teste de Tukey; o índice de expressão de estro e a taxa de concepção foram comparadas empregando o teste de Qui-quadrado. A taxa de expressão de estro geral foi de 65,7% (69/105). Não houve diferença ($P=0,66$) entre as taxas de expressão de estro obtidas nos grupos eCG e FSH sendo de 67,1% (47/70) e 62,9% (22/35), respectivamente. O tratamento eCG apresentou um DFOL de 12,09 \pm 2,33mm, semelhante aquele esboçado pelo grupo FSH de

12,23±2,93mm (P=0,89). No que se refere aos índices de fertilidade, os grupos eCG e FSH demonstraram taxas de concepção equivalentes, sendo de 48,5%(33/68) e 41,2%(14/34), respectivamente (P=0,48). A expressão do estro, o diâmetro folicular e a fertilidade não foram afetados pelo tratamento com eCG ou FSH, sugerindo que ambos estimulantes do crescimento folicular são eficazes em proporcionar resultados satisfatórios em programas de IATF.

O tratamento com dispositivos intravaginais de uso único e impregnados com 0,5 g ou 1 g de progesterona resultam em semelhantes taxas de estro e concepção em vacas Nelore paridas e submetidas ao protocolo de IATF

Roberta Machado Ferreira ¹, Helton Aparecido Garcia Gregianini ³, Reuel Luiz Gonçalves ², João Paulo Mendes Lollato ², José Nélio de Sousa Sales ⁴, Pietro Sampaio Baruselli ¹

¹ VRA - FMVZ - USP - Departamento de Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (Rua Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva, 87 - Cidade Universitária Armando Sales de Oliveira, São Paulo, SP, Brasil), ² Biogénesis Bagó - Biogénesis Bagó Saúde Animal (Av. Manoel Ribas, 985, conj 58, andar 5 - Mercês - Curitiba, PR, Brasil), ³ In Vitro Acre - In Vitro Acre (R. das Samambaias, 198, Rio Branco, AC, Brasil), ⁴ UFLA - Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Lavras (Câmpus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras, MG, Brasil)

O objetivo do estudo foi avaliar o efeito de diferentes concentrações de progesterona (P4) em dispositivos intravaginais de uso único sobre as taxas de expressão de estro e de concepção de vacas Nelore paridas submetidas ao protocolo de inseminação artificial em tempo fixo (IATF). Para tal, foram utilizadas 272 vacas Nelore com 35 a 50 dias pós parto e com ECC médio de 2,30 ± 0,34 (escala 1-5) da Fazenda Rio Madeira, Porto Velho, RO. Todas as vacas foram tratadas com o mesmo protocolo de sincronização de emergência de onda folicular e ovulação, diferindo apenas quanto à concentração de P4 do dispositivo intravaginal utilizado (0,5 g ou 1 g). Brevemente, em dia aleatório do ciclo estral (D0) todas as vacas foram tratadas com 2 mg de benzoato de estradiol (Bioestrogen®, Biogénesis Bagó, Curitiba, Brasil) e 150 µg de D-cloprostenol (Croniben®, Biogénesis Bagó) IM e foram homogeneamente distribuídas de acordo com o ECC para receberem um dispositivo intravaginal com 0,5 g de P4 (MD0,5g; Cronipres® Mono Dose 0,5 g de P4, Biogénesis Bagó) ou com 1 g de P4 (MD1g; Cronipres® Mono Dose 1 g de P4, Biogénesis Bagó). No D8, os dispositivos foram removidos e todas as vacas receberam 150 µg de D-cloprostenol, 300 UI de eCG (Ecegon®, Biogénesis Bagó) e 1 mg de cipionato de estradiol (Croni-Cip®, Biogénesis Bagó) IM. Bastão marcador de estro foi aplicado na base da cauda das vacas. A IATF foi realizada por um único médico veterinário 48h após a retirada dos dispositivos, conjuntamente à administração de 10,5 µg de acetato de busarelina (GnRH; Gonaxal®, Biogénesis Bagó) e a avaliação da ocorrência de estro (remoção ou não do bastão). Sêmen de dois touros da raça Nelore foi distribuído igualmente entre os grupos. O diagnóstico de gestação foi realizado 52 dias após a IATF (Sonoscape A5). Os dados foram analisados por regressão logística (PROC GLIMMIX do SAS). Não houve efeito de ECC (P = 0,78 e 0,26), touro (P = 0,96 e 0,20) e estro (P = 0,11 e 0,43) quando os dispositivos de 0,5 g ou 1 g de P4 foram utilizados, respectivamente. O ECC médio das vacas foi semelhante (P = 0,78) entre os

grupos (MD0,5g = $2,28 \pm 0,03$ e MD1g = $2,32 \pm 0,03$), evidenciando a homogeneidade pré-tratamento. Semelhante taxa de expressão de estro [MD0,5g = 77,4% (103/133) e MD1g = 78,4% (109/139); P = 0,95] e de concepção à IATF [MD0,5g = 61,7% (82/133) e MD1g = 53,2% (74/139); P = 0,11] foram observadas para ambos os dispositivos. Conclui-se que ambos os dispositivos intravaginais de uso único (Cronipres® Mono Dose), tanto com 0,5 g quanto 1 g de P4, podem ser utilizados em protocolos de IATF (com GnRH no D10) de vacas Nelore paridas, com semelhante eficiência em taxa de expressão de estro e concepção.

Agradecimento: Fazenda Rio Madeira.

Avaliação da pré-sincronização PG-3-G em programas Ovsynch-P de vacas leiteiras: Resultados preliminares

Gabriella dos Santos Velho¹, Carolina Rodrigues Oliveira¹, Carolina Gabriela Becker Berlitz¹,
Débora Schneid Vaz Luiz¹, Márcio Flores da Cunha Chaibem², André Gustavo Cabrera Dalto¹,
João Batista Souza Borges¹

¹ URB - Unidade de Reprodução de Bovinos- FAVET/UFRGS (Av. Bento Gonçalves, 9090.
Porto Alegre/RS), ² Agener Saúde Animal/Tecnopec - União Química/ Agener Saúde Animal
(Porto Alegre- RS)

Tratamentos de pré-sincronização associados a protocolos Ovsynch e suas variantes, têm sido utilizados com o objetivo de aumentar a eficiência reprodutiva em rebanhos leiteiros. A utilização do protocolo de pré-sincronização PG-3-G visa aumentar o número de vacas no período ideal do ciclo estral (6º-8º dia) no início do programa de sincronização de estro e de ovulação (Ovsynch-P). Objetivou-se comparar a fertilidade de vacas em lactação submetidas ao Ovsynch-P precedido ou não do protocolo PG-3-G. Foram utilizadas 86 vacas da raça Holandesa, com escore de condição corporal $2,6 \pm 0,2$ (escala 1 a 5), idade entre 3 e 10 anos, produção média de leite $28,1 \pm 7,9$ kg/dia e período pós-parto de 118 ± 56 dias, mantidas em sistema semi-intensivo. As vacas foram divididas aleatoriamente em dois grupos Controle (n= 44) e PG-3-G (n= 42). No dia -10, o grupo PG-3-G recebeu uma aplicação de 482 µg de Cloprostenol sódico (PGF, Estron Agener União, Brasil), i.m. e três dias depois (dia -7) foi aplicado 0,05 mg de Lecirelina (GnRH, Gestran®, Agener União, Brasil) i.m. A partir do dia 0, todas vacas receberam 0,05 mg de Lecirelina, i.m. e implante intravaginal de progesterona 1 g (P4, Primer®, Agener União, Brasil). No Dia 7, foi aplicada uma dose de PGF para indução da luteólise e retirado o implante de P4. Quarenta e oito horas depois, os animais receberam a segunda dose de GnRH e foram inseminados após 12 a 18 horas. A presença de CL e os diâmetros foliculares foram determinados por ultrassonografia transretal (Aquila, Pie Medical, Holanda) nos dias 0, 7 e 9. Trinta dias após a IATF, realizou-se o diagnóstico de gestação. Para a análise estatística foram utilizados os testes de normalidade Anderson Darling, ANOVA, correlação de Pearson e Qui-quadrado do programa SPSS 18 ($P \leq 0,05$). A presença de CL no Dia 0 tendeu a ser mais frequente ($P=0,1$) no grupo PG-3-G (78,6%), comparado ao Controle (59%), enquanto a taxa de CL acessório no Dia 7 não diferiu ($P= 0,98$) entre os grupos (35% e 34%, respectivamente). O diâmetro do folículo ovulatório (FO) no Dia 9 foi menor ($P < 0,05$) nas vacas pré-sincronizadas (PG-3-G= 12,6mm vs Controle= 15,3mm), sendo detectada correlação

negativa ($r = -0,29$) entre a presença de CL no Dia 0 e o diâmetro do FO no dia 9 ($P = 0,05$). De acordo com os resultados preliminares obtidos, o grupo PG-3-G (52%) tendeu a apresentar taxa de prenhez superior ($P = 0,08$) à observada nas vacas sem a pré-sincronização (34%).

2) OPU-FIV e TE

Influência da estação do ano e grupo genético na produção comercial de embriões bovinos *in vitro*

Bárbara Gomes Rodrigues Nogueira¹, Lilian Francisco Arantes de Souza¹, Isabella Rio Feltrin², Claudia Bertan Membrive³, Ines Cristina Giometti¹, Caliê Castilho¹

¹ UNOESTE - Universidade do Oeste Paulista (Presidente Prudente/SP), ² UNESP - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" - Campus Botucatu (Distrito de Rubião Junior), ³ UNESP - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" - Campus Dracena (Dracena/SP)

O início dos trabalhos comerciais de OPU-PIVE no Brasil ocorreu com a implantação do primeiro laboratório, no ano de 2000. A raça Nelore se adaptou extraordinariamente a tal técnica e seu uso rapidamente difundiu-se entre os pecuaristas. O Brasil atualmente é responsável por cerca de 70% do total de embriões produzidos *in vitro* no mundo. Apesar da evolução e potencial da PIVE, ocorre grande variabilidade nas taxas de blastocisto (10 a 40%) e prenhez (30 a 50%), fatores que influenciam diretamente no sucesso comercial da técnica. Assim, objetivou-se verificar a influência das estações do ano (primavera/verão e outono/inverno) e do grupo genético da doadora *Bos indicus* (Nelore), *Bos indicus* x *Bos taurus* (Brangus e Girolando) e *Bos taurus* (Holandesa e Senepol) na produção de oócitos viáveis, clivagem e produção de blastocistos. Foram analisados dados de um laboratório comercial, de 2014 a 2016, referentes a 776 sessões de aspiração folicular guiada por ultrassom (OPU), realizadas em 225 vacas das raças Nelore (n=83), Girolando (n=73), Brangus (n=49), Holandesa (n=10) e Senepol (n=10), as quais foram agrupadas de acordo com o grupo genético (*Bos indicus*, n=83; *Bos indicus* x *Bos taurus*, n=122; *Bos taurus*, n=20). Analisou-se a influência da sazonalidade e grupo genético da doadora na produção de oócitos viáveis, clivagem e produção de blastocistos. A análise estatística foi realizada pelo Teste Qui-quadrado utilizando o programa estatístico SAS. Quanto a estação do ano, observou-se maior porcentagem de oócitos viáveis na primavera/verão quando comparada ao outono/inverno (70,8 vs 67,2% respectivamente; $P=0,0001$). Não houve diferença na taxa de clivagem (75,3 e 74,7% respectivamente; $P=0,506$) e produção de blastocisto (27,1 e 27,8% respectivamente; $P=0,0403$). Quanto ao grupo genético, verificou-se maior produção de oócitos nas fêmeas *Bos indicus*, prosseguidas pelas *Bos indicus* x *Bos taurus*, e *Bos taurus* (74,1%, 69,2% e 63,9% respectivamente; $P<0,0001$). A taxa de clivagem em *Bos indicus* não foi diferente do que a *Bos indicus* x *Bos Taurus*, sendo 76,8% em ambos os grupos. Entretanto, os grupos *Bos indicus* e *Bos indicus* x *Bos taurus* tiveram uma maior taxa de clivagem do que a *Bos taurus* (76,8%; 53,4%; $P<0,0001$). A taxa de blastocisto diferiu entre os grupos, sendo maior no grupo *Bos indicus* seguido por *Bos indicus* x *Bos Taurus* e *Bos Taurus* (31,1%, 26,8% e 12,4% respectivamente; $P<0,0001$). De acordo com os dados apresentados, conclui-se que,

independente do grupo genético, as estações do ano influenciam a produção de oócitos viáveis, mas não exercem efeitos sobre a produção de embriões e; em relação ao grupo genético, este por sua vez influencia na produção de embriões, onde as fêmeas da espécie *Bos indicus* apresentam melhor desempenho entre todas as variáveis estudadas (produção de oócitos viáveis, taxa de clivagem e formação do blastocisto), quando comparadas as fêmeas *Bos indicus* x *Bos taurus* e *Bos taurus*.

Agradecimentos:FAPESP, UNOESTE.

Estudo sobre a superovulação com coasting de FSH em fêmeas bovinas

Fabio Marcelo De Queiroz ¹, Ana Carolina Fanhani De Arruda Botelho ¹, Fábio Luiz Bim Cavalieri ¹, Isabele Picada Emanuelli ¹, Márcia Aparecida Andreatzi ¹

¹ UNICESUMAR/ICETI - Centro universitário de Maringá (Av. Guedner, 1610)

A técnica de superovulação (SOV) é um dos passos fundamentais nos programas de Transferência de Embriões em bovinos, por isso, para estimular o desenvolvimento de um maior número de folículos capazes de ovular, diversos protocolos são estudados, dentre eles, a associação de superovulação seguida de coasting de FSH. O coasting é um período de ausência de FSH, que simula as alterações fisiológicas naturais que ocorrem antes da ovulação. Apesar de muitos estudos mostrarem que esta associação (SOV + coasting de FSH) resulta em melhoria da competência oocitária, mais pesquisas devem ser conduzidas a fim de comprovar o efeito deste protocolo. Objetivo: O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência da superovulação folicular associada ao coasting de FSH em fêmeas bovinas doadoras. Metodologia: foram utilizadas 16 fêmeas bovinas adultas da raça Nelore, proveniente de grupo genético homogêneo, com idade de 3 a 7 anos, com peso médio de 400 kg, distribuídas em dois tratamentos. No grupo 1, controle (CON) (n=8) os animais foram submetidos a OPU sem sincronização da onda folicular, já no grupo 2, tratamento (TRAT) (n=8) no dia zero (D0) os animais passaram por um processo de sincronização de onda folicular, onde foi inserido o implante intravaginal de progesterona de liberação lenta (Sincrogest, OF) + 2,0 mg de benzoato de estradiol (BE) IM (Sincrodiol, OF) + 0,15 mg D-cloprostenol IM (Croniben, BB). Do D3 ao D6 os animais receberam 200UI de FSH e 200 UI de LH IM (Pluset, Ceva) e no D8 foi retirado o implante e realizado a OPU. Os complexos cumulus oócitos (CCOS) recuperados foram lavados, transferidos para placa de Petri, contados e classificados. Os parâmetros considerados foram número total de CCOS e CCOS viáveis, taxa de blastocisto e de eclosão. A análise estatística foi realizada empregando teste T com 5% de significância. Resultados: O número de CCOS totais e viáveis no grupo CON (n=15 e 11,9) não diferenciaram do grupo TRAT (n= 16,1 e 14,4) respectivamente. As taxas de blastocisto e de eclosão também não diferiram ($P>0,05$) entre os grupos CON (38,5 e 64,8%) e TRAT (44,5 e 59,6%), respectivamente. Conclusões: O estímulo ovariano associado ao coasting FSH não incrementou o número e a qualidade de CCOS totais e viáveis, as taxas de blastocisto e de eclosão.

Efeito do cruzamento entre *Bos taurus* e *Bos indicus* nas taxa de blastocisto e prenhez em um programa comercial de PIVE

Izabelle Pereira Lacerda ¹, Marcelo Marcelo Machado Souza Lima ², Breno Guerra ², Eduardo Costa ², Jose Oliveira Carvalho ¹

¹ UFES - Universidade Federal do Espírito Santo (Alto Universitário, S/n, Alegre. ES), ² Embriopec - Embriopec Reprodução Bovina (Juiz de Fora, MG)

A produção *in vitro* de embriões (PIVE) apresentou crescimento significativo no setor leiteiro nos últimos anos. Entretanto, aspectos relacionados a raça podem causar variações nos índices reprodutivos de um programa comercial de PIVE. O objetivo deste estudo foi avaliar a taxa de blastocisto e prenhez proveniente dos cruzamentos de touros Gir e Holandês com doadoras Gir, Holandesa e ½ sangue Gir/Holandesa em um programa comercial de PIVE. Foram utilizadas 363 doadoras Gir, 109 Holandesas e 145 ½ sangue Gir/Holandesa. Os oócitos aspirados foram classificados de acordo com os critérios da IETS, sendo os viáveis (Grau 1, 2 e 3) maturados, fecundados (D0) com sêmen sexado de touros Gir (n=18) ou Holandês (n=51), e cultivados *in vitro* durante 7 dias (D7). Para fecundação *in vitro*, foram utilizados touros de fertilidade previamente conhecida e utilizados na rotina do laboratório. Todos os embriões produzidos foram transferidos em D7 para receptoras previamente sincronizadas. O diagnóstico de gestação foi realizado por meio de ultrassonografia transretal, aos 60 dias de gestação. Para comparação entre os grupos, foi utilizado o teste U de Mann-Whitney ($P \leq 0,05$). Não foi observada diferença no percentual de blastocisto e prenhez ao se fecundar oócitos de doadoras Gir, Holandesa e ½ sangue com espermatozoides de touros Gir ou Holandês. Para doadoras Gir, cruzadas com touros Gir ou Holandês, as taxas de blastocisto e prenhez foram de 24,2% vs 27,4% e 42,1% vs 37,4%, respectivamente. Doadoras Holandesas, apresentaram taxas de blastocisto e prenhez de 22,5% vs 14,8% e 35,0% vs 35,8% para cruzamentos com touros da raça Gir e Holandês, respectivamente. Já as doadoras ½ sangue, quando cruzadas com touros Gir e Holandês, resultaram em taxas de blastocisto e prenhez de 35,9% vs 23,0% e 31,2% e 36,4%, respectivamente. Conclui-se cruzamentos de touros Gir e Holandês com doadoras Gir, Holandesa e ½ sangue Gir/Holandesa não afeta a taxa de blastocisto e prenhez em um programa comercial de PIVE.

Sazonalidade e estágio de desenvolvimento embrionário influenciam a taxa de prenhez em programa comercial de produção *in vitro* de embriões bovinos

Bárbara Gomes Rodrigues Nogueira ¹, Lilian Franscico Arantes de Souza ¹, Kleber Luciano Anciotto ², Claudia Bertan Membrive ³, Sheila Merlo Garcia ¹, Teissiane Fernanda de Vasconcelos Ferreira ³, Caliê Castilho ¹

¹ Unoeste - Universidade do Oeste Paulista (Presidente Prudente-SP), ² Gene Up - Gene Up - Biotecnologia em Reprodução Animal (Regente Feijó-SP), ³ UNESP - Universidade Estadual Paulista (Dracena-SP)

Apesar da grande evolução e potencial da aspiração folicular seguida da produção de embriões *in vitro* (OPU-PIV) nos últimos anos, tal biotecnologia apresenta variabilidade no êxito da

produção de blastocistos e na taxa de prenhez, fatores que associados comprometem o sucesso da técnica. Em escala comercial a utilização de receptoras de diferentes raças e origens, com manejos distintos, bem como diferentes protocolos e técnicos, evidencia a necessidade de pesquisas que retratem a realidade da produção comercial de embriões e que possam contribuir com a melhoria de tais índices limitantes. Objetivou-se verificar o efeito da sazonalidade e do estágio de desenvolvimento embrionário sobre a taxa de prenhez de embriões produzidos *in vitro* (PIV) em escala comercial no Oeste Paulista. Para tanto, foram utilizados dados retrospectivos de 20.297 inovulações de embriões PIV realizadas nas estações: outono/inverno (n=6804 inovulações) e primavera/verão (n=13493 inovulações), no período de 2009 a 2016, provenientes de 1.400 doadoras de oócitos de raças destinadas à produção de carne e leite criadas, no Oeste Paulista, Mato Grosso do Sul e Norte do Paraná. A PIV seguiu os protocolos estabelecidos pelo laboratório, o qual está localizado no Município de Regente Feijó-SP, sendo os trabalhos realizados por uma equipe composta por um laboratorista e dois técnicos de campo. Para avaliar a influencia do estágio embrionário, embriões no D7 com qualidade 1 e 2, classificados em mórula (n=41, estágio 4), blastocisto inicial (n=109, estágio 5), blastocisto (n=203, estágio 6), blastocisto expandido (n=257, estágio 7) e blastocisto eclodido (n=13, estágio 8) foram utilizados. Na análise estatística empregou-se o Teste Qui-quadrado ao nível de 5% de significância ($P < 0,05$). A taxa de prenhez na primavera/verão (42,7%) foi maior quando comparada ao outono/inverno (37,7%, $P < 0,0001$), independente da raça. Quanto ao estágio de desenvolvimento, a taxa de prenhez não diferiu nos estágios 6, 7 e 8 (44,3%, 48,2% e 46,1% respectivamente, $P > 0,05$), entretanto, tais embriões resultaram em maior taxa de prenhez ($P = 0,0046$) quando comparados às inovulações nos estágios iniciais do desenvolvimento embrionário, ou seja, 4 (24,4%) e 5 (31,2%). Conclui-se que a taxa de prenhez de embriões PIV, obtida pelo laboratório analisado, independente da raça, é maior na primavera/verão; embriões inovulados em estágios mais avançados de desenvolvimento (blastocisto, blastocisto expandido e eclodido) resultam em melhores taxas de prenhez.

Adição de resveratrol ao meio de manutenção e viabilidade de embriões bovinos produzidos *in vitro*

Mariana da Mata Silveira ¹, Karen Martins Leão ¹, Thaisa Campos Marques ¹, Viler Carrijo Oliveira ¹, Nivaldo Ribeiro de Almeida Neto ¹, Liliane Cândida de Souza ¹, Amanda Carrilho Lopes de Castro ¹, Kelly Rocha Rodrigues ¹, Fernando Lima da Silva ¹, Angélica Cabral Oliveira ¹, Cleber Alves de Souza ¹, Leidiane Gonçalves Fernandes ¹

¹ IF GOIANO - Campus Rio Verde - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano - Campus Rio Verde (Rodovia Sul Goiana Km 01)

O resveratrol tem-se mostrado eficiente na manutenção da viabilidade de embriões bovinos produzidos *in vitro*, quando adicionado aos meios de cultura. Objetivou-se avaliar o efeito da adição do antioxidante resveratrol ao meio de manutenção (SOFaa, tamponado com HEPES e suplementado com 2.7mM de mio-inositol, 0.2mM de piruvato, 2.5% de SFB (v/v), 5mg/mL de BSA e 75µg/mL de amicacina) sobre a viabilidade de embriões bovinos PIV, mantidos a 36°C em diferentes tempos de simulação de transporte. Foram colhidos ovários de abatedouro e

utilizados CCO's grau I e II. Esses foram maturados em meio TCM 199 com sais de Earl's, suplementado com 75ug/mL de amicacina, 4mg/mL de BSA, 1ug/mL de L-glutamina e 0.01UI/mL de FSHr por 24h, fertilizados em meio TALP-FIV suplementado com 6mg/mL de BSA, 0.2mM de piruvato, 30µg/mL de heparina, 20µM de penicilina, 10µM de hipotaurina, 1µM de epinefrina, 75ug/mL de amicacina e cultivados após 24h da fertilização em gotas de meio SOFaa suplementado com 2.7mM de myo-inositol, 0.2mM de piruvato, 2.5% de SFB (v/v), 5mg/mL de BSA e 75ug/mL de amicacina, cobertas com óleo mineral e incubados em estufa a 38,8°C em atmosfera de 5% de CO₂. No sétimo dia (D7) da CIV, os embriões grau I e II em estágio de blastocisto (B1) e blastocisto expandido (Bx) foram selecionados, envasados com meio de manutenção acrescido de resveratrol a 0,5µM e distribuídos aleatoriamente de forma randomizada em três tratamentos, de acordo com o tempo em que foram mantidos a 36°C na transportadora, sendo: seis (n=38; TRA6), nove (n=43; TRA9) e doze (n=42; TRA12) horas. Transcorrido o tempo determinado conforme o tratamento, os embriões foram desenvasados e recultivados por 24h em meio CIV a 38,8°C em atmosfera de 5% de CO₂. Logo após o desenvase e 24h de recultivo, avaliou-se o percentual de embriões que mantiveram o estágio de desenvolvimento (MAN), que desenvolveram (DES) e que degeneraram (DEG) em cada tratamento. Foi realizado o teste de Qui-quadrado para comparação dos percentuais entre os tratamentos, utilizando o programa computacional R Project versão 3.5.0, considerando-se nível de significância de P<0,05. No momento do desenvase não houve diferença entre os tratamentos para o percentual de embriões MAN (TRA12 - 57,1%; TRA9 - 60,5%; TRA6 - 73,7%), DES (TRA12 - 40,5%; TRA9 - 39,5%; TRA6 - 26,3%) e DEG (TRA12 - 2,4%; TRA9 - 0%; TRA6 - 0%) (P>0,05). Na avaliação após 24h de recultivo também não foi observada diferença entre os tratamentos no percentual de embriões MAN (TRA6 - 7,9%; TRA9 - 25,6%; TRA12 - 21,4%) e DEG (TRA6 - 2,6%; TRA9 - 0%; TRA12 - 2,4%) (P>0,05). Entretanto, o percentual de DES do TRA12 (50%b) foi menor do que no TRA6 (89,47%a) e TRA9 (74,41%a). Conclui-se que não se justifica a adição de resveratrol ao meio de manutenção de embriões mantidos envasados por 12h até a TE, uma vez que o mesmo apresentou um menor percentual de desenvolvimento dos embriões na avaliação após 24h de recultivo comparado com os demais tempos de tratamento.

Obtenção de embriões produzidos in vitro a partir de oócitos recuperados por aspiração folicular transvaginal guiada por ultrassom em bezerras Holandesas

Nathalia Covre da Silva^{1,2}, Bruno Valente Sanches³, Fábio Morotti^{1,2}, Luciano Bonilla³, William Garcia Abreu³, Anne Kemmer Souza^{1,2}, Amanda Fonseca Zangirolamo^{1,2}, Marcelo Marcondes Seneda^{1,2}

¹ UEL (INCT - LEITE) - Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia para a Cadeia Produtiva do Leite (INCT-LEITE), Universidade Estadual de Londrina (Rodovia Celso Garcia Cid-Campus Universitário, Cx Postal 10.011, Londrina, Paraná), ² ReproA - Laboratório de Reprodução Animal (DCV-CCA, Universidade Estadual de Londrina, PR, Brasil), ³ Cogent IVF - Cogent IVF (LLC, Hermiston, OR 97838, USA)

Existe um grande interesse no uso de bezerras como doadoras de oócitos para a PIVE, para incrementar o melhoramento genético pela redução do intervalo de gerações. No entanto, os

resultados conseguidos até o momento nesta categoria animal são insatisfatórios por menor competência oocitária, baixa taxa de fecundação e baixo desenvolvimento embrionário *in vitro*. O objetivo desse estudo foi comparar a taxa de produção de embriões com sêmen sexado ou convencional em fêmeas Holandesas até 12 meses de idade. Foram utilizadas 101 doadoras da raça Holandesa (*Bos taurus taurus*), divididas em grupos por categoria de faixa etária: 6 a 9 meses (n = 39 fertilizados com sêmen convencional; n = 18 fertilizados com sêmen sexado) e 10 a 12 meses (n = 15 para sêmen convencional; n = 29 para sêmen sexado). As fêmeas não foram submetidas a qualquer protocolo padrão de sincronização do crescimento folicular e os oócitos foram coletados através de aspiração folicular transvaginal guiada por ultrassom. O ultrassom utilizado foi o ExaPad Mini™ acoplado à uma guia de OPU com raio de curvatura medindo 10mm. Os oócitos foram maturados *in vitro* por 24 horas, fertilizados com sêmen convencional (1×10^6 spz/mL) ou sexado (1×10^5 spz/mL) e cultivados *in vitro*. As taxas de blastocistos entre os grupos foram comparadas pelo teste Qui-quadrado adotando valor de $p \leq 0,05$. O número médio de oócitos recuperados por grupo foi de 19 e 16 para bezerras de 6 a 9 meses com o uso de sêmen convencional e sexado, respectivamente. Já para as fêmeas de 10 a 12 meses o número médio de oócitos recuperados foi 10 para o grupo fertilizado com sêmen convencional e 12 para o grupo fertilizado com sêmen sexado. As porcentagens de embriões produzidos com sêmen convencional e sexado foram, respectivamente, 22.8% e 7.4% para as bezerras de 6 – 9 meses e 37.1% e 18.8% para as fêmeas de 10 – 12 meses. Foi possível observar diferença entre as taxas de blastocisto das bezerras de 6 a 9 meses quando comparadas aquelas obtidas para as fêmeas das categorias de 10 a 12 meses de idade, tanto para sêmen convencional quanto para sêmen sexado ($P < 0,0001$). Foi observado menor taxa de produção embrionária para as bezerras de 6 – 9 meses, no entanto, destacamos o ganho de tempo entre gerações com a possibilidade de OPU em animais bastante jovens. O uso de sêmen sexado resultou em menores índices de embriões produzidos, mas deve-se considerar o melhor direcionamento genético do rebanho ao se obter animais de sexo desejado.

Aditivo antioxidante no meio de manutenção para transporte de embriões PIV

Viler Carrijo Oliveira ¹, Thaisa Campos Marques ¹, Karen Martins Leão ¹, Mariana da Mata Silveira ¹, Nivaldo Ribeiro de Almeida Neto ¹, Leidiane Gonçalves Fernandes ¹, Kelly Rocha Rodrigues ¹, Fernando Lima da Silva ¹, Liliane Cândida de Souza ¹, Flávia Andressa da Silva Quiste ¹, Angélica Cabral Oliveira ¹, Cleber Alves de Souza ¹

¹ IF GOIANO - Campus Rio Verde - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano - Campus Rio Verde (Rodovia Sul Goiana km 01)

O uso do antioxidante resveratrol ao meio de cultivo, pode proporcionar melhoria na qualidade dos embriões, favorecendo seu desenvolvimento. Objetivou-se avaliar o efeito da adição do antioxidante resveratrol ao meio de manutenção HSOFAa (SOF, tamponado com Hepes e suplementado com 2,70 mM myo-inositol, 0,20 mM piruvato, 2,50% de soro fetal bovino (v/v), 5 mg/mL BSA, 75 µg/ml amicacina) sobre a viabilidade de embriões bovinos PIV, mantidos a 36°C em meio de manutenção por 12 horas. CCOs foram obtidos através de aspiração de folículos de 3 a 8 mm de diâmetro, de ovários de abatedouro, com 17 repetições. CCOs

(n=2.284) com qualidade grau I e II foram colocados em meio de maturação, cobertas com óleo mineral e incubados em estufa a 38,5°C em atmosfera de 5% de CO₂. Após 24 horas realizou-se a FIV e, a CIV dos possíveis zigotos, foi realizada com 24 horas pós fertilização. No sétimo dia de CIV, os embriões grau I e II em estágio de blastocisto (B1) e blastocisto expandido (Bx) foram envasados em palhetas de 0,25mL com meio de manutenção HSOFAa, sem antioxidante resveratrol (T1; n=40) ou com 0,50µM do antioxidante resveratrol (T2; n=42). Os embriões foram mantidos em transportador de embriões e oócitos (TREGO, WTA – Watanabe Tecnologia Aplicada, Cravinhos, SP, BR) com temperatura de 36°C. Após o transporte os embriões foram transferidos para o meio CIV original para o cultivo completo de 12 horas. Os parâmetros avaliados foram: taxa de estabilização (EST), evolução (EVO), degeneração (DEG) de estágio e taxa de blastocisto. Para análise estatística foi utilizado o Teste de Q-Quadrado ($p \leq 0,05$) utilizando programa R versão 3.5.0. A taxa de blastocisto foi de 62,59%. O percentual de EST foi no T1 de 52,50% e no T2 de 57,14%. Enquanto que o percentual de EVO foi no T1 de 47,50% e no T2 de 40,47%, já no T1 não se verificou percentual de DEG e no T2 este percentual foi de 2,38%. Após 12 horas de recultivo, também não foi observado diferença estatística em nenhum dos parâmetros avaliados entre os tratamentos, sendo que, com a adição do antioxidante, era esperado uma melhor taxa de desenvolvimento e menor taxa de degeneração. O percentual de EST no T1 foi de 22,50% e no T2 de 21,43%, o percentual de EVO no T1 foi de 77,50% e no T2 de 76,19%. Em T1 não houve degeneração embrionária e o percentual de DEG no T2 foi de 2,38%. Portanto, conclui-se que a adição do antioxidante resveratrol ao meio de manutenção não melhorou a viabilidade de embriões bovinos PIV mantidos por até 12 horas em transportadora.

Fatores que afetam o resultado da prenhez de um centro comercial de tecnologia de embriões bovinos em Minas Gerais

Pâmella Alves Correia ¹, Louise Marques Coelho ⁵, Marcelo Siqueira El Azzi ³, Jesús Alfonso Sánchez Viafara ³, Marcus Filipe Paiva Moraes ², Alessandro Magno Cambraia Esteves ², Thiago Figueiredo Ferreira ², Juliana Santos Silva ², Guilherme de Abreu Carvalhaes Bartholomeu ², Guilherme Cambraia Rezende Alves ², José Camisão de Souza ⁴

¹ UFLA - Mestranda na Universidade Federal de Lavras (Universidade Federal de Lavras, Lavras - MG, 37200-000), ² GEPEC - médicos veterinários da empresa Gepec Veterinarios Associados (R. Oliveira Pena, 87 - São José, Belo Horizonte - MG, 31275-130), ³ UFLA - Doutorando na UFLA (Av. Sul UFLA - Aqueanta Sol, Lavras - MG, 37200-000), ⁴ UFLA - Professor PhD de Fisiologia da Reprodução na UFLA (Av. Sul UFLA - Aqueanta Sol, Lavras - MG, 37200-000), ⁵ Médica Veterinária - formada pela UFLA (Lavras - MG, 37200-000)

O objetivo foi avaliar o efeito de fatores que influenciam no percentual de prenhez obtidos a partir de embriões bovinos produzidos in vitro transferidos não cirurgicamente. Os fatores analisados foram: paridade (nulíparas, primíparas e múltiparas), tipo do sêmen (sêmen sexado ou convencional), touro (n = 44), estágio embrionário na transferência (mórula (Mo), blastocisto inicial (Bi), blastocisto (BL), blastocisto expandido (BX) e blastocisto em eclosão (BN)), uso ou não do GnRH no momento da transferência e técnico (n = 4). A gestação foi diagnosticada por ultrassom aos 30 dias após a ovulação. Um total de 3991 transferências de embriões foram

analisadas por um período de 4 anos. Nem todas as transferências podem ser rastreadas para as variáveis independentes, portanto, o número de eventos de resposta para cada parâmetro é variável. Para a análise do efeito do touro, apenas os touros com mais de 30 diagnósticos foram considerados. Todos os dados foram submetidos ao teste qui-quadrado sob um procedimento de modelo linear generalizado, após testes de normalidade sob o procedimento univariado do SAS®, considerando-se a distribuição binomial e os ajustes de estimação de parâmetro de *Overdispersion* by Pearson χ^2/DF , Bias e função link logit do pacote JMP-12 Pro® (SAS, Cary, NC, EUA). As diferenças entre as variáveis independentes do modelo foram comparadas por contrastes ortogonais. Os efeitos do touro ($P = 0,005$), tipo do sêmen ($P = 0,05$), paridade ($P < 0,0001$), GnRH ($P = 0,02$), estágio embrionário ($P = 0,009$) e técnico ($p = 0,004$) foram significativos. A taxa de gestação foi maior nas nulíparas ($53,4 \pm 2,2\%$) em relação às múltiparas ($37,3 \pm 2,1\%$). A maior taxa de prenhez alcançou $53,9 \pm 0,8\%$, enquanto a menor taxa foi de $25,0 \pm 0,07\%$. A taxa de prenhez foi maior no blastocisto expandido ($45,0 \pm 1,1\%$) em relação ao blastocisto ($35,8 \pm 1,4\%$). A taxa de prenhez foi maior ($p = 0,05$) para o sêmen sexado ($41,51 \pm 3,39\%$; $n = 212$) comparado ao sêmen convencional ($38,99 \pm 0,08\%$; $n = 3775$). A taxa de prenhez foi maior ($P = 0,02$) para as receptoras que receberam GnRH ($42,90 \pm 1,21$; $n = 2313$) em comparação com os controles que não receberam GnRH ($36,92 \pm 1,00$; $n = 1656$). É surpreendente que o sêmen sexado tenha alcançado melhores taxas de prenhez neste estudo, já que contraria a literatura, e o efeito do touro foi significativo, mas não foi considerado na análise do tipo do sêmen. Pode-se especular que o resultado positivo para o sêmen sexado é confundido com outros fatores envolvido como qualidade do touro, resposta à fecundação *in vitro* ou inseminação, partida do sêmen, entre outros. Todos os efeitos testados influenciaram no resultado da prenhez, portanto, devem ser cuidadosamente considerados para os centros produtores de embriões na busca de melhorias nos resultados.

Superovulação e colheita transcervical de embriões em ovelhas Lacaune criadas em condições tropicais

Lucas Machado Figueira ^{1,2}, Nadja Gomes Alves ¹, Joanna Maria Gonçalves de Souza-Fabjan ², Ribrio Ivan Tavares Pereira Batista ^{2,3}, Lucas Corrêa de Souza ⁴, Ana Lúcia Rosa e Silva Maia ², Viviane Lopes Brair ^{2,5}, Manuela Filgueiras ⁵, Guilherme Nunes de Souza ^{6,2}, Jeferson Ferreira da Fonseca ⁷

¹ UFLA - Universidade Federal de Lavras (Lavras-MG, Brasil), ² UFF - Universidade Federal Fluminense (Niterói-RJ, Brasil), ³ UFVJM - Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (Diamantina-MG, Brasil), ⁴ CVDF - Cabanha Val di Fiemme (Soledade de Minas-MG, Brasil), ⁵ UNIGRANRIO - Universidade do Grande Rio (Rio de Janeiro-RJ, Brasil), ⁶ EMBRAPA - Embrapa Gado de Leite (Juiz de Fora-MG, Brasil), ⁷ EMBRAPA - Embrapa Caprinos e Ovinos (Coronel Pacheco-MG, Brasil)

O objetivo deste estudo foi avaliar dois protocolos de superovulação e a viabilidade da colheita transcervical de embriões em ovelhas da raça Lacaune. As ovelhas receberam esponjas com acetato de medroxiprogesterona (60mg, Progespon®, Syntex, Buenos Aires, Argentina) durante nove (G9, n=23) ou seis (G6, n=23) dias, 37,5 µg de d-cloprostenol i.m. (Prolise®, Tecnopec,

São Paulo, Brasil) 24 h antes da remoção da esponja e foram superovuladas com 133 mg de FSHp i.m. (Folltropin®-V; Bioniche Animal Health, Belleville, Canada), em seis doses decrescentes (12/12h), a partir de 60 horas antes da remoção da esponja, num delineamento crossover. O estro foi monitorado duas vezes ao dia e as ovelhas foram acasaladas com carneiros férteis (razão 4:1). Ultrassonografia transretal dos ovários (Mindray M5VET®, Shenzhen, China - 8.0 MHz) foi realizada no momento da 1ª aplicação de FSH para contagem e mensuração dos folículos, e no 5º dia após o estro para contagem dos corpos lúteos (CL), com o modo Doppler ativado. Ovelhas receberam 37,5 µg d-cloprostenol e 1 mg de benzoato de estradiol (Sincrodiol®, OuroFino, Cravinhos, Brasil) i.m. 16 h e 50 IU ocitocina (Ocitocina forte UCB®, São Paulo, Brasil) i.v. 20 min antes da lavagem uterina transcervical, que foi realizado no 6º dia após o estro. Dados qualitativos foram analisados por modelos lineares generalizados (GLM), com distribuição binomial e função de ligação logit. Dados quantitativos foram analisados por GLM com distribuição normal ou distribuição de Poisson (transformação logarítmica). A associação entre as variáveis foi analisada pela correlação de Pearson, usando o software SPSS Statistics (IBM® Inc., Chicago, USA). O percentual de doadoras em estro foi 78% em ambos os tratamentos, e o percentual de fêmeas que responderam à superovulação (>2CL) foi 67,8±17,6% (G9) e 73,0±17,8% (G6, P>0,05). O número de folículos no momento do 1º FSH com <3mm ou >5mm foram 11,7±3,9 e 0,8±0,2 para G9 e 12,5±4,3 e 1,2±0,2 para (G6) (P>0,05), respectivamente. O número de CL foi 6,5±0,5 (G9) e 6,7±0,5 (G6, P>0,05). Os números de folículos <3mm (r=0,43) e >5mm (r=0,38) foram positivamente correlacionados (P<0,05) com o número de CL. A transposição cervical foi possível em 91% (31/34) das ovelhas acasaladas e não diferiu entre tratamentos (87 vs 94%). O tempo de transposição cervical e tempo total de procedimento foi 4,7±0,6 e 24,1±1,7 min em G9 e 5,7±0,6 e 24,0±1,5 min em G6 (P>0,05). O número de estruturas recuperadas (5,6±0,6 vs 4,0±0,5) e embriões viáveis (2,8±0,5 vs 1,4±0,3) por ovelha coletada não diferiram (P>0,05) entre G9 e G6, respectivamente. Ambos tratamentos mostraram alta variabilidade de resposta ovulatória, o que pode reduzir a média de embriões por doadora. O protocolo de relaxamento cervical permitiu a colheita transcervical de embriões em alto percentual de ovelhas da raça Lacaune.

Auxílio Financeiro: *EMBRAPA (Projeto 02.08.02.005.00.04) e Fapemig (Projeto CVZ-PPM 00201-17).*

Comparação do estresse e bem-estar animal causados pelos procedimentos de coleta de embriões cirúrgica e não cirúrgica em ovelhas

Juliana Dantas Rodrigues Santos ¹, Isabel Cosentino Oliveira ¹, Viviane Lopes Brair ¹, Mario Felipe Alvarez Balara ¹, Maria Clara Cruz Morais ¹, Eduardo Kenji Nunes Arashiro ¹, Joanna Maria Gonçalves Souza-Fabjan ¹, Jeferson Ferreira da Fonseca ², Felipe Zandonadi Brandão ¹

¹ UFF - Universidade Federal Fluminense (Rua Vital Brasil, 64, Niteroi, RJ), ² Embrapa - Embrapa Caprinos e Ovinos (Estrada Sobral/Groaíras, km 04, CP. 145, Sobral, Ceará, Brasil)

Na espécie ovina, as coletas de embriões são usualmente realizadas por laparotomia (LP). Contudo, esta técnica promove aderências nos órgãos reprodutivos levando ao posterior comprometimento da fertilidade e bem-estar desses animais. Já o método não cirúrgico, realizado

por via transcervical (TC), apesar de menos invasivo e oneroso, também pode afetar o bem-estar animal através da manipulação mecânica da cérvix. Nessa perspectiva, marcadores bioquímicos da inflamação, como proteínas de fase aguda, são considerados parâmetros confiáveis da resposta sistêmica frente à processos inflamatórios. Além disso, a mensuração da glicemia pode indicar níveis elevados de estresse. Assim, objetivou-se determinar os níveis de proteínas de fase aguda (proteína total e albumina) e de estresse (glicemia) em ovelhas submetidas à coleta LP ou TC. Ovelhas da raça Santa Inês (n=27) foram superovuladas pelo protocolo dia zero (Menchaca et al., *Theriogenology*, 68:1111-17, 2007), seguido por monta natural. A dilatação cervical foi induzida em todas as ovelhas com benzoato de estradiol i.v. (20 µg/mL; RIC-BE; Agener União, São Paulo, Brasil) e cloprostenol i.m. (0,12 mg; Estron; Agener União), administrados 12 h antes da coleta de embriões, e ocitocina i.v. (100 UI; Ocitocina Forte UCB, Centrovét, Goiânia, Brasil) administrada 15 min antes da coleta. Foi realizado um teste de transposição cervical para direcionar o tipo de coleta a ser realizada. A coleta LP (n=11) foi realizada sob anestesia geral (Lima et al., *Animal Production Science*, 56:1463-8, 2015). A coleta TC (n=16) foi realizada conforme proposto por Fonseca et al., *Small Ruminant Research*, 111:96-9, 2013, com a utilização de um sistema em circuito fechado. Amostras de sangue foram coletadas antes do jejum (M1) e da sedação (M2), durante a coleta (M3) e em vários momentos após a coleta: imediatamente (M4), 1 h (M5), 3 h (M6), 6 h (M7), 12 h (M8), 24 h (M9), 48 h (M10). Utilizou-se o teste de Kruskal-Wallis a 5% de significância. As coletas LP e TC diferiram nas concentrações de glicose em M4 (LP: 72,7 ± 17,4 vs. TC: 102,2 ± 22,9 mg/dL), em M9 (LP: 64,0 ± 12,3 vs. TC: 55,1 ± 4,3 mg/dL) e em M10 (LP: 61,3 ± 11,8 vs. TC: 52,6 ± 4,1 mg/dL) (P<0,05). Em M10, ocorreram diferenças nas concentrações de albumina (LP: 1,9 ± 0,4 vs. TC: 2,1 ± 0,3 g/dL) e de proteínas séricas (LP: 5,3 ± 0,5 vs. TC: 5,7 ± 0,4 g/dL) (P<0,05). No método LP não houve efeito do momento de avaliação sobre as concentrações de proteína e albumina séricas, bem como no método TC (P>0,05). No método TC houve um aumento de glicose em M3, M4, M5 e M6 (P<0,05) em relação aos demais momentos. Padrão similar foi observado no método LP onde o aumento se concentrou em M3, M5 e M6 (P<0,05). Em conclusão, o método LP induziu maior resposta inflamatória, devido à queda na albumina sérica 48 h após a coleta, e maior estresse, devido à elevação da glicose sérica.

Agradecimentos: Embrapa (Projeto 02.13.06.026.00.02) e CNPq (400785/2016-1).

Resistência periférica à insulina em vacas Holandesas (*Bos taurus*) repetidoras de serviço submetidas à secagem

Romulo Germano de Rezende ¹, Rodolfo Daniel Mingoti ¹, Bernardo Marcozzi Bayeux ¹, Flávia Morag Elliff ¹, Marcos Henrique Alcântara Colli ¹, Bruna Lima Chechin Catussi ¹, Jessica Cristina Lemos Motta ¹, Yeda Fumie Watanabe ³, Pietro Sampaio Baruselli ¹

¹USP - Universidade de São Paulo (Av Prof Orlando Marques de Paiva, 87, Cidade Universitária, São Paulo, SP, Brasil), ² IZ - Insitituto de Zootecnia (Nova Odessa), ³ WTA FIV - VITROGEN (Cravinhos, SP, Brasil)

O objetivo do estudo foi avaliar a resistência periférica à insulina (RPI) em vacas holandesas (*Bos taurus*) repetidoras de serviço (RS) submetidas à secagem sobre a produção in vitro de

embriões (PIVE) e taxa de prenhez após TETF. Foram utilizadas 26 vacas distribuídas em três grupos experimentais: Início lactação [IL; DEL<90 dias; n=9; 27,9±2,01 kg/dia/leite; ECC = 2,86±0,11]; Final de lactação repetidora de serviço [FL-RS; DEL >300 dias; n=8; 19,4±1,66 kg/dia/leite; ECC = 3,22± 0,06] e vaca seca repetidora de serviço [VS-RS; Período seco ≥ 60 dias; n= 9; ECC = 3,24±0,07]. Para teste de tolerância à glicose (TTG), as amostras de sangue foram coletadas após 4 horas de jejum, nos tempos -20, -10 e 0 min, momento que foi realizada infusão com 0,3g/kg de solução estéril de glicose [50% de glicose (i.v.)] por 5 min. Nos momentos 5, 10, 20, 30, 40, 60, 80, 100 e 120 min subsequentes foram coletados amostras de sangue para calcular a taxa de metabolismo (k) e meia vida (T^{1/2}) da glicose plasmática. A resposta da insulina (INS) após o TTG foi avaliada pela concentração circulante de insulina e pelo incremento de insulina ([INS] no pico - [INS] basal; Δmax). Para avaliar a qualidade do oócito, foi realizada OPU de todos os folículos ≥ 3mm de diâmetro em dia aleatório do ciclo. As análises estatísticas foram realizadas por contrastes ortogonais [Contraste 1 (C1) =Status fisiológico (IL+RS vs VS-RS) e Contraste 2 (C2) =Fase da lactação (IL vs FL-RS) utilizando o procedimento GLIMMIX do SAS. Não houve diferença significativa entre os grupos quanto as variáveis INS, k e T^{1/2} (min; P>0,05). Quando comparado o status fisiológico, o pico de INS e o Δ max (μUI/mL) foram maiores para vacas secas, do que vacas em lactação [IL=70,3±10,9b + FL-RS =72,7±17,7b vs VS-RS=241±58,1a; P=0,0004] e [IL=51±9,3b + RS=55,1±16,6b vs. VS-RS=219,6±56,5a; P=0,0003], respectivamente. Foram observadas diferenças entre o status fisiológico para as variáveis concentração de insulina no intervalo de 5-120 minutos [IL=4719,8±595,1b + FL-RS=4277,2±631,8b vs. VS-RS=8871,0±1594,7a; P=0,002]. A CFA, oócitos recuperados, oócitos viáveis taxa de clivagem não diferiram entre os grupos (P>0,05). Contudo, as taxas de blastocistos e de desenvolvimento embrionário foram maiores para vacas secas quando comparadas a vacas lactantes [C1; IL=35,2%b + FL-RS=34,4%b vs. VS-RS=53,1%a; P=0,003] e [IL=42%b + FL-RS=45,6%b vs. VS-RS=60,3%a; P=0,02], respectivamente. Não foram observadas diferenças na taxa de prenhez [IL=37,5% (3/8); FL-RS=21,4%(3/14); VS-RS= 33,3% (12/42); C1, P=0,76 e C2, P=0,44]. Conclui-se que vacas secas repetidoras de serviço apresentaram maior quantidade de insulina liberada em resposta ao TTG, o que contribuiu para o estabelecimento da RPI, entretanto não foi comprovada as diferenças na qualidade oocitária de vacas secas em relação a vacas em lactação.
Agradecimentos: APTA, WTA FIV, FAPESP 15/19563-0.

Produção in vitro de embriões de Novilhas da raça Nelore (*B. indicus*) de 12 e 24 meses tratadas ou não com FSH

Laísa Garcia da Silva ¹, Bernardo Marcozzi Bayeux ¹, Naiara Nantes Rodrigues ², Flavia Morag Elliff ¹, Rodolfo Daniel Mingoti ¹, Marcos Henrique Alcântara Colli ¹, Fábio Morato Monteiro ³, Pietro Sampaio Baruselli ¹

¹ USP - Universidade de São Paulo (Rua Orlando Marques de Paiva 87), ² UNESP - UNESP FCAV Campus Jaboticabal SP (Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, Castellane - S/N - Vila Industrial, Jaboticabal - SP, 14884-900), ³ IZS - Instituto de Zootecnia de Sertãozinho SP (Rodovia Rodovia Carlos Tonani, Caixa Postal 63, Sertãozinho-SP, 14160-970)

O presente estudo busca avaliar a produção *in vitro* de embriões de novilhas Nelore (*Bos indicus*) de 12 (pré-púberes) e 24 meses (púberes) e a resposta ao tratamento com FSH visando reduzir a idade à reprodução e o intervalo de gerações para acelerar o ganho genético dos rebanhos. Para tal, 7 novilhas de 12 meses de idade e 10 novilhas de 24 meses foram submetidas a duas aspirações foliculares (com um intervalo de 40 dias; *cross-over*) em um delineamento fatorial 2x2 (novilhas de 12 meses sem FSH (G12C); novilhas de 12 meses com FSH (G12FSH); novilhas de 24 meses sem FSH (G24C) e novilhas de 24 meses com FSH (G24FSH). Todas as novilhas foram sincronizadas recebendo 2mg de benzoato de estradiol (RIC-BE®, Agener União – Saúde Animal, São Paulo, SP), 0,530mg de cloprostenol sódico (Estron®, Agener União) e um dispositivo intravaginal com 360mg de progesterona no dia 0 (Primer PR®, Agener União, São Paulo). As novilhas do grupo tratado com FSH (G-FSH) receberam duas doses de 30mg de FSH (Folltropin®, Agener União) no dia 4 (manhã e tarde) e duas doses de 20mg de FSH no dia 5 (manhã e tarde). No dia 7 (após período de *coasting* de 44 horas) o dispositivo foi removido e cada novilha foi submetida a uma aspiração folicular guiada por ultrassonografia transvaginal (guia EC9-5 Novilha, WTA, Cravinhos, SP; ultrassom S8®, SonoScape, China). Os oócitos obtidos foram selecionados e encaminhados para FIV/PIVE. Para a fertilização dos óocitos foi utilizado sêmen de mesmo touro e mesma partida. As análises estatísticas foram feitas pelo procedimento GLIMMIX do SAS®. Não foi observada interação categoria e tratamento para as variáveis estudadas ($P > 0,05$), exceto para taxa de recuperação de oócitos. As novilhas de 24 meses apresentaram maior população folicular (G24C: $33,5 \pm 4,0^a$ vs. G12C: $20,9 \pm 4,2^b$; $P = 0,0131$) e maior número de oócitos recuperados (G24C: $26,1 \pm 3,5^a$ vs. G12C: $18,4 \pm 4,0^b$; $P = 0,0188$) que as novilhas de 12 meses. O tratamento diminuiu a taxa de recuperação de oócitos de ambas as categorias (G12C: $87\%^a$, G12FSH: $52\%^b$; G24C: $79\%^a$, G24FSH: $55\%^b$; $P = 0,04$). A taxa de oócitos viáveis foi maior para animais de 24 meses (G12C: $64\%^b$, G24C: $74\%^a$; $P = 0,0399$). As novilhas de 24 meses produziram mais embriões por OPU (G12C: $2,9^b$, G24C: $8,5^a$; $P = 0,0022$) que as de 12 meses. O tratamento com FSH aumentou a taxa de produção de blastocistos sobre o total de oócitos das novilhas pré-púberes (G12C: $18\%^b$, GT: $28\%^a$; $P = 0,0355$). A princípio, o tratamento com FSH melhora a taxa de produção de blastocistos em novilhas Nelore pré-púberes de 12 meses, mas é necessário aumentar o número de animais em estudo para confirmar esse resultado.

Agradecimentos: IZ de Sertãozinho, Bovigênese, WTA, NeoGen, Cnpq.

Comparação da produção *in vitro* de embriões bovinos (*Bos indicus*) tratados com diferentes concentrações de peptídeo natriurético C (NPPC) na maturação ou no cultivo *in vitro*

Camila Oliveira Rosa ¹, Nathalia Covre da Silva ¹, Amanda Fonseca Zangirolamo ¹, Patricia Kubo Fontes ², Juliana Hayashi Tannura ⁴, Andrea Cristina Basso ⁴, Fabio Morotti ¹, Marcelo Fábio Gouveia Nogueira ³, Marcelo Marcondes Seneda ¹

¹ UEL - Universidade Estadual de Londrina (Londrina - PR), ² UNESP - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho - Campus Botucatu (Botucatu - SP), ³ UNESP - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho - Campus Assis (Assis - SP), ⁴ IVB - In Vitro Brasil S.A. (Mogi Mirim - SP)

O objetivo deste estudo foi comparar o efeito de diferentes concentrações de suplementação de peptídeo natriurético C (NPPC) no meio de maturação *in vitro* (MIV) ou cultivo *in vitro* (CIV), comparando a taxa de desenvolvimento dos embriões bovinos produzidos *in vitro*. Foram obtidos ovários (n = 524) de vacas Nelore (*Bos indicus*; n = 262) de abatedouro local em 7 réplicas e transportados até o laboratório em solução salina a 35°C para obtenção dos oócitos. Após a aspiração folicular, os complexo cumulus-oócitos (CCOs) foram selecionados (grau I e II; n=3.125) e divididos aleatoriamente nos 7 grupos experimentais de acordo com a suplementação de NPPC: a) Controle (sem suplementação; n= 438); b) 50 MIV (suplementação de 50 nM na MIV; n= 484); c) 100 MIV (suplementação de 100 nM na MIV; n= 508); d) 150 MIV (suplementação com 150 nM na MIV; n= 498); e) 50 CIV (suplementação de 50 nM no CIV; n= 351); f) 100 nM CIV (suplementação de 100 nM no CIV; n=430); f) 150 nM CIV (suplementação de 150 nM no CIV; n=416). Após a seleção os CCOs foram colocados para a maturação *in vitro*, porém para os grupos 50, 100 e 150 nM MIV o meio de maturação foi suplementado com NPPC durante toda a etapa da MIV (24 horas). No dia 0 (D0) todos os CCOs foram fertilizados com o sêmen de um único touro previamente testado. Após o período de fertilização (D1) os prováveis zigotos foram desnudados e cultivados *in vitro*. No dia 5 (D5) do cultivo os prováveis zigotos dos grupos 50, 100 e 150 nM CIV foram tratados com o NPPC e permaneceram com a suplementação até o dia 7 (D7). No D7 foram avaliadas as taxas de produção dos embriões para comparação do efeito da suplementação de NPPC nos diferentes momentos e concentrações. Os resultados obtidos foram comparados pelo teste de regressão logística no programa estatístico Minitab®, versão 18.1. Considerou-se efeito significativo quando valor de p foi $\leq 0,05$. Quando comparado a taxa de blastocistos do grupo Controle (31,05%) com os grupos 50 MIV (33,47%; p = 0,427), 100 MIV (35,24%; P= 0,165), 150 MIV (32,53; P=0,625); 50 CIV (28,49%; P= 0,439); 100 CIV (27,67%; P=0,282); 150 CIV (26,92%; P=0,192), não houve diferença. Embora as taxas de blastocisto não tenham diferido entre os grupos, nossos dados fornecem referências para outras pesquisas que buscam melhorar a eficiência da produção *in vitro* de embriões bovinos.

Extratos etanólicos de plantas do cerrado no estresse oxidativo de embriões bovinos produzidos *in vitro*

Andrei Antonioni Guedes Fidelis^{1,2,3}, Francislete Rodrigues Melo¹, Ligiane Oliveira Leme³,
Taynan Stonoga Kawamoto³, Paulo Roberto Adona⁴, Margot Alves Nunes Dode³

¹ UniCeub - Centro Universitário de Brasília (Brasília), ² UnB - Programa de Pós-Graduação em Ciências Animais – Universidade de Brasília (Brasília), ³ Embrapa Cenargen - Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (Brasília), ⁴ Unopar - Universidade do Norte do Paraná – Centro de Pesquisa e Pós-Graduação (Londrina)

O cultivo *in vitro* de embriões induz uma produção excessiva de espécies reativas de oxigênio (ROS) e afeta a produção de blastocistos. A suplementação dos meios com agentes antioxidantes torna-se uma alternativa interessante para minimizar esse efeito. O presente estudo avaliou o efeito de extratos etanólicos, obtidos de plantas do cerrado, no estresse oxidativo de embriões

PIVE. Ovários de fêmeas bovinas oriundos de abatedouro foram usados para obtenção dos ovócitos grau I e II, os quais foram submetidos à maturação, fecundação (D0) e cultivo *in vitro*. Quatro grupos foram delineados no cultivo: um grupo controle cultivado em alta tensão de O₂ (G20%), um grupo cultivado em baixa tensão de O₂ (G5%), além de dois grupos cultivados sob alta tensão, suplementados com 0,01mg/mL do extrato de cagaita (GCag) e outro grupo com 0,01mg/mL do extrato de murici (GMuri). Foram avaliadas as taxas de clivagem (D2) e de blastocisto (D6 e D7). Os blastocistos expandidos (BX) de D7 foram utilizados para avaliação de ROS, de glutatona (GSH) e expressão gênica. Os níveis de ROS foram quantificados em microscopia confocal com o uso do H2DCFDA (diacetato de 6-carboxi-2',7'-diclorodihidrofluoresceína), e os níveis de GSH em microscopia de epifluorescência com o Cell Tracker Blue (4-clorometil-6,8-difluor-7-hidroxicoumarina). O nível dos transcritos de genes envolvidos na apoptose (BAX, BCL2L1, CASP3 e CASP8) e nas vias metabólicas de ROS (SOD2, CAT, GPX4 e PRDX3) foi determinado por qPCR, sendo o GAPDH utilizado como constitutivo. Os dados foram analisados por ANOVA e as médias comparadas pelo teste de TUKEY, a 5%. Foram utilizados 2135 ovócitos e produzidos 893 embriões (41,8%). A produção embrionária foi semelhante (P>0,05) entre os grupos G20% (clivagem: 87,6±8,1%, D6: 26,5±12,2% e D7: 42,7±6,2%) GCag (89±7,3%; 23,9±10,3%; 43±6,2%) GMuri (89±9,5%; 26,7±16% e 40,1±8,4%), e G5% (88±9,5; 26,7±16; 40,1±8,4). A emissão de fluorescência produzida por ROS e por GSH também foi semelhante (P>0,05) entre os grupos G20% (105,24 ± 26,04 e 156,36 ± 11,39), GCag (125,92 ± 31,82 e 159,98 ± 10,89), GMuri (135,25 ± 29,05 e 155,36 ± 14,07) e G5% (116,05 ± 27,51 e 151,37 ± 17,45). Os resultados mostraram que a expressão dos genes relacionados à apoptose foi semelhante (P>0,05) entre os grupos. Entretanto, os genes envolvidos no metabolismo de ROS foram diferencialmente expressos nos tratamentos. O GPX4 foi mais expresso (P<0,05) nos grupos cultivados com cagaita e murici do que no G5% e o PRDX3 foi mais expresso no grupo GMuri em relação ao G5% (P<0,05). Os demais genes da via metabólica de ROS (SOD2 e CAT) foram semelhantes entre os tratamentos (P>0,05). A suplementação de extratos (0,01mg/mL) de cagaita e murici induziram a um aumento de transcritos de genes relacionados com função antioxidante (GPX4 e PRDX3), apesar de não aumentar a taxa de embriões. Tais extratos podem ser uma alternativa para a diminuição do estresse oxidativo causado pelas condições adversas da PIVE.

Resistência periférica à insulina em vacas holandesas (*Bos taurus*) repetidoras de serviço

Bernardo Marcozzi Bayeux¹, Rodolfo Daniel Mingoti¹, Anibal Eucésio Vercesi Filho³,
Gabriela Dalmaso de Melo¹, Bruna Lima Chechin Catussi¹, Laisa Garcia da Silva¹, Yeda
Fumie Watanabe², Pietro Sampaio Baruselli¹

¹ USP - Universidade de São Paulo (Av Prof Orlando Marques de Paiva, 87, Cidade
Universitária, São Paulo, SP, Brasil), ² VITROGEN - VITROGEN (R. José A Nogueira, 203,
Cravinhos - SP), ³ IZ - Insitituto de Zootecnia (Nova Odessa)

O objetivo do estudo foi avaliar o estabelecimento do quadro de resistência periférica à insulina (RPI) em vacas holandesas (*Bos taurus*) repetidoras de serviço (RS) e seu efeito na produção *in vitro* de embriões (PIVE). Foram utilizadas 28 vacas distribuídas em três grupos experimentais:

Início Lactação [IL; DEL<50 dias; n=9; 24,9±1,7kg/dia/leite; ECC=2,9±0,07]; Final Lactação Repetidoras de Serviço (FL-RS) [DEL>300 dias; n=10; 17,2±0,9kg/dia/leite; ECC=3,4±0,12] e Final Lactação Prenha [FL-P; DEL>300 dias; n=9; 19,6±1,3kg/dia/leite; ECC=3,4±0,06]. Para o teste de tolerância à glicose, as amostras de sangue foram coletadas após 4 horas de jejum, nos tempos -20, -10 e 0 min, momento que foi realizada infusão com 0,3g/kg de solução estéril de glicose [50% de glicose (*i.v.*)] por 5 min. Nos momentos 5, 10, 20, 30, 40, 60, 80, 100 e 120 min subsequentes foram coletadas amostras de sangue para calcular a taxa de metabolismo (k) e meia vida ($T_{1/2}$) da glicose plasmática. A resposta da insulina (INS) após o TTG foi avaliada pela concentração circulante de insulina e pelo incremento de insulina ([INS] no pico - [INS] basal; Δ max). Para avaliar a qualidade do oócito, foi realizada uma OPU em dia aleatório do ciclo estral. A contagem da população folicular antral (CFA) foi realizada com auxílio de US (Mindray® DP2200Vet). As análises estatísticas foram realizadas por contrastes ortogonais [Contraste 1 (C1) = Fase da Lactação (IL vs FL-RS+FL-P) e Contraste 2 (C2) = Status Reprodutivo (FL-RS vs FL-P)] utilizando regressão logística através do PROC GLIMMIX do SAS. Houve diferença da fase da lactação para as variáveis áreas sob a curva (AUC) entre 5 e 120 min pós infusão [IL=4367,8±927,1 vs RS=9524,5±1746,3 + FP=8047,6±1113,8; P=0,02]. A CFA foi maior em vacas no início de lactação quando comparada a vacas no final da lactação [IL=21,3±6,0 vs FL-RS=13,6±4,3 + FL-P=10,8±2,2; P=0,03 (C1)], porém a quantidade de oócitos recuperados, o número de oócitos viáveis, a taxa de recuperação de oócitos e a taxa de clivagem não diferiram entre os grupos (P>0,05). Verificou-se diferença entre a fase da lactação para a taxa de blastocistos [IL= 10,0% vs FL-RS= 18,9% + FL-P=22,8%; P=0,01] e para taxa de desenvolvimento embrionário [IL=14,0% vs FL-RS=41% + FL-P=38,1%; P=0,03]. Conclui-se que vacas repetidoras de serviço e vacas prenhas no final da lactação apresentaram maior quantidade de insulina liberada em resposta ao TTG, evidenciando o estabelecimento do quadro de RPI. Entretanto, não foi comprovada a baixa qualidade oocitária quando comparadas a vacas no início de lactação.

Agradecimentos: FAPESP (2014/19460-4), Instituto de Zootecnia - Nova Odessa, SP, WTA FIV.

Efeito do tratamento com GnRH no momento da transferência de embriões sobre a taxa de concepção de receptoras bubalinas (resultados preliminares)

Damiana Chello Damiana Chello ¹, Julio Cesar Barboza da Silva ², Martin Cruz Valenzuela ⁴, Nelcio Antonio Tonizza de Carvalho ³, Julia Gleyci Soares ¹, Rodolfo Daniel Mingoti ¹, Pietro Sampaio Baruselli ¹

¹ FMVZ/USP - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia / Universidade de São Paulo (Avenida Professor Doutor Orlando Marques de Paiva, 87), ² UniFAJ - Centro Universitário de Jaguariúna (R. Amazonas, 504 - Jardim Dom Bosco, Jaguariúna - SP), ³ UPD / APTA - Unidade de Pesquisa e Desenvolvimento de Registro (Registro, Vale do Ribeira, SP), ⁴ VA - Veterinario Autonomo (Formosa, Argentina)

A transferência de embriões em tempo fixo (TETF) é uma biotécnica importante para aumentar a eficiência reprodutiva das receptoras de embriões. O objetivo do presente estudo foi avaliar o

efeito do tratamento com GnRH no momento da TETF, na taxa de prenhez de búfalas receptoras de embrião. A hipótese do presente estudo é de que o tratamento com GnRH no momento da TETF induz a formação de um corpo luteo (CL) acessório, aumenta as concentrações plasmáticas de progesterona (P4), gerando embriões que possuem maior capacidade de síntese e liberação de Interferon-Tau (bIFN- τ ; Mann et al., *J Reprod Fertile Suppl*, 54:317-328, 1999), reduzindo assim a mortalidade embrionária e, conseqüentemente, aumentando a taxa de prenhez (Vecchio et al., *Reprod Dom Ani* 45,614-618, 2010). O estudo envolveu 291 búfalas da raça Murrah, com idade entre 2 e 15 anos, sem problemas de fertilidade e em boa condição corporal (ECC>2,5). O experimento foi realizado em 2 fazendas distintas: na Estância Santa Olga (Rota 81, Formosa, Argentina), e no Polo Regional Vale do Ribeira (Unidade de Pesquisa e Desenvolvimento, Registro, São Paulo, Brasil). As receptoras foram sincronizadas com o seguinte protocolo: no dia 0 as búfalas receberam a inserção de um dispositivo intravaginal contendo 0,5 g de P4 (DIB® 0,5; Syntex, Argentina), associado a aplicação i.m. de 0,5 mg de benzoato de estradiol (Syntex®; Argentina) e 0,53 mg de cloprostenol sodico (PGF2 α ; Ciclase DL, Syntex, Argentina). No dia 9, foi realizada a remoção do dispositivo de P4 e a aplicação i.m. de 0,53 mg de PGF, 400 UI de gonadotrofina coriônica equina (eCG; Novormon®, Syntex, Argentina) e 1,0 mg de cipionato de estradiol (Cipiosyn®, Syntex, Argentina). No dia 18 do protocolo (sexto dia do ciclo estral) foi realizada a avaliação ultrassonográfica (DP 2200®, Mindray; China). Búfalas com presença de CL>14 cm (n=168) receberam embriões vitrificados produzidos *in vitro* (PIVE). A taxa de aproveitamento foi de 64,8% para a Estancia Santa Olaga (70/108) e de 53,5% para o Polo Regional (98/183). Na TETF as receptoras foram divididas em dois grupos: Grupo GnRH (G-GnRH) que recebeu 10 μ g de acetato de gonadorelina i.m. (GnRH; Gonasyn GDR®, Syntex, Argentina); e o grupo Controle (G-CONT), sem tratamento. Após 30 dias da transferência foi realizado novo exame ultrassonográfico para avaliar a taxa de concepção das receptoras. As análises estatísticas foram feitas pelo procedimento GLIMMIX do SAS®. Não foi observada diferença significativa entre as taxas de concepção dos dois grupos (G-GnRH: 20,9%, G-CONT: 14,8%; P = 0,31). Além disso não houve interação da qualidade dos embriões transferidos: blastocisto (BL), blastocisto expandido (BX), blastocisto encloido (BE) (P=0.78); fazenda (P=0.73) e tratamento/fazenda (P=0.71). A aplicação de GnRH no momento da TETF não aumentou a taxa de concepção em búfalas após a TETF.

A indução de lactação em vacas Holandesas (*Bos taurus*) repetidoras de serviço diminui a resistência periférica à insulina

Rodolfo Mingoti ¹, Bernardo Bayeux ¹, Romulo Rezende ¹, Flavia Elliff ¹, Anibal Eugênio Vercesi Filho ², Enilson Geraldo Ribeiro ², Aline De Sousa Oliveira ³, Waneska Spinelli Frizzarini ¹, Yeda Fumie Watanabe ³, Pietro Sampaio Baruselli ¹

¹ VRA / FMVZ / USP - Departamento De Reprodução Animal Da Universidade De São Paulo (São Paulo - SP - Brasil), ² IZ - Instituto De Zootecnia (Nova Odessa - SP - Brasil), ³ WTA FIV - WTA FIV (Cravinhos - SP - Brasil)

O objetivo do estudo foi avaliar a resistência periférica à insulina (RPI) em vacas holandesas (*Bos taurus*) repetidoras de serviço (RS) submetidas à secagem e subsequente indução de

lactação (IL) sobre a produção *in vitro* de embriões (PIVE) e taxa de prenhez após transferência de embriões em tempo fixo (TETF). Foram utilizadas 34 vacas, distribuídas homogeneamente em quatro grupos experimentais: Início lactação fisiológica [ILF; DEL<90d; n=9; 28,7±1,4 kg/dia/leite; ECC=2,7±0,04], Início lactação por indução [ILI; DEL<90d; n=9; 17,7±1,56 kg/dia/leite; ECC=3,0±0,04], Final Lactação - RS [FL-RS; DEL>300d; n=7; 16,7±1,26 kg/dia/leite; ECC=3,2±0,08] e Vaca Seca - RS [VS-RS; Período seco>300d; n=9; ECC=3,7±0,09]. Vacas RS foram caracterizadas por não se tornarem prenhes após quatro ou mais IAs. Para o teste de tolerância à glicose (TTG), as amostras de sangue foram coletadas após 4 horas de jejum, nos tempos -20, -10 e 0 min, momento que foi realizada infusão com 0,3g/kg de solução estéril de glicose [50% de glicose (*i.v.*)] por 5 min. Nos momentos 5, 10, 20, 30, 40, 60, 80, 100 e 120 min subsequentes foram coletados amostras de sangue para calcular a taxa de metabolismo (k) e meia vida (T_{1/2}; min) da glicose plasmática. A resposta da insulina (INS) após o TTG foi avaliada pela concentração circulante de INS e pelo incremento de INS ([INS] no pico - [INS] basal; Δmax). Para avaliar a contagem de folículos antrais (CFA) e a qualidade do oócito, foram realizadas três OPU's com intervalo de 30 dias, em dia aleatório do ciclo. As análises estatísticas foram realizadas pelo procedimento GLIMMIX do SAS. Não houve diferença entre os grupos quanto ao nível de INS, k e T_{1/2} (P>0,05). O pico de INS (P=0,0007) e o Δ max (μUI/mL; P=0,005) foram maiores para o grupo VS-RS quando comparado a ILF e ILI mas similar a FL-RS [VS-RS (318,5±44,6^a e 268,5±37,9^a); ILF (173,3±27,7^b e 132,2±28,8^b); ILI (181,1±26,0^b e 142,1±21,3^b) e FL-RS (238,3±42,0^{ab} e 197,7±41,9^{ab})]. Foram observadas diferenças para a concentração de INS no intervalo de 5-60min [ILF=7486,3±1168,9^{ab}; ILI=6880,4±1066,8^b FL-RS=9416,9±1396,9^{ab}; VS-RS=11907,6±1954,4^a; P=0,05]. A CFA foi maior em vacas FL-RS e VS-RS quando comparada à ILI mas similar à ILF (16,7±2,2^a; 18,1±2,6^a; 9,3±1,1^b; 14,2±1,6^{ab}; P=0,04). Houve diferença no nº oócitos viáveis (ILF=5,0±0,7^{bc}; ILI=3,2±0,5^c; FL-RS=7,7±1,0^{ab}; VS-RS=8,0±1,4^a; P=0,02). A taxa de oócitos viáveis foi maior em vacas FL-RS e VS-RS quando comparado à ILF, mas similar à ILI (57,7%^a; 52,0%^a; 42,5%^b; 44,0%^{ab}, P=0,05). Houve diferença na taxa de blastocistos (ILF=15,0%^{ab}; ILI =8,4%^b; FL-RS=20,4%^a; VS-RS=17,8%^{ab}; P=0,03). Não foram observadas diferenças na taxa de prenhez [ILF=45,0% (9/20); ILI=40,0% (2/5) FL-RS=41,4% (17/41); VS-RS=38,7% (12/31); P=0,81]. Conclui-se que o protocolo de indução de lactação diminui o quadro de RPI, entretanto não foi eficiente para melhorar a PIVE e a taxa de prenhez após a TETF.

Agradecimentos: FAPESP (2014/19460-4), IZ - Nova Odessa, SP

Efeito do tratamento com rbST na fertilidade e na produção de leite de búfalas (*Bubalus bubalis*) em lactação

Lais Mendes Vieira ³, Mariana Pallú Viziack ¹, Otávio Bernardes ², Henderson Ayres ³, Pietro Sampaio Baruselli ¹

¹ FMVZ - USP - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (Rua Orlando Marquês de Paiva, 87 - Cidade Universitária - São Paulo-SP), ² Paineiras da Ingaí - Fazenda Paineiras da Ingaí (Alambari-SP), ³ MSD - MSD Saúde Animal (Avenida Dr. Chucuri Zaidan, 246-96 - São Paulo-SP)

O objetivo deste estudo foi avaliar a fertilidade e a produção de leite durante toda a lactação após tratamento com somatotropina bovina recombinante (rbST - Boostin® - MSD Saúde Animal) em búfalas. O estudo foi conduzido na Fazenda Paineiras da Ingaí em Sarapuí-SP, Brasil, em 95 búfalas da raça Murrah em lactação durante o período de 12 meses (março de 2017 a abril de 2018). As búfalas foram homogeneamente divididas em dois grupos experimentais: controle, CON (n=48) e tratado, rbST (n=47), conforme número de lactações [4,2±0,3 (EPM) lactações], produção completa da lactação anterior (3.395,1±91,9 L), ocorrência de partos gemelares (uma em cada grupo), peso ao parto (620,89±76,90 kg) e dias em lactação para início do tratamento (60,8±3,7 dias). As aplicações de rbST foram subcutâneas a cada 14 dias, totalizando 18,9±0,4 aplicações por lactação. As búfalas foram submetidas à monta natural na proporção de 1 touro para 60 búfalas. Foi realizada uma aspiração folicular (OPU) para produção in vitro de embriões (PIV) 80,7±4,6 dias pós-parto para avaliar o efeito do tratamento na qualidade oocitária em 24 búfalas (CON=12 e rbST=12), e foram utilizados dois touros. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o PROC GLIMMIX do SAS. Não houve efeito do tratamento com rbST no intervalo parto-concepção (CON=86,2±11,0 e rbST=88,1±11,5 dias, P=0,96) e na taxa de prenhez ao final da lactação [CON=97,9% (48/49) e rbST=95,9% (47/49), P=0,54]. Também, não houve efeito de tratamento na quantidade recuperada de complexo cumulus-oócito por OPU (CCO - CON=8,0±0,8 e rbST=8,3±0,9 oócitos aspirados/búfala, P=0,51) e na PIV (CON=1,7±0,4 e rbST=1,6±0,4 embriões produzidos/búfala, P=0,25). O tratamento com rbST aumentou a produção média diária de leite (CON=10,3±0,1 e rbST=12,2±0,2 L/búfala/dia, P<0,0001). Para curva de produção de leite, houve efeito de tempo (P<0,0001) e interação tempo-tratamento (P=0,03). O grupo rbST aumentou a produção de leite em todos os períodos da lactação (P=0,03). Além disso, houve efeito na produção total de leite na lactação (CON=3.119,2±111,3 e rbST=3.576,0±119,3 L/búfala/lactação, P=0,02). Dessa forma, a utilização do rbST não apresentou efeito na fertilidade, porém, aumentou a produção de leite diária e a produção total de leite durante a lactação de búfalas da raça Murrah.

Efeito do tratamento com FSH e/ou rBST na PIVE de bezerras holandesas (4 a 9 meses)

Flávia Morag Elliff¹, Bernardo Marcozzi Bayeux¹, Rodolfo Daniel Mingoti¹, Marcos Henrique Alcântara Colli¹, Laísa Garcia da Silva¹, Gabriela Dalmaso de Melo¹, Guilherme Gomes¹, Francisco Palma Rennó¹, Yeda Fumie Watanabe², Pietro Sampaio Baruselli¹

¹ USP - Universidade de São Paulo (Av Prof Orlando Marques de Paiva, 87, Cidade Universitária, São Paulo, SP, Brasil), ² VITROGEN - VITROGEN (R. José A Nogueira, 203, Cravinhos - SP)

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do tratamento com FSH e/ou rBST na PIVE de bezerras Holandesas (*Bos taurus*). Um total de 27 fêmeas Holandesas foram utilizadas, 22 pré-púberes e 5 púberes. Os animais pré-púberes foram divididos aleatoriamente em: grupo controle (GCTL ; n=6); grupo tratado com rBST (GBST; n=5); grupo tratado com FSH (GFSH; n=6) e grupo tratado com FSH+rBST (GFSH+BST; n=5). As novilhas púberes (GNP; n=5) foram incluídas para controle positivo. Todos os animais receberam dispositivo auricular de norgestomet (Crestar®, MSD Saúde Animal, São Paulo, SP, Brasil) e Img de BE (Fertilcare

Sincronização®, MSD Saúde Animal) no D0. Os animais do GCTL não receberam tratamento adicional. Os animais do GBST receberam 500mg de rBST (Boostin®, MSD Saúde Animal) no D-2. Os animais do GFSH receberam 140 mg de FSH (Folltropin®, Agener União – Saúde Animal, São Paulo, SP, Brasil), administrado em 4 injeções duas vezes por dia em doses decrescentes (40 mg [dia 4, PM], 40 mg [dia 5, AM], 30 mg [dia 5, PM], e 30 mg [dia 6, AM]; período de coasting de 24 horas). Os animais do GFSH+BST receberam 500mg de rBST no D-2 e o mesmo protocolo de tratamento com FSH citado acima. As novilhas do GNP não receberam tratamento adicional. No D7 os dispositivos de norgestomet foram removidos e todos os animais foram submetidos a anestesia epidural (Lidocaína 2%) seguido da aspiração folicular guiada por ultrassonografia transvaginal (guia EC9-5 Novilha, WTA, Cravinhos, SP; ultrassom S8®, SonoScape, China). Os oócitos recuperados seguiram para a PIVE em laboratório comercial e o desenvolvimento embrionário (taxa de clivagem e de blastocisto) foi avaliado. Os oócitos foram fertilizados com sêmen sexado de dois touros da raça Holandesa (*Bos taurus*). Os dados obtidos foram analisados utilizando o procedimento GLIMMIX do SAS®. Não foi observada diferença estatística entre os grupos quanto ao número de blastocistos (P=0,7), número de oócitos clivados (P=0,57); total de oócitos recuperados (P=0,11), taxa de blastocisto (sobre total de oócitos; P=0,36) e taxa de clivagem (sobre total de oócitos; P=0,3). No D7, o GFSH possuía maior (P=0,006) quantidade de folículos médios (14,2±3,09a) do que os grupos GBST, GCTL e GNP (1,1±1,20b; 1,5±1,18b e 1,3±1,16b, respectivamente) e o grupo GFSH+BST possuía maior (P=0,002) quantidade de folículos grandes (2,5±0,67a) do que o GCTL (0,1±0,31b). A taxa de recuperação oocitária foi menor (P=0,01) no GBST quando comparado ao GCTL (55,0%a vs. 70,2%b, respectivamente). O número de oócitos viáveis foi maior (P=0,03) no GFSH (14,6±0,28a) do que no grupo GBST (3,2±0,25b). Aparentemente, o tratamento com FSH, rBST ou a associação dos tratamentos não teve influência sobre a PIVE nesta categoria animal, no entanto, estudo com maior número de animais deve ser realizado a fim de confirmar estes dados. Agradecimentos: CAPES; Bovigenese; WTA; Vitrogen; Laboratório de Pesquisa em Bovinos de Leite (USP).

Efeito de diferentes biotécnicas reprodutivas (IA, TE e FIV) no desempenho reprodutivo e produtivo de fêmeas Holandesas

Mariana Pallú Viziack¹, Carlos Alberto Rodrigues², Rodolfo Daniel Mingoti¹, Pietro Sampaio Baruselli¹

¹ FMVZ - USP - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (São Paulo-SP), ² SAMVET - Clínica Veterinária SAMVET (São Carlos-SP)

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito de diferentes biotécnicas reprodutivas (IA, TE e FIV) no desempenho reprodutivo de vacas da raça Holandesa em lactação, e avaliar o desempenho reprodutivo e produtivo de sua progênie de fêmeas. O estudo foi conduzido na Fazenda Santa Rita/Agrindus S.A. em Descalvado, São Paulo, Brasil. Foram analisados os dados reprodutivos de vacas em lactação criadas sob as mesmas condições que receberam as três biotécnicas (IA=8382, TE=6381 ou FIV=1503) contemporaneamente nos anos de 2013 a 2015. Nas progenitoras foram analisadas as variáveis duração da gestação (DG) e retenção de anexos fetais

(RAF), e na progênie foi avaliada a mortalidade do nascimento ao desmame (MND; IA=659, TE=572 e FIV=90) e mérito genético (MG; IA=619, TE=545 e FIV=84) através do programa Gestor Leite – CRV Lagoa. Além disso, na progênie foram analisadas as variáveis peso ao nascimento (PN) e peso ao desmame (PD; IA=574, TE=504 e FIV=73), e foram parcialmente analisadas a idade à primeira concepção (IPC; IA=552, TE=456 e FIV=61) e a produção de leite da primeira lactação (P1^aLAC; IA=216, TE=151 e FIV=16). Os dados foram coletados durante o período do calor (primavera e verão) e do frio (outono e inverno). Os dados foram analisados pelos PROC GENMOD e GLIMMIX do SAS. Na progenitora, a DG diferiu de acordo com a época do ano em que foi realizada (Calor=275,5±0,3^A e Frio=274,3±0,2^B dias, P=0,045) e não diferiu de acordo com a biotécnica (IA=275,0±0,3^{AB}; TE=274,4±0,2^B; FIV=276,4±0,6^A dias, P=0,068), assim como a RAF [IA=22,0%(145/659), TE=19,9%(114/572) e FIV=23,3%(21/90), P=0,546]. Na progênie, a MND diferiu de acordo com a biotécnica [IA=6,8%(45/659)^{AB}; TE=4,4%(25/572)^B e FIV=10,0%(9/90)^A, P=0,047], assim como o PN (IA=39,9±0,1^B, TE=39,8±0,2^B e FIV=41,7±0,5^A kg, P<0,0001), a IPC (IA=474,0±3,2^{AB}, TE=467,8±3,3^B e FIV=491,9±10,5^A dias, P=0,060) e o MG (IA=9241,4±21,94^B, TE=9301,6±22,6^B e FIV=9497,7±57,3^A kg, P=0,0001) enquanto que o PD não diferiu de acordo com a biotécnica (IA=98,2±0,4, TE=98,8±0,4 e FIV=96,2±1,3 kg, P=0,565), assim como a P1^aLAC (IA=10172,1±150,8, TE=10230,8±156,3 e FIV=11118,7±353,8 kg, P=0,163). Conclui-se que houve diferença da época do ano para DG e que houve diferença de biotécnica para DG, MND, PN, IPC e MG, enquanto que a RAF, o PD e a P1^aLAC não diferiram de acordo com a biotécnica. À princípio, as biotécnicas podem ter influência no desempenho reprodutivo, entretanto são necessários mais dados para concluir sua influência no desempenho produtivo de fêmeas Holandesas.

Influência da categoria animal, controle de onda folicular e administração de FSH exógeno sobre a recuperação de oócitos e produção *in vitro* de embriões em fêmeas da raça Holandesa

Aderson Mauricio Ifran ¹, Anelise Ribeiro Peres ¹, Guilherme Fazan Rossi ¹, Roberta Vantini ¹, Marina Ragagnin de Lima ^{2,1}, Joaquim Mansano Garcia ^{1,2}, Rafaela Faresim Pastorio ³

¹ UNESP - Universidade Estadual Paulista (UNESP-Jaboticabal), ² BIOKLONE - BIOKLONE Reprodução Animal LTDA (Rua 24 de maio, 288, Centro Jaboticabal, SP), ³ UPF - Universidade de Passo Fundo (Av. Brasil Leste, 285 - São José, Passo Fundo - RS, 99052-900)

Fêmeas da raça Holandesa, criadas nas regiões de clima subtropical apresentam baixa eficiência quanto ao número, qualidade e competência oocitária para a produção *in vitro* de embriões. O controle da dinâmica folicular associada à administração de FSH exógeno pode aumentar o número e melhorar a qualidade oocitária na produção de embriões *in vitro*. Foram utilizadas 21 fêmeas da raça Holandesa, sendo 07 novilhas (N), 07 vacas secas (VS) e 07 vacas em lactação (VL) em um delineamento em “crossover” de quatro tratamentos realizados com intervalo de 21 dias: T1 – Aspiração folicular ao acaso em qualquer momento do ciclo estral; T2 – Aspiração folicular três dias após a remoção do folículo dominante; T3 - Aspiração folicular três dias após remoção do folículo dominante e vinte e quatro horas após administração com dose única de

FSH (100 UI para novilhas e 200 UI para vacas secas ou em lactação); T4 – Aspiração folicular após administração de FSH na dose de 200 UI para novilhas e 400 UI para vacas secas e lactantes, subdividas em 8 doses decrescente, indução de luteólise junto com a sexta dose de FSH e indução de pico de LH com GnRH 36 horas após a administração de PGF2 α e aspiração folicular 26 horas depois da aplicação do GnRH. Os oócitos recuperados foram classificados como imaturos viáveis (cúmulos compacto e citoplasma homogêneo), atrésicos (cúmulos compacto ou expandido e citoplasma irregular) ou maturados *in vivo* (cúmulos expandido com extrusão do primeiro corpúsculo polar). Os resultados foram avaliados pela análise de variância pelo teste F e, quando o valor de F foi significativo ao nível de 5% de probabilidade, aplicou-se o teste Duncan para comparação das médias. Considerando as três categorias de animais, a maior média de oócitos recuperados (N=10,21, VS=8,39 e VL=6,71) e oócitos viáveis (N=8,28, VS=6,78 e VL=5,61) foram obtidas com as novilhas. As vacas secas apresentaram maior média de produção de embriões (N=1,28, VS=2,86 e VL=0,39), sendo P<0,05. Ao avaliar os tratamentos, só houve diferença (P<0,05) na variável de oócitos viáveis, sendo T4 o tratamento de maior média (T1=4,52; T2=6,48; T3=7,38 e T4=9,19). Os resultados demonstraram que a categoria de vaca Holandesa seca foi mais eficiente para produzir embriões *in vitro* e os tratamentos com controle de onda folicular e estimulação com FSH não foram suficientes para incrementar a taxa de produção de embriões *in vitro* em vacas e novilhas da raça Holandesa.

Incidência de apoptose e desenvolvimento de embriões bovinos cultivados *in vitro* na presença ou ausência de soro fetal bovino

Andressa Minozzo Olveira ¹, Marco Antonio Menine Vielmo ¹, Janine De Camargo ¹, Mario Celso Sperotto Brum ¹, Mateus José Sudano ¹

¹ Unipampa - Universidade Federal do Pampa (Br 472 KM 585)

A produção *in vitro* (PIV) de embriões é uma ferramenta que possibilita o aumento na produtividade através do uso de animais com genética superior. Para que os eventos do desenvolvimento embrionário ocorram na PIV é necessário encontrar meios que mimetizem as condições *in vivo*. Cabe destacar que o potencial de desenvolvimento das estruturas pode ser afetado por uma série de fatores. De uma maneira geral, a maioria dos embriões produzidos no mundo é oriunda de meios de cultivo suplementados com soro fetal bovino (SFB). A análise da viabilidade embrionária tornou-se uma questão de extrema importância para estabelecer melhores índices de produção. Neste contexto, a investigação da apoptose é um bom indicativo da análise do status celular do embrião e vem sendo utilizada para avaliar a viabilidade embrionária. O objetivo do presente trabalho foi avaliar o desenvolvimento embrionário e a incidência de apoptose em meios de cultivo contendo ou livre de SFB. Ovários (n=74) de fêmeas (n=37) bovinas de abatedouro foram utilizados para obtenção de oócitos (n=175) e submetidos à maturação e fertilização *in vitro*. Após 18h, os possíveis zigotos foram desnudados e divididos em dois grupos: 1) Grupo cultivado em meio SOFaaci acrescido de 0,5% de BSA e livre de SFB, e 2) Grupo cultivado em meio SOFaaci acrescido de 2,5% de SFB; e cultivados em estufa com umidade saturada e atmosfera de 5% de CO₂, 5% de O₂ e balanço de N₂. As taxas de clivagem e produção de blastocistos foram avaliadas nos dias 2 e 7, respectivamente.

Posteriormente, os blastocistos produzidos em meio livre (n=11) ou contendo SFB (n=13) foram submetidos à técnica de TUNEL e analisadas em microscópio de fluorescência. Para análise estatística, os dados foram analisados pelo Test T com auxílio do software GraphPad Prism. Foi adotado nível de significância de 5% e os dados estão apresentados como porcentagem ou média±erro padrão. A remoção do SFB aumentou ($P<0,05$) a taxa de clivagem comparado ao grupo contendo SFB (77,3 vs 70,7%; respectivamente). Contudo não houve diferença na taxa de produção de blastocistos entre os grupos contendo (31,1%) ou livre de SFB (27,7%). O presente experimento revelou uma maior ($P<0,05$) quantidade de células totais em embriões cultivados em meio livre de SFB em comparação aos cultivados em meio suplementado com SFB (174,8±12,2 vs. 123,6±5,2; respectivamente). Os número total de células apoptóticas (3,2±0,6 vs. 4,5±1,1) e a porcentagem de células em apoptose (1,9±0,3 vs. 3,8±0,9) não diferiram ($P>0,05$) entre os tratamentos livre ou contendo SFB, respectivamente. Portanto, a remoção do SFB aumentou o número total de células por blastocisto sem impactar a incidência de apoptose e produção de blastocistos, permitindo dessa forma a remoção do SFB do meio de cultivo embrionário.

Perfil metabólico e produção *in vitro* de embriões de vacas primíparas Canchim mantidas em áreas de pastejo intensivo ou silvipastoril

Amanda Prudêncio Lemes ^{1,2}, Alexandre Rossetto Garcia ², Yeda Fumie Watanabe ³, Marina Okano Chiba ³, Annelise Carla Camplesi ¹, Reinaldo Fernandes Cooke ⁵, Alice Poggi Brandão ⁶, Rodrigo da Silva Marques ⁶, Claudia Cristina Parro Paz ⁴, Lindsay Unno Gimenes ¹

¹ FCAV/Unesp - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane s/n 14884-900 - Jaboticabal, SP), ² CPPSE - Embrapa Pecuária Sudeste (Rodovia Washington Luiz, Km 234 s/nº, Fazenda Canchim, Caixa Postal: 339, CEP: 13560-970 - São Carlos - SP), ³ Vitrogen - Vitrogen Cravinhos (R. José A Nogueira, 203, Cravinhos - SP, 14140-000), ⁴ IZ/Sertãozinho-SP - Instituto de Zootecnia de Sertãozinho (Rod. Carlos Tonani, 94 - Zona Industrial, Sertãozinho - SP), ⁵ Texas A&M - Texas A&M University (400 Bizzell St, College Station, TX 77843, USA), ⁶ OSU - Oregon State University (1500 SW Jefferson St. Corvallis, OR 97331 541-737-1000)

Em regiões com clima tropical, sombreamento pode determinar maior conforto animal (Garcia et al, 2011), impactando sobre a produtividade. Assim, o objetivo foi estudar a influência de sistema silvipastoril sobre o perfil metabólico e a produção *in vitro* de embriões de vacas primíparas Canchim. Foram utilizadas 18 doadoras, com 477,0±12,0kg e 26,2±2,2 dias pós-parto, ao início do experimento. As fêmeas foram manejadas em dois sistemas de pastejo: 1) com presença de árvores (n=10; Silvipastoril-SP; árvores de eucalipto em espaçamento de 15x2m); 2) sem presença de árvores (n=8; Rotacionado Intensivo-RI). O experimento ocorreu na Embrapa Pecuária Sudeste, em São Carlos-SP, de janeiro a maio de 2017. Mensalmente foram realizados os seguintes procedimentos: mensuração do índice de temperatura de globo negro e umidade (ITGU) e da carga térmica radiante (CTR), colheita de amostras para dosagem de progesterona (P₄), β-hidroxi-butorato (BHB), glicose (GLI) e ácidos graxos não-esterificados (AGNE) e aspiração folicular (OPU). Após contagem dos folículos observados na OPU (FO), foi calculada

a taxa de recuperação (TxR). Os complexos cumulus oócitos (COC) avaliados com Graus I a III foram maturados e usados na PIVE, realizada com sêmen de um mesmo touro, de fertilidade conhecida. Foram avaliados número de oócitos totais (OT), número de oócitos viáveis (OV), taxa de clivagem em D3 (TxC), a taxa de blastocistos em D7 (número de embriões/número de oócitos viáveis; TxB). As variáveis discretas foram analisadas pelo PROC GENMOD, enquanto as contínuas pelo PROC MIXED. Os resultados foram apresentados como média \pm EPM. O ITGU e a CTR foram maiores ($P < 0,01$) em RI (83,2 \pm 0,7 e 694,2 \pm 11,3) do que em SP (81,2 \pm 0,7 e 610 \pm 8,9). Vacas pastejando em RI tiveram maior concentração de P₄ que aquelas em SP 1,4 \pm 0,4 e 1,1 \pm 0,2, respectivamente; $P = 0,02$), porém o sistema não influenciou as concentrações de AGNE ($P = 0,65$), GLI ($P = 0,31$) e BHB ($P = 0,09$) durante o período experimental. O FO ($P = 0,72$), a TxR ($P = 0,73$), OT (SP: n=1043; RI: n=788; $P = 0,27$), e OV ($P = 0,97$) não apresentaram diferença entre as áreas de pastejo. A TxC (85,9 \pm 2,6[574/643] vs 82,8 \pm 1,4[400/470], respectivamente; $P = 0,04$) e a TxB (43,0 \pm 4,2[245/574] vs 36,6 \pm 4,3[159/400], respectivamente; $P = 0,04$) foi maior nas vacas em SP do que nas em RI. Ficou evidente neste estudo, a diferença do microclima proporcionado pelas áreas RI e SP. Neste sentido, as maiores concentrações de P₄ observadas nas vacas da área RI, indicam possível condição de estresse neste grupo de animais (Cooke et al, 2009). Não foi observado, pelas dosagens de BHB, AGNE e GLI, balanço energético severo após o parto, contudo considerando a possível condição de estresse térmico das vacas em RI, a produção de embriões foi maior nas vacas em SP.

Agradecimentos: Embrapa (Rede Biotec, Rede Pecus, Adapt+), Laboratórios Byoembryo e Vitrogen, GS Reprodução Animal, FAPESP (Processo 2015/26627-5), CAPES e CNPq.

Associações entre dinoprost trometamina e acetato de deslorelina para indução de ovulação em éguas Mangalarga

Marcelo Siqueira El Azzi ¹, Gustavo Vasconcelos Barros ¹, Jesus Alfonso Sánchez Viafara ¹,
Pâmella Alves Correia ¹, Fábio de Pádua Almeida ¹, José Camisão de Souza ¹

¹ UFLA - Universidade Federal de Lavras (Campus/ Lavras-MG)

O objetivo foi determinar a eficiência do dinoprost trometamina (DT; Lutalyse[®], Zoetis, EUA) e sua associação com o análogo sintético do GnRH, o acetato de deslorelina (AD; Sincrorrelin[®], Ouro Fino, Brasil) na indução da ovulação de éguas cíclicas. Éguas Mangalarga (n = 30), com idade entre 4 e 15 anos e ECC 5 e 6 (1 magra – 9 obesa) foram examinadas diariamente através de ultrassonografia transretal. Edema endometrial 2 (0 nenhum edema – 3 edema máximo), cérvix aberto e diâmetro folicular de, pelo menos, 35 mm foram condições mínimas de inclusão da égua neste estudo. Ciclos estrais (n = 52) foram distribuídos aleatoriamente em um dos cinco tratamentos: 7,5 mg de DT (T1; n=17); 1,0 mg de AD (controle positivo; T2;n=10); 0,5 mg de AD (T3;n=4); 1,0 mg de AD + 7,5 mg de DT (T4;n=7) e 0,5 mg de AD + 7,5 mg DT (T5;n=14). Os animais foram examinados a cada seis horas - o diâmetro do folículo dominante e o edema endometrial foram registrados até o diagnóstico da ovulação e a gestação foi avaliada aos 12 dias pós-ovulação. O número de tratamentos (52) e de diagnósticos gestacionais (52) foram analisados por Q-quadrado, procedimento GENMOD com a opção binomial, SAS[®] (Cary - NC, EUA). As taxas de ovulação (%) não diferiram ($P > 0,05$) entre os tratamentos 1 a 5 (65, 90, 75,

100 e 100) respectivamente, sendo considerados significativos os efeitos do tratamento, edema pré-ovulatório e no momento da ovulação, quando $p < 0,05$. O tempo médio entre indução e ovulação foi de $54,52 \pm 5,19$ h. O diâmetro médio do folículo pré-ovulatório ($39,71 \pm 0,23$ mm) não diferiu entre os tratamentos. Não houve efeito do tratamento ($p = 0,67$) na taxa de gestação. As taxas de gestação não foram afetadas pelo edema no momento da indução ($p = 0,66$) e edema pré-ovulatório ($p = 0,45$). As taxas de ovulação similares, obtidas neste estudo, confirmam a hipótese de que as associações entre os análogos da prostaglandina e GnRH podem sustentar o mecanismo ovulatório comparado ao uso individual do último. Esse efeito complementar pode reduzir o custo dos protocolos de sincronização atualmente utilizados, que dependem exclusivamente dos análogos de GnRH, de custo elevado. Os resultados corroboram o papel ativo das prostaglandinas no mecanismo de ovulação.

Instituição de fomento: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Uso do conceito de centro de gravidade para analisar a dinâmica da indústria de embriões no Brasil: resultados preliminares

Rômany Louise Ribeiro Gonçalves ¹, Ana Cristina Silva Figueiredo ², João Henrique Moreira Viana ³

¹ UnB - Universidade de Brasília (Campus Universitário Darcy Ribeiro, Brasília, DF, 70910-900 Brasil;), ² Unifal-MG - Universidade Federal de Alfenas (Universidade de Alfenas, Alfenas, MG, 37130-000 Brasil;), ³ Embrapa - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF, 70770-917 Brasil)

O conceito de Centro de Gravidade (CG) vem sendo utilizado na avaliação de mobilidade de variáveis aditivas em termos geográficos (DE MORI et al., Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 37:6, 2007). Neste estudo, este conceito foi utilizado para estudar as mudanças geográficas na produção de embriões bovinos no Brasil. A hipótese central é que o CG da atividade se desloca em função da maior utilização em raças de corte ou leite. Como estudo de caso, utilizou-se dados da Associação Brasileira de Criadores de Zebu (ABCZ), estratificados por ano, raça e tecnologia utilizada (produção in vitro [PIV] ou in vivo [TE]). Para definição do local de produção, utilizou-se arbitrariamente as coordenadas geográficas (latitude e longitude) dos escritórios da ABCZ nos quais as comunicações de transferência ocorreram. Estas coordenadas foram então utilizadas para produzir médias ponderadas simples da distribuição espacial da variável aditiva avaliada, e determinação do respectivo CG. As coordenadas obtidas foram contrastadas por tecnologia e período para determinar a distância e direção das mudanças de CG. Foram utilizados os dados de produção de embriões dos anos de 2004, 2011 e 2016, e que correspondem aos ciclos de crescimento da produção de embriões em raças de corte e leite, respectivamente (VIANA et al., Anim Reprod 14:476-481, 2017). Em 2004 o centro de gravidade da TE localizava-se no Triângulo Mineiro. No período 2004-2011, este CG deslocou-se 370,4 Km N, para o estado de Goiás. Este comportamento foi determinado principalmente pelo CG da raça Nelore, que se deslocou 450,8km N entre 2004 e 2011. No ciclo seguinte, o CG da TE retornou distância equivalente (380,5 Km) em direção a MG, ficando a apenas 15,5 Km da

posição original em 2016, porém neste período o total de embriões de TE em raças zebuínas caiu 91,9%. Na raça Gir, por outro lado, o CG deslocou-se em sentido NE e posteriormente L, estando em 2016 a 473,1Km da posição original, ainda que permanecendo no estado de MG. Ao contrário da TE, o CG da PIV, deslocou-se apenas 76,9 km S e 63,1Km NO nos dois períodos, respectivamente, oscilando no eixo Triângulo Mineiro – Sul de Goiás. Tanto na raça Gir quanto na Nelore, a variação no CG da PIV ficou circunscrito a um raio de 50 Km, com centros na região de Uberaba e na divisa de MG com GO, respectivamente. A menor influência dos ciclos de produção no CG da PIV possivelmente está associada a maior dependência de estrutura física de laboratórios, ainda concentrada na região Sudeste. Por outro lado, o uso da PIV como técnica de eleição para a produção de embriões em raças zebuínas deslocou o mercado da TE para áreas marginais. Os resultados preliminares indicam que o uso do conceito de CG pode auxiliar na interpretação das tendências e construção de cenários no mercado de embriões bovinos. Agradecimentos: Fapemig, FAPDF, Embrapa Projeto 01.13.06.01.002, PIBIC-CNPq.

Viabilidade de embriões bovinos produzidos *in vitro* mantidos a 36°C por seis, nove e doze horas em meio de manutenção

Karen Martins Leão ¹, Thaisa Campos Marques ¹, Mariana da Mata Silveira ¹, Viler Carrijo Oliveira ¹, Nivaldo Ribeiro de Almeida Neto ¹, Leidiane Gonçalves Fernandes ¹, Angélica Cabral Oliveira ¹, Cleber Alves de Souza ¹, Kelly Rocha Rodrigues ¹, Fernando Lima da Silva ¹, Flávia Andressa da Silva Quiste ¹, Amanda Carrilho Lopes de Castro ¹

¹ IF GOIANO - Campus Rio Verde - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano - Campus Rio Verde (Rodovia Sul Goiana km 01)

Embriões produzidos *in vitro* são mais sensíveis que os produzidos *in vivo* e o tempo gasto do envase até a inovulação, pode interferir diretamente na viabilidade dos embriões. Objetivou-se avaliar o desenvolvimento de embriões bovinos produzidos *in vitro*, mantidos a 36°C em meio de transporte por seis, nove e doze horas. Os oócitos foram obtidos de folículos de 3 a 8 mm, de ovários de abatedouro. Oócitos com qualidade grau I e II foram alocados em gotas de meio de maturação (Meio TCM 199 com sais de Earl's, 75µg/mL amicacina, 4mg/mL BSA, 1µg/mL L-glutamina e 0,01UI/mL FSHr) e incubados em estufa a 38,5°C em atmosfera de 5% de CO₂. Após 24 horas realizou-se a fertilização *in vitro* (FIV), e o cultivo (Meio SOFaa 44, com 2,7mM mio-inositol, 0,2mM piruvato, 2,5% soro fetal bovino (v/v), 5mg/mL BSA-livre de ácido graxo e 75ug/mL amicacina) foi realizado 24 horas após a FIV. No sétimo dia após a FIV, os embriões grau I e II em estágio de blastocisto e blastocisto expandido foram envasados com meio de manutenção (SOF, tamponado com Hepes, com 2,7mM mio-inositol, 0,2mM piruvato, 2.5% de soro fetal bovino (v/v), 5mg/mL BSA, 75µg/ml amicacina) e mantidos a 36°C em transportadora de embriões (TREGO, WTA, Cravinhos-SP). Os embriões foram distribuídos aleatoriamente e desensados em três momentos, seis (n=33; TRA6), nove (n=38; TRA9) e doze (n=40; TRA12) horas após envase. Transcorrido o tempo conforme o tratamento, os embriões foram desensados e recultivados em gotas de meio CIV por 24 horas a 38,5°C em atmosfera de 5% de CO₂. Logo após o desensase e após 24 horas de recultivo avaliou-se o percentual de embriões que mantiveram o estágio de desenvolvimento, que desenvolveram e degeneraram em cada

tratamento. Os percentuais foram obtidos sobre o total de embriões envasados. Os dados foram submetidos à análise estatística e comparados pelo Teste de Qui-Quadrado ($P \leq 0,05$) utilizando programa R versão 3.5.0. No desenvase o percentual de embriões que mantiveram seu estágio de desenvolvimento foi menor no TRA12 (52,5%^b) do que no TRA6 (81,81%^a) e TRA9 (73,68%^a). O inverso foi encontrado no percentual de embriões que desenvolveram seu estágio enquanto envasados, sendo maior em TRA12 (47,5%^a) do que em TRA6 (18,18%^b) e TRA9 (23,68%^b). Nos TRAT6 e TRA12 não houve degeneração embrionária e no TRA9 o percentual de degenerados foi de 2,6% durante o período de envase, não existindo diferença entre os grupos. Após 24 horas de recultivo não foi observada diferença entre os tratamentos no percentual de embriões que mantiveram o estágio de desenvolvimento (TRA6–15,2%^a; TRA9–15,8%^a; TRA12–22,5%^a), no percentual de embriões que desenvolveram (TRA6–81,8%^a; TRA9–78,9%^a; TRA12–77,5%^a) e no percentual de embriões que degeneraram (TRA6–3,0%^a; TRA9–5,3%^a; TRA12–2,5%^a). Conclui-se que os embriões bovinos produzidos *in vitro* podem ser mantidos a 36°C em meio de manutenção por até 12 horas, sem aumento no percentual de degeneração e prejuízo no desenvolvimento embrionário.

A técnica de coleta e o estágio do ciclo estral afetam a recuperação de oócitos de boa qualidade em felinos domésticos

Joanna M. G. Souza Fabjan¹, Rodrigo O. Cunha², Viviane L Brair^{2,1}, Isabela Regis², Paulo C. Rangel², Maria Clara C. Morais¹, Nathalia O. Barbosa¹, D'Angelo C. Magliano¹, Ribrio I. T. P. Batista^{3,1}

¹ UFF - Universidade Federal Fluminense (Rua Vital Brasil, 64, Niteroi, RJ), ² Unigranrio - Universidade do Grande Rio (Rua Prof. José Herdy de Souza, 1160, Duque de Caxias), ³ UFVJM - Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (Rodovia MGT 367 Km 583, nº 5000)

O uso de biotecnologias como a FIV e a clonagem dependem da obtenção da quantidade e qualidade de oócitos. Já foi demonstrado em algumas espécies que diferentes métodos de coleta podem influenciar esses parâmetros. Sendo assim, este estudo objetivou avaliar o efeito de duas técnicas de coleta e do estágio do ciclo estral na quantidade e qualidade dos oócitos recuperados de felinos domésticos. O estudo foi conduzido no Hospital Veterinário – UNIGRANRIO, em Duque de Caxias/RJ. Após ovariosalpingohisterectomia eletiva, foram utilizados 43 pares de ovários de gatas, que foram mantidos em PBS por no máximo 4 h e avaliados de acordo com a fase do ciclo estral, em: folicular, luteal ou inativo (Uchikura, et al. J. Vet. Med. Sci, 73:561-566, 2011). Foram realizadas duas técnicas de recuperação de oócitos (PUN: punção e FAT: fatiamento), divididos em três grupos, sendo PUN: os oócitos foram recuperados por punção dos folículos com agulha 21G; PUN+FAT: oócitos recuperados a partir do fatiamento do ovário previamente puncionado no grupo PUN; ou FAT: oócitos recuperados a partir do fatiamento dos ovários. Os oócitos foram quantificados e classificados em Grau I, II, III e IV (Wood e Wildt, J. Reprod. Fertil., 110:355-360, 1997). As variáveis paramétricas foram analisadas pela ANOVA, seguida do teste de Tukey, enquanto as variáveis não paramétricas pelo Teste do qui-quadrado ($P < 0,05$). Foi obtido um total de 974 oócitos (~23 oócitos/animal). Na fase folicular foram

recuperados 476 oócitos, a técnica de PUN+FAT (177/476) e FAT (244/476) recuperaram número semelhante ($P>0,05$) de oócitos entre si e maior quantidade ($P<0,05$) de oócitos do que PUN (55/476). Com relação ao estágio do ciclo estral, 46,5% dos animais/ovários estavam na fase folicular, 21,0% em luteal e 32,5% inativos. Não houve diferença ($P>0,05$) na quantidade de oócitos recuperados. Em relação à qualidade, a fase inativa mostrou-se semelhante à folicular ($P>0,05$) e superior à luteal ($P<0,05$) no número de oócitos de boa qualidade (Grau I e II), enquanto as fases folicular e luteal foram similares ($P>0,05$). Em conclusão, a técnica de fatiamento recupera maior quantidade de oócitos, não influenciando em sua qualidade e as fases inativa e folicular recuperam oócitos de maior qualidade em gatas. Portanto, para otimizar o uso das biotecnologias, deve-se levar em consideração o estágio do ciclo estral e a técnica de coleta utilizada.

Efeito da morfologia dos ccos sobre a produção *in vitro* de embriões bovinos

Matheus Felipe Da Silva ³, Regimar Nogueira Arrabal ², Guilherme Augusto Lemos ¹, Izabela Cristina Lemos ⁴, Luiz Francisco Machado Pfeifer ⁵, Daniela Cristina Lemos De Carvalho ^{1,2}

¹ *Múltipla Embriões - Múltipla Embriões Ltda. (Ji-Paraná - RO)*, ² *CEULJI-ULBRA - Centro Universitário Luterano de Ji-Paraná - Universidade Luterana do Brasil (Ji-Paraná - RO)*, ³ *UNESP - Universidade Estadual Paulista (Botucatu - SP)*, ⁴ *UNIR - Universidade Federal de Rondônia (Porto Velho - RO)*, ⁵ *Embrapa Rondônia - Embrapa Rondônia (Porto Velho - RO)*

O potencial de produção embrionária pode ser estimado pela morfologia do complexo *cumulus*-oócito (CCO) na produção *in vitro* de embriões (PIVE) bovinos. Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da qualidade de CCOs (através da avaliação da morfologia do CCO) na eficiência na PIVE. Os dados deste estudo foram adquiridos no laboratório comercial de PIVE – MÚLTIPLA EMBRIÕES LTDA (Ji-Paraná – Rondônia – Brasil), entre março de 2015 a outubro de 2016. Os CCOs, obtidos por meio da aspiração de ovários provenientes de frigorífico, foram classificados de acordo com a sua morfologia em grau I: mais de três camadas de células do *cumulus* compactas, oócito com ooplasma homogêneo, preenchendo todo o interior da zona pelúcida; e grau II: quando possuíam três ou menos camadas de células do *cumulus*, e/ou células do *cumulus* com pequena expansão, e/ou ooplasma com leve granulação. Os CCOs grau III (oócitos sem células do *cumulus*, e/ou células do *cumulus* com expansão, e/ou ooplasma com granulação, e/ou ooplasma regredido com espaço entre a membrana celular e zona pelúcida) não foram aproveitados nos testes laboratoriais. Após a classificação, um total de 1.219 CCOs foram submetidos à maturação *in vitro* (MIV), seguida da fecundação *in vitro* (FIV) e posteriormente ao cultivo *in vitro* (CIV), a 38,8°C, 5% de CO₂ e alta umidade. A taxa de clivagem dos oócitos fecundados foi avaliada no terceiro dia do desenvolvimento embrionário. Apenas aqueles embriões com um mínimo de quatro células que não apresentavam características de degeneração foram considerados clivados. No sétimo dia de cultivo foi verificada a quantidade de embriões produzidos (blastocistos), classificados de acordo com a IETS (International Embryo Technology Society), e avaliada a taxa de embriões em relação à quantidade de CCOs submetidos à PIVE. A análise estatística foi realizada através do programa estatístico SAS (1998). As taxas de clivagem e de desenvolvimento embrionário foram analisadas pelo teste do

Qui-quadrado, considerando um nível de significância $P < 0,05$. Foram utilizados dados de 13 procedimentos com um total de 1.219 CCOs submetidos à PIVE. Desses, 554 CCOs foram considerados como grau I, e 665 CCOs como grau II. Os CCOs grau I obtiveram 58,12% (322/554) de taxa de clivagem enquanto os CCOs de grau II tiveram 62,86% (418/665) ($P = 0,09$). A taxa de blastocistos para os CCOs de grau I foi de 38,81% (215/554) e para os de grau II foi de 43,16% (287/665) ($P = 0,12$). Os CCOs de grau II tenderam a ter maior taxa de clivagem do que os CCOs de grau I. Não houve diferença na taxa de blastocistos entre as duas classes estudadas, contudo, pesquisas mais detalhadas, quanto aos aspectos dos CCOs que interferem no sucesso da PIVE, devem ser investigadas.

Agradecimento: PIBIC/CNPq.

Teste de transposição cervical no estro como ferramenta para selecionar ovelhas para coleta transcervical de embriões

Juliana Dantas Rodrigues Santos¹, Eduardo Kenji Nunes Arashiro¹, Mário Felipe Alvarez Balaro¹, Joanna Maria Gonçalves de Souza-Fabjan¹, Pedro Henrique Nicolau Pinto¹, Clara Vieira de Souza¹, Vivian Angélico Pereira Alfradique¹, Ana Luiza Cunha Bade¹, Jeferson Ferreira da Fonseca², Felipe Zandonadi Brandão¹

¹ UFF - Universidade Federal Fluminense (Rua Vital Brazil, nº 64, Santa Rosa, Niterói, Rio de Janeiro, Brasil), ² Embrapa Caprinos e Ovinos - Embrapa Caprinos e Ovinos (Fazenda Três Lagoas, estrada Sobral/Groaíras, km 04, CP. 145, Sobral, Ceará, Brasil)

A aplicação de programas de múltipla ovulação e transferência de embriões (MOTE) em ovelhas é limitada pelas particularidades anatômicas da cérvix ovina, tornando o método de coleta de embriões não-cirúrgico (transcervical) mais difícil ou até impraticável. Portanto, a triagem da morfologia cervical antes da MOTE torna-se uma alternativa promissora. Assim, este estudo objetivou avaliar o método de transposição cervical no momento do estro como uma ferramenta para selecionar ovelhas hábeis a serem submetidas à coleta de embriões não-cirúrgica. Ovelhas adultas da raça Santa Inês foram superovuladas usando o protocolo do dia zero (Pinto et al., *Theriogenology*, 113:146-52, 2018) seguido por monta natural. O teste de transposição cervical foi realizado com o dilatador de Hegar no estro e no momento da coleta de embriões. Este último direcionou o tipo de coleta a ser realizada (não-cirúrgica ou cirúrgica). Antes de ambos os testes, as ovelhas foram sedadas com acetato de acepromazina (0,1 mg.kg⁻¹, Acepran, Vetnil, Louveira, Brasil) e diazepam i.v. (0,4 mg.kg⁻¹ Diazepam, Teuto, Anápolis, Brasil). O teste na coleta de embriões foi precedido por um protocolo hormonal de dilatação cervical com benzoato de estradiol i.v. (20 µg/mL; RIC-BE; Agener União, São Paulo, Brasil) e cloprostenol i.m. (0,12 mg; Estron; Agener União, São Paulo, Brasil) administrados 12 h antes da coleta de embriões, ocitocina i.v. (100 UI; Ocitocina Forte UCB, Centrovét, Goiânia, Brasil) administrada 15 min antes da coleta de embriões, e anestesia epidural com cetamina (2,0 mg.kg⁻¹; Cetamin; Syntec, São Paulo, Brasil). Um máximo de três tentativas foram realizadas para inserir o dilatador de Hegar através da cérvix. O resultado do teste foi considerado positivo quando o dilatador de Hegar foi inserido com sucesso através da cérvix em qualquer tentativa, caso contrário foi considerado negativo. Resultados do primeiro teste foram relacionados com os resultados do

segundo teste e foram classificados como: verdadeiro positivo (VP, animais com resultado positivo em ambos os testes), verdadeiro negativo (VN, animais com resultado negativo em ambos os testes) falso positivo (FP, animais com resultado positivo no primeiro, mas negativo no segundo teste) ou falso negativo (FN, animais com resultado negativo no primeiro, mas positivo no segundo teste). O teste de transposição cervical foi avaliado pelo cálculo da sensibilidade (SENS), especificidade (SPEC), valor preditivo positivo (VPP) e negativo (VPN), acurácia (Acc) e índice Kappa (κ). A SENS, SPEC, VPP, VPN, e Acc foram 85,7; 66,6; 85,7; 66,6 e 80,0%, respectivamente. A concordância entre ambos os testes foi moderada ($\kappa = 0.52$). A alta SENS e Acc verificados no estudo demonstraram que o teste de transposição cervical no estro usando o dilatador de Hegar tem potencial para ser incluído em programas de MOTE como estratégia de triagem para direcionar ovelhas para a coleta cirúrgica ou não-cirúrgica de embriões.

Ácido docosaexaenoico (DHA) no meio de maturação *in vitro* reduz o conteúdo lipídico de oócitos e embriões suínos

Verónica Hoyos Marulanda ¹, Karina Lemos Goularte ¹, Andrez Pastorello Bohn ¹, Paulo Roberto Antunes da Rosa ¹, William Borges Domingues ¹, Arnaldo Diniz Vieira ¹, Bernardo Garziera Gasperin ¹, Rafael Gianella Mondadori ¹, Thomaz Lucia Júnior ¹

¹ UFPEL - Universidade Federal de Pelotas (Capão do Leão - RS, 96160-000)

Resultados anteriores do nosso grupo de pesquisa revelaram que a adição de 50 μM de DHA ao meio de meio de maturação *in vitro* (MIV) aumentou as taxas de clivagem e blastocistos (Hoyos-Marulanda, et al., 2017. Anais XVII Congresso da Abraves 2017). Considerando que o DHA é capaz de reduzir o conteúdo lipídico em outros tipos celulares, esse experimento foi desenhado para avaliar o efeito desse ácido graxo poliinsaturado sobre o conteúdo lipídico de oócitos e embriões suínos. Foram coletados ovários de fêmeas suínas pre-púberes em abatedouro local, realizada a aspiração de folículos de 3-6 mm e, após seleção morfológica, os complexos cumulus-oócito (CCOs) foram maturados em meio suplementados com 50 μM de DHA previamente diluído em etanol, e um grupo controle com 10% de fluido folicular de fêmeas púberes. A MIV foi realizada a 38,5°C com 5% CO₂ em ar, por 44 h, com suplementação de gonadotrofinas apenas nas primeiras 22 h. Os CCOs foram coletados e desnudados após 22 e 44 h de MIV, sendo os demais ativados partenogeneticamente e cultivados até blastocisto. O conteúdo lipídico das estruturas (MIV 22 (n=195) e 44h (n=188) e Blastocistos D7(n=166)) foi determinada pelo nível de emissão de fluorescência obtida com a excitação do corante Nile Red. As imagens foram capturadas usando filtro G2A com 5,44 ms de exposição. As imagens foram analisadas pelo software Image J®, transformando a intensidade de fluorescência em escala logarítmica. A resposta foi comparada entre os tratamentos, dentro de cada categoria de estruturas, através da análise de variância com comparação de médias usando o teste de Fisher - LSD (Statistix®, 2013). Oócitos suínos maturados no meio MIV e suplementados com 50 μM de DHA apresentaram menor concentração de gotículas lipídicas após 22 h e 44 h (P<0,05) de maturação. A redução de conteúdo lipídico também se manteve em embriões no D7, oriundos dos CCOs maturados em meios com a presença de 50.0 μM de DHA (P<0,05). A suplementação de meio MIV com 50 μM de DHA reduziu o conteúdo lipídico de oócitos e blastocistos suínos,

podendo ser essa redução responsável pelo aumento nas taxas de clivagem e de produção de blastocisto observadas em experimentos anteriores. Mais estudos devem ser realizados para investigar os mecanismos envolvidos na ação do DHA durante a MIV de oócitos suínos, principalmente no que se refere ao metabolismo lipídico e formação de gotículas.

A adição do agonista seletivo do receptor ativado por proliferadores de peroxissoma delta (PPAR δ) L-165041 em embriões bovinos produzidos *in vitro* melhora a criotolerância?

Jesús Alfonso Sánchez Viafara ¹, Renata Maculan ¹, Gisvani Lopes de Vasconcelos, Pedro Henriques Lima ¹, Nadja Gomes Alves ¹, Marcos Brandão ², Roberti Martins Drumond ³, Raphael Nunes dos Santos ³, Thais Alves Rodrigues ³, Mateus Jose Sudano ⁴, José Camisão de Souza ¹, Marcelo Siqueira El Azzi ¹

¹ UFLA - Universidade Federal de Lavras (Câmpus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000 • Lavras/MG), ² EPAMIG - Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (Belo Horizonte, MG), ³ CENATTE - Cenatte Embriões (Pedro Leopoldo, MG), ⁴ UNIPAMPA - Universidade Federal do Pampa (Uruguaiana, RS)

Objetivos: Reduzir o índice apoptótico e incrementar a criotolerância com a adição de 1 μ M do L-165041 em embriões bovinos produzidos *in vitro*. Material e métodos: no dia 1 (D1), presumíveis zigotos foram cultivados com 1 μ M de L-165041 (agonista seletivo do PPAR δ , Sigma, St Louis, USA) n=608, e na ausência do agonista (grupo controle) n=609. A taxa de clivagem (%) foi avaliada no dia 2 (D2) e a produção de blastocistos no dia 7 (D7). Para o ensaio de TUNEL foram fixados embriões pré e pós vitrificação. Após a vitrificação, os embriões foram aquecidos e re-cultivados para avaliar a taxa de eclosão às 12h, 24h, 36h, 48h, 60h e 72h e foram congelados às 12h de re-cultivados embriões para espectrometria de massa (MALDI-MS). Realizou-se análises estatísticas de deviance considerando modelos lineares mistos generalizados, sendo o efeito do dia de coleta (bloco) considerado como aleatório. Para as variáveis referentes a contagens foi considerada a distribuição Poisson e função de ligação log. Nos casos de variáveis representadas por taxas, utilizou-se a distribuição binomial e função de ligação logit. Para analisar a criotolerância realizou-se uma análise de variância da taxa de eclosão para cada um dos tempos avaliados. Nos casos de significância do efeito dos tratamentos, aplicou-se o teste de Dunnett para comparar os tratamentos. Foram utilizados os modelos estatísticos multivariados e univariados para o análise de MALDI-MS. Todas as análises foram executadas utilizando o Proc GLIMMIX do software SAS (SAS Institute, Cary, NC, USA). Resultados: A taxa de clivagem e a produção de blastocistos não foram diferentes entre os grupos. O número de células por embrião não foi afetado ($P > 0,05$) pela adição de 1 μ M de L-165041 em blastocistos frescos. A taxa de apoptose total reduziu ($P < 0,05$) com a adição de 1 μ M de L-165041 em embriões pré e pós vitrificação (5,92% e 10,10% respectivamente) comparada com o grupo controle (9,62% e 18,56% respectivamente). A taxa de apoptose da massa celular interna (MCI) nos embriões pré e pós vitrificados (7,42% e 51,35%) reduziu comparado com o grupo controle (11,03% e 79,79%, respectivamente). A taxa da MCI dos embriões frescos no grupo L-165041 (61,95 %) aumentou comparada com o grupo controle (57,00%) ($P < 0,05$). O número de células por embrião em blastocistos desvitrificados aumentou

($P < 0,05$) e a taxa de apoptose reduziu ($P < 0,05$) com a adição de $1\mu\text{M}$ de L-165041. As taxas de eclosão às 48h, 60h e 72h após desvitrificação no grupo tratado com $1\mu\text{M}$ de L-165041 foram maiores ($P < 0,05$) comparado com o grupo controle. As fosfatidilcolina [PC protonada (34:2) + H]⁺ e [PC oxidado (36:1) + H]⁺ foram mais abundantes ($P < 0,05$) em embriões cultivados com L-165041, sendo considerados como biomarcadores positivos de criotolerância. Conclusões: a adição de $1\mu\text{M}$ de L-165041 no meio de cultivo diminuiu o índice apoptótico e aumentou a criotolerância.

Agradecimentos: CAPES, FAPEMIG, PPGCV/UFLA, CENATTE EMBRIÕES.

Taxa de gestação de embriões Senepol produzidos in vitro.

Adalgiza Pinto Neto ¹, João Paulo Jelonschek ¹, Braion Gabriel Becher ¹, Helton Aparecido Garcia Gregianini ², Jennifer T. Ferreira Gregianini ², Fernando R. Skonieski ³, Marcelo Falci Mota ¹, Antônio Carlos Pedroso ⁴, Antônio Campanha Martinez ¹

¹ UFFS - Universidade Federal Da Fronteira Sul (Campus Realeza - Paraná), ² IVA - In Vitro Acre (Rio Branco - AC), ³ UTFPR - Universidade Tecnologia Federal Do Paraná (Campus Dois Vizinhos - PR), ⁴ UEM - Universidade Estadual De Maringá (Campus Umuarama-PR)

A Raça Senepol se destaca na bovinocultura de corte brasileira pela capacidade de desenvolvimento, qualidade da carcaça, rusticidade e adaptação a condições adversas, principalmente de pastagens e clima. Associa-se a essas características, o uso de biotécnicas reprodutivas, como a PIVE, que contribui para a expressividade da raça no cenário atual. Objetivou-se com esse estudo avaliar a taxa de gestação de embriões Senepol PIV. Para isso, avaliou-se a taxa de gestação e os efeitos sobre a mesma da localização da fazenda (A: Amazonas e B: Rondônia), do ano (2016 e 2017), da época do ano (águas: dezembro a março e seca: abril a novembro), do técnico que realizou a TE (B e C), do estágio de desenvolvimento do embrião e do número de TE já realizada na receptora (uma, duas ou três-quatro). Os valores percentuais foram comparados pelo Qui quadrado, considerando 5% de significância, e processados pelo SAS. A taxa de gestação foi de 43,3% (469/1083), sendo semelhante nas diferentes localizações das fazendas (43,09% - 374/868 e 44,1% - 95/215, no Amazonas e Rondônia, respectivamente), nos anos de realização da TE (43,2% - 269/622 e 43,20% - 200/461, em 2016 e 2017, respectivamente), na época de realização da TE (42,7% - 313/733 e 44,6% - 156/350, para as épocas das águas e seca, respectivamente) e do técnico que realizou a TE (41,1% - 166/404 e 44,6% - 303/679, para os técnicos B e C, respectivamente), todos considerando $P > 0,05$. No entanto, observou-se taxa de gestação semelhante após TE na fase de blastocisto e blastocisto expandido ($P > 0,05$), e maior do que após TE na fase de mórula ($P < 0,05$), sendo de 49,5% (284/574), 43% (71/165) e 28% (29/103), respectivamente. A TE em mórula e blastocisto inicial levaram a taxa de gestação semelhante ($P > 0,05$), bem como após TE de blastocisto inicial e blastocisto ($P > 0,05$), sendo de 28% (29/103), 35,3% (85/241) e 43% (71/165), respectivamente. Observou-se taxa de gestação superior ($P < 0,05$) quando a TE foi realizada em receptoras já utilizadas de três a quatro vezes para esse fim, que em receptoras utilizadas uma ou duas vezes, que apresentaram taxa de gestação semelhante ($P > 0,05$), sendo de 62,64% (57/91), 41,5% (297/715) e 41,5% (115/277), respectivamente. Nas condições desse

estudo, conclui-se que a taxa de gestação de embriões Senepol PIVE não sofreu influência da localização da fazenda, do ano da TE, da época de águas ou seca, e/ou do técnico. No entanto, a taxa de gestação foi maior quando a TE foi realizada com estádios mais avançados do desenvolvimento embrionário, para receptoras já utilizadas por três a quatro vezes.

Efeito antioxidante do óleo essencial de *Syzygium aromaticum* sobre a maturação nuclear *in vitro* de oócitos bovinos

Alexsandra Fernandes Pereira ¹, Maria Valéria de Oliveira Santos ¹, Lucas Emanuel Nascimento ¹, Érika Almeida Praxedes ¹, Alana Azevedo Borges ¹, Alexandre Rodrigues Silva ¹, Luciana Medeiros Bertini ²

¹ UFERSA - Universidade Federal Rural do Semi-Árido (Av. Francisco Mota, 572, Costa e Silva, 59.625-900, Mossoró-RN, Brasil), ² IFRN - Instituto Federal do Rio Grande do Norte (59700-000, Apodi, RN, Brasil)

A produção *in vitro* de embriões (PIV) bovinos apresenta uma eficiência variável e o estresse oxidativo é citado como uma das razões nesta variação. Nesse sentido, o uso de antioxidantes naturais durante o cultivo pode ser uma alternativa para minimizar os efeitos desse fenômeno. Portanto, o objetivo foi avaliar o efeito antioxidante do óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (OESA) sobre as taxas de maturação nuclear *in vitro* (MIV) de oócitos bovinos. O OESA possui como principal constituinte o eugenol. Para tanto, oócitos derivados de ovários de fêmeas abatidas em abatedouro e classificados com mais de uma camada de células do *cumulus* e citoplasma homogêneo foram maturados *in vitro* em TCM199 contendo 20 µg/mL de FSH/LH, 10% de soro fetal bovino, 1% de antibióticos e com os antioxidantes, de acordo com os cinco grupos: OESA0 (ausência de OESA), OESA10 (10 µg/mL de OESA), OESA15 (15 µg/mL de OESA), OESA20 (20 µg/mL de OESA) e CIS (100 µM de cisteamina). A diluição de OESA foi realizada with DMSO a 0,25% em meio MIV. Após 24 h de MIV (38,5°C e 5% CO₂), oócitos desnudos foram avaliados quanto à maturação de acordo com a presença do primeiro corpúsculo polar e quanto ao efeito antioxidante do óleo e cisteamina pela marcação com H₂DCFDA (10 µM) e MitoTracker Red (500 nM) para quantificação em unidades de fluorescência arbitrária dos níveis de espécies reativas de oxigênio (ERO) e potencial de membrana mitocondrial ($\Delta\Psi_m$), respectivamente. Em seguida, oócitos maturados foram visualizados em microscópio de fluorescência e imagens foram analisadas usando o software ImageJ. Os dados foram expressos como média±erro padrão, sendo as taxas de maturação nuclear e os níveis de ERO e $\Delta\Psi_m$ analisados pelo teste do chi-quadrado e ANOVA seguido de teste de Tukey, respectivamente (P<0,05). Após doze repetições, nenhuma diferença foi observada quanto à taxa de MIV [OESA0: 69,1%±3,4 (114/165), OESA10: 74,7%±4,7 (124/166), OESA15: 66,2%±3,8 (102/154), OESA20: 66,9%±5,4 (105/157) e CIS: 66,1%±4,3 (109/165)]. Além disso, embora uma redução numérica possa ser observada em todos os grupos que continham o óleo ou a cisteamina, nenhuma diferença foi observada quanto aos níveis de ERO (OESA0: 1,00±0,14, OESA10: 0,89±0,08, OESA15: 0,74±0,07, OESA20: 0,86±0,09 e CIS: 0,76±0,04). Contudo, quanto à avaliação do $\Delta\Psi_m$, oócitos derivados dos grupos OESA15 (0,73±0,01; P=0,004), OESA20 [0,72±0,03; P=0,001] e CIS [0,80±0,06; P=0,04] apresentaram $\Delta\Psi_m$ significativamente

menor quando comparado ao grupo OESA0 ($1,00 \pm 0,04$). Adicionalmente, oócitos do grupo OESA20 apresentaram $\Delta\Psi_m$ significativamente menor quando comparado ao grupo OESA10 ($0,94 \pm 0,00$; $P=0,02$). Assim, sugere-se que a redução de $\Delta\Psi_m$ em oócitos maturados na presença de OESA15 e OESA20 pode reduzir os níveis de ERO. Portanto, pode-se indicar que o OESA nas concentrações de 15 e 20 $\mu\text{g/mL}$ promoveu uma redução de $\Delta\Psi_m$ similar ao efeito promovido pela cisteamina em oócitos maturados, podendo o OESA ser usado durante a PIV em bovinos.

Produção de embriões bovinos a partir de ovócitos maturados *in vivo* pela transferência intrafolicular de ovócitos imaturos (TIFOI)

Luzia Renata Oliveira Dias ¹, Venâncio Augusto Oliveira Silva ², Otávio Augusto Costa de Faria ¹, Felipe Manoel Costa Caixeta ¹, José Felipe Warmling Sprícigo ³, Margot Alves Nunes Dode ⁴

¹ UnB - Universidade de Brasília (Brasília, DF - Brasil), ² ICESP - Faculdades Icesp (Brasília, DF - Brasil), ³ University of Guelph - Department of Animal Bioscience, University of Guelph (Guelph, ON, Canadá), ⁴ Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia - Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (Brasília, DF - Brasil)

A transferência intrafolicular de ovócitos imaturos (TIFOI) proporciona uma condição ambiental totalmente *in vivo*, podendo ser uma boa alternativa para a produção de embriões. Entretanto, vários aspectos relativos à técnica ainda precisam ser estabelecidos. Objetivou-se avaliar se o tempo em que os ovócitos permanecem no folículo após a TIFOI é o suficiente para maturarem, serem fecundados e se desenvolverem em embriões. Vacas ovuladoras foram submetidas a um protocolo padrão de sincronização do estro, utilizando implante vaginal de progesterona benzoato de estradiol e prostaglandina F2 α . A retirada do implante foi realizado no D8 e 52 horas após, os animais com folículo dominante maior que 10 mm receberam a injeção dos ovócitos imaturos. Foram utilizados 1297 ovócitos obtidos de ovários de abatedouro, 609 para TIFOI e o restante para o controle. No grupo controle os ovócitos foram colocados na MIV sendo a FIV realizada as 12, 16 e 22h. Para TIFOI foram transferidos de 30 a 50 ovócitos por vaca ovuladora, que às 12h pós-injeção foram recuperados por *ovum pick up* (OPU). Os ovócitos recuperados foram distribuídos em três grupos, um foi submetido a FIV logo após a aspiração (12h após a TIFOI), e os demais foram colocados na MIV por mais 4 e 10h antes da FIV (16 e 22h após a TIFOI). Ovócitos e espermatozoides foram co-incubados por 12h e os possíveis zigotos foram transferidos para gotas de CIV, onde permaneceram até o dia 7 (D7). Os tratamentos e o número de ovócitos utilizados foram: controle 12h (n=223); controle 16h (229); controle 22h (n=236); TIFOI 12h (n=239); TIFOI 16h (n=185); TIFOI 22h (n=185). Foram avaliadas as taxas de clivagem (D2), de blastocisto (D6 e D7) e índice apoptótico em embriões D7 (Terminal deoxinucleotidil transferase dUTP nick end labeling [TUNEL]). Os dados de clivagem e taxa de blastocistos foram analisados pelo teste Chi-quadrado ($P<0,05$). Já o número total de células, índice apoptótico e razão entre os dois, foram analisadas por ANOVA e teste Tukey's ($P<0,05$). A taxa de blastocistos em D7 foi semelhante ($P>0,05$) entre os grupos controle (controle 12h= 35,4%; controle 16h= 36,7% e controle 22h= 40,7%), assim como entre os grupos TIFOI (TIFOI 12h= 18,8%; TIFOI 16h= 17,3% e TIFOI 22h= 21,6%). Sendo a taxa de

blastocistos em D7 maior ($P < 0,05$) nos grupos controle do que nos grupos TIFOI. Com relação ao número total de células não houve diferença ($P > 0,05$) entre todos os grupos avaliados. A porcentagem de células apoptóticas do grupo TIFOI 22h (4,1%) diferiu ($P < 0,05$) apenas dos grupos controle 12h (7,2%) e controle 16h (7,1%), e não diferiu dos demais ($P > 0,05$) (controle 22h= 6,3%; TIFOI 12h= 5,1%; TIFOI 16h= 6,3%). Apesar do desenvolvimento embrionário menor, observado nos grupos TIFOI, conclui-se que o tempo de 12 horas é suficiente para que o ovócito possa ser fecundado e que se desenvolva até blastocisto. Além disso, parece que esse tempo não é o principal obstáculo para a produção de embriões pela TIFOI.

Caracterização do padrão de expressão de genes envolvidos na atividade de PGE2 e PGF2 α em CCOs bovinos com diferentes graus de competência durante a maturação *in vitro*

Sarah de Andrade Dias Rodrigues¹, Thais Preisser Pontelo², Taynan Stonoga Kawamoto³,
Ligiane de Oliveira Leme¹, Gabriela de Oliveira Fernandes¹, Margot Alves Nunes Dode⁴

¹ UNB - Universidade de Brasília (Brasília, DF), ² UFLA - Universidade Federal de Lavras (Lavras, MG), ³ UFU - Universidade Federal de Uberlândia (Uberlândia, MG), ⁴ Embrapa - Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (Brasília, DF)

Durante o período de preparação do folículo para o rompimento e maturação do complexo-cumulus-ovócito (CCO) ocorre o aumento dos níveis de PGE2 e PGF2 α no fluido folicular de várias espécies, sugerindo que essas substâncias desempenham um papel importante nesse processo. Estudos têm relatado que ovócitos procedentes de grandes folículos tem maior capacidade de desenvolvimento do que ovócitos derivados de pequenos folículos, gerando uma melhor produção de embriões *in vitro*. O objetivo do presente estudo foi determinar o nível de transcritos para os genes envolvidos na atividade de PGE2 e PGF2 α e avaliar se o perfil de expressão varia durante a maturação de acordo com o nível de competência dos CCOs. Para isso, os ovários foram coletados em abatedouros locais e os CCOs obtidos de folículos dissecados de 1,0-2,9 mm (ovócitos incompetentes; INC) e 6,0-8,0 mm (ovócitos competentes; COM), e o grupo controle da aspiração folicular de folículos de 3-8 mm (CTL). O padrão de expressão da PTGS2 (síntese de PGE2 e PGF2 α), PTGES1 (síntase específica de PGE2) e AKR1B1 (síntase específica de PGF2 α) foi avaliado em células do *cumulus* (CCs) e PTGER2 (receptor específico de PGE2) e PTGFR (receptor específico de PGF2 α) em ovócitos de CCOs de diferentes categorias. Para cada um dos grupos (INC; COM ou CTL) foram armazenados quatro pools de CCs obtidos de 17 CCOs e três pools de 6 ovócitos que foram utilizados para a análise da expressão gênica por RT-qPCR, sendo os valores de expressão normalizados pelo gene constitutivo GAPDH para CCs e PPIA para ovócitos. Os dados foram analisados por análise de variância e teste de Tukey ou por Kruskal-Wallis e Mann-Whitney, se apresentaram distribuição normal ou não, respectivamente. Inicialmente, foram quantificados os níveis de transcritos dos genes nas CCs dos diferentes grupos antes e após a MIV, os resultados mostraram que após 24 horas de MIV a expressão de PTGES1 aumentou ($p < 0,05$) nos grupos INC e COM, e a de PTGS2 no grupo INC. Já em relação ao gene AKR1B1, a expressão diminuiu no grupo INC ($p < 0,05$). Quando a expressão dos genes foi comparada entre CCs dos diferentes grupos de CCOs no mesmo momento de maturação (0 ou 24 horas), o nível de transcritos de todos os genes

avaliados foram semelhantes entre os grupos ($P > 0,05$), tanto as 0 quanto as 24 horas de MIV. Com exceção do gene PTGS2, que apresentou menor expressão no grupo COM ($P < 0,05$) do que os grupos INC e CTL às 24 horas. Posteriormente, a expressão dos genes PTGER2 e PTGFR foi quantificada em ovócitos dos três grupos de CCOs, entretanto esses não foram detectados no ovócito. Com base nos resultados conclui-se que apesar dos receptores específicos de PGE2 e PGF2 α não serem expressos nos ovócitos, os genes relacionados à síntese dessas PGs são diferencialmente expressos durante a maturação, e o gene PTGS2 se mostrou um bom marcador da competência dos CCOs maduros.

Efeito do estágio de desenvolvimento embrionário sobre a taxa de concepção de embriões Nelore e Wagyu produzidos *in vitro*

Danieli Aparecida Bóbbio Moreski ¹, Josmar Mazucheli ², Caio Henrique De Oliveira Carniatto ¹, Ana Carolina Fanhani De Arruda Botelho ¹, Fábio Luiz Bim Cavalieri ¹, Francielli Gasparotto ¹, Isabele Picada Emanuelli ¹

¹ UniCesumar/ICETI - Centro Universitário de Maringá (Avenida Guedner 1610), ² UEM - Universidade Estadual de Maringá (Av. Colombo, 5790)

Entre as biotecnologias reprodutivas comerciais, a técnica de produção *in vitro* (PIV) é uma ferramenta importante para multiplicar material genético de mérito superior. A instabilidade no sucesso das transferências de embriões PIV ainda é um ponto a ser ajustado. Assim, o objetivo foi avaliar o efeito do estágio de desenvolvimento embrionário sobre a taxa de concepção (TC) de embriões *in vitro* nas raças Nelore e Wagyu. Foi realizado um estudo retrospectivo de dados da PIV (junho/17 a abril/18) de embriões puros das raças Nelore (*Bos indicus*) e Wagyu (*Bos taurus*), já as receptoras foram mestiças. Avaliaram-se os resultados de 1632 transferências de embriões (677 Nelore e 952 Wagyu). A PIV foi realizada no laboratório pelos processos de maturação (22-24h) dos oócitos viáveis (TCM 199, 10% SFB, FSH 0,1 μ g/mL e LH 50 μ g/mL); fecundação *in vitro* em meio TALP-FIV (22-24h) com 1x10⁶ espermatozoides/mL com touros puros Nelore ou Wagyu, cada um para fecundar os oócitos da raça correspondente. O cultivo em meio SOF (10% de SFB e 5mg/ml BSA) a 38,3°C, umidade máxima (5% O₂, 5% CO₂ e 90% N₂). No dia 7 os embriões viáveis foram classificados quanto aos estágios de desenvolvimento: blastocisto inicial (Bi), blastocisto (Bl) e blastocisto expandido (Bx); sendo que todos os embriões viáveis destes estágios foram inovulados nas receptoras. Após 30 dias da fecundação realizou-se o diagnóstico de gestação para determinar a taxa de concepção. O teste qui-quadrado foi aplicado em cada raça para avaliar a homogeneidade das proporções de Bi, Bl e Bx, e também entre as raças. A TC total foi similar em Nelore 36,63% (248/677) e em Wagyu 33,93% (323/952). Na avaliação do estágio embrionário as TC em Nelore foram todas distintas - Bi: 17,44% (15/86); Bl: 34,55% (114/330); Bx: 45,59% (119/261). Nos embriões Wagyu as TC também diferiram quanto aos estágios Bi: 13,54% (26/192); Bl: 34,68% (155/447) e Bx: 45,37% (142/313). A comparação entre as raças não rejeitou a hipótese de taxas diferentes de concepção (valor-p = 0.1991), indicando que a raça Wagyu segue o mesmo padrão de sucesso de concepção de embriões produzidos *in vitro* que a raça Nelore. Em suma, nas análises estatísticas dos estágios embrionários para ambas as raças rejeita-se a hipótese de homogeneidade (valor-

P<0.001), indicando que houve diferença significativa entre os estágios embrionários em ambas as raças. Sendo assim, a chance de gestação é 1,9 vezes maior em embrião no estágio de blastocisto, chegando a 2,5 vezes maior em embriões no estágio de blastocisto expandido, quando comparado com os blastocistos iniciais. Portanto, para se obter uma regularidade nas TC de um programa de PIV, o ideal seria priorizar nas transferências os embriões em estágios de blastocistos mais avançados, BI e Bx. Esse critério reduz as perdas gestacionais iniciais nas receptoras aumentando a eficiência e a sustentabilidade da produção.

Taxa de blastocistos e prenhez na PIVE de bovinos em relação a raça, idade e status fisiológico das doadoras

Natali Freire Zanenga Chacha ¹, Carlos Alberto Zanenga ¹, Katarine Rezende Coelho ¹, Daniely Coelho De Menezes ¹, Merlison Figueiredo Pedroso ¹, Geraldo Furtado Lima ¹, Fábio Brum Albuquerque ¹, Thaís Alves Rodrigues ², Maria Clara Caldas Bussiere ³, Celia Raquel Quirino ³, Wilder Hernando Ortiz Vega ³

¹ EMBRIZA - Embriza Biotecnologia (R. Alberto Simões Pires, 100 - Parque Res. Rita Vieira, Campo Grande - MS, 79052-060), ² CENATTE - Cenatte Embriões (Rua Dr. Rocha, 1429 Pedro Leopoldo - MG CEP: 33600-000), ³ LRMGA/CCTA/UENF - Laboratório De Reprodução E Melhoramento Genético Animal / Centro De Ciências E Tecnologias Agropecuárias / Universidade Estadual Do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (Av. Alberto Lamego, 2000 - Parque California, Campos dos Goytacazes - RJ, 28013-602)

O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da raça, *status* fisiológico e faixa etária em doadoras de oócitos nas taxas de produção de blastocistos (TxBl) e de prenhez (TxP) após transferência de embriões (TE). Foram avaliadas doadoras das raças Nelore (NE) (n=114), Gir (GI) (n= 116), Girolando (GO) (n= 61) e Senepol (SE) (n= 82) com diferentes *status* fisiológico (novilha, vaca não lactante, vaca em lactação até 100d, vaca em lactação de 101-205d e vaca em lactação acima de 205d) e com faixas etárias de 0-12 meses, 13 a 24 meses, 25-36 meses e 3-8 anos e acima de 8 anos. As taxas de blastocistos foram avaliadas 168 horas pós-inseminação, sendo os procedimentos de PIVE realizados no laboratório Embriza (Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil), com os meios produzidos pelo laboratório Cenatte Embriões (Pedro Leopoldo, Minas Gerais, Brasil). Um total de 1274 TE foram realizadas no período de março a agosto de 2017. A TxP foi confirmada por ultrassonografia 45 dias após a transferência. Os efeitos da raça, *status* fisiológico e faixa etária para TxBl e TxP foram testados por meio da análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste SNK (P<0,05). O efeito das interações entre raças e *status* fisiológico não apresentou diferenças entre as raças NE, GI e GO e sim entre estas e SE. Foi verificado efeito de raça e do *status* fisiológico na TxBl e TxP (P<0,05). Não houve efeito da faixa etária nas características TxBl e TxP. As médias para TxBl e TxP obtidas nas raças NE (36,8±26,7 e 49,8±32,2), GI (34,2±28,1 e 55,6±35,5) e GO (32,0±27,3 e 38,05±27,8) respectivamente, foram superiores às obtidas na raça SE (25,1±24,4 e 34,4±33,8). Em relação ao *status* fisiológico, as vacas não lactantes e em lactação até 100d apresentaram médias superiores de TxBl (40,7±28,4 e 37,2±25,5, respectivamente) e as médias para novilha, vaca em lactação de 101-205d e vaca em lactação acima de 205d foram inferiores (25,5±25,1,

28,2±24,5 e 23,6±27,8, respectivamente). Para TxP segundo o *status* fisiológico, os resultados mostraram-se superiores em vacas em lactação acima de 205d (55,6±33,1), enquanto que as novilhas obtiveram a menor média (32,9±32,7). As outras categorias apresentaram valores intermediários e não diferiram entre si. Confirma-se o desempenho inferior das vacas doadoras de oócitos da raça SE (*Bos taurus taurus*) em comparação com às raças zebuínas (*Bos indicus*) (NE e GI) ou *Bos taurus indicus* (GO) em relação às características TxBl e TxP em programas de PIVE. Devido ao melhor desempenho das doadoras não lactantes ou em lactação inicial (até 100d) para a TxBl, indica-se estes *status* fisiológicos com o intuito de melhorar esta característica em programas de PIVE. Mais estudos são necessários para confirmar o uso de vacas em lactação acima de 205d como doadoras para a obtenção de taxas de prenhez superiores após TE.

Efeito da melatonina no meio de manutenção sobre o desenvolvimento de embriões bovinos produzidos *in vitro*

Thaís Campos Marques ¹, Mariana da Mata Silveira ¹, Viler Carrijo Oliveira ¹, Nivaldo Ribeiro de Almeida Neto ¹, Karen Martins Leão ¹, Leidiane Gonçalves Fernandes ¹, Angélica Cabral Oliveira ¹, Cleber Alves de Souza ¹, Liliane Cândida de Souza ¹, Kelly Rocha Rodrigues ^{1,1}, Amanda Carrilho Lopes de Castro ¹, Fernando Lima da Silva ¹

¹ IF GOIANO - Campus Rio Verde - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano - Campus Rio Verde (Rodovia Sul Goiana km 01)

O transporte de embriões produzidos *in vitro* até o momento da inováção deve ocorrer em meio de manutenção que permita seu desenvolvimento e em menor período possível no intuito de evitar o estresse oxidativo. Avaliou-se o desenvolvimento de embriões bovinos produzidos *in vitro*, mantidos a 36°C em meio de manutenção adicionado de melatonina a 10⁻⁹ M por seis, nove e doze horas após o envase, ocorrido no sétimo dia pós-fertilização. Ovócitos de qualidade grau I e II, provenientes de ovários de abatedouro, foram maturados, fertilizados e cultivados *in vitro* em estufa a 38,5°C em atmosfera de 5% de CO₂. Embriões grau I e II em estágio de blastocisto (Bl) e blastocisto expandido (Bx), produzidos em tréplica, foram envasados com meio de manutenção HSO_Faa (SOF, tamponado com Hepes e suplementado com 2.7 mM myo-inositol, 0.2 mM piruvato, 2.5% de soro fetal bovino (v/v), 5 mg/mL BSA, 75 µg/ml amicacina) adicionado de melatonina a 10⁻⁹ M. Os embriões foram distribuídos aleatoriamente nos tratamentos, desenvasados e avaliados às seis (n=37; H6), nove (n=43; H9) e doze (n=49; H12) horas após envase. Logo em seguida, de acordo com cada tratamento, foram recultivados por 24 horas a 38,5°C em atmosfera de 5% de CO₂. Nova avaliação foi realizada após 24 horas de recultivo. Analisou-se o percentual de embriões quanto ao estágio de desenvolvimento: não evoluíram (NEV), evoluíram (EV) e degeneraram (DEG). Os dados foram submetidos à análise estatística e comparados pelo Teste de Qui-Quadrado (P≤0,05) utilizando programa R versão 3.5.0. Não houve diferença entre os tratamentos no desenvase: NEV (H6 – 62,2%; H9 – 62,8%; H12 – 73,5%), EV (H6 – 35,1%; H9 – 37,2%; H12 – 26,5%) e DEG (H6 – 2,7%; H9 – 0,0%; H12 – 0,0%). O mesmo comportamento foi observado após 24 horas de recultivo pós-desenvase: NEV (H6 – 13,5%; H9 – 23,3%; H12 – 30,6%), EV (H6 – 75,7%; H9 – 74,4%; H12 – 65,3%) e

DEG (H6 – 10,8%; H9 – 2,3%; H12 – 4,1%). Entretanto, verificou-se que embriões transportados com melatonina a 10^{-9} M adicionada ao meio de manutenção por apenas seis horas apresentam um aumento numérico do percentual de degenerados. Desta forma, sugere-se que o transporte de embriões bovinos produzidos *in vitro* por até 6 horas não necessita de meio de manutenção suplementado de melatonina a 10^{-9} M.

Eficiência da produção e qualidade de embriões bovinos produzidos *in vitro* na ausência de soro fetal bovino

Janine de Camargo¹, Rafaela Rodrigues³, Jeferson Bueno Fripp¹, Diego Borba Muller ,
Alessandra Aparecida Vireque⁵, Katia Roberta Anacleto Belaz², Andrea Cristina Basso³,
Christina Ramirez Ferreira⁴, Marcos Nogueira Eberlin², Mateus José Sudano¹

¹ UNIPAMPA - Universidade Federal do Pampa (Uruguaiana, RS), ² Lab ThomSon - Unicamp - Universidade Estadual de Campinas (Campinas-SP), ³ IVB - In Vitro Brasil (Mogi Mirim-SP),
⁴ Purdue University - Purdue University (Indiana - EUA), ⁵ Invitra - Invitra (Ribeirão Preto, SP)

Uma maior expansão comercial da produção *in vitro* de embriões, em algumas situações, pode ser limitada por barreiras sanitárias, reduzida criotolerância e falta de homogeneidade dos resultados obtidos devido à suplementação do meio de cultivo com soro fetal bovino (SFB). O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência da produção *in vitro* de embriões na ausência de SFB. Experimento 1: oócitos (n=2368) recuperados de ovários de abatedouros foram maturados e fertilizados (D0) *in vitro*. Os possíveis zigotos foram cultivados e distribuídos aleatoriamente em três grupos: Controle (C; SOFaaci + 0,5% BSA + 2,5% de SFB); Meio A (MA; SOFaaci livre de SFB + 0,5% BSA + suplemento A); e Meio B (MB; SOFaaci livre de SFB + 0,5% BSA + suplemento B). As taxas de clivagem e produção de blastocistos foram avaliadas nos dias 2 e 7, respectivamente. Blastocistos expandidos grau I foram vitrificados (n=576) pelo método cryotop (Sanches et al., 2013). Doze horas após o aquecimento (cultivados no meio Controle), os embriões foram avaliados quanto à viabilidade. Blastocistos expandidos foram coletados aleatoriamente e submetidos à técnica de TUNEL (n=12-15), coloração de Preto Sudão (n=12-15) e MALDI-MS (n=20; nesta avaliação foi incluído um grupo de embriões produzidos *in vivo* - EV, como padrão ouro). Experimento 2: um total de 6994 blastocistos PIV foram transferidos a fresco (C: n=3618; MB: n=3376) para receptoras seguido de diagnóstico ultrassonográfico após 30 dias. Para análise estatística, modelos uni e multivariado de dados foram utilizados. A remoção do SFB aumentou (P<0,05) as taxas de clivagem dos grupos MA (77,3%) e MB (76,1%) comparados ao C (70,7%). Contudo na produção de embriões por oócitos e clivados, respectivamente, o grupo MB (32,7% e 42,9%) foi superior (P<0,05) ao grupo MA (27,7% e 35,8%) e não diferiu (P>0,05) do C (31,0% e 43,9%). O conteúdo lipídico embrionário foi similar (P>0,05) entre os grupos. Na análise do perfil lipídico foi constatada uma grande similaridade entre os grupos EV e MB comparado aos demais. As taxas de embriões transferíveis após o aquecimento foram superiores (P<0,05) nos grupos MA [95,9% (162/169)] e MB [92,1% (187/203)] comparados ao C [85,8% (175/204)], assim como o número total de células dos blastocistos após a criopreservação foi maior (P<0,05) nos grupos MA (144,9±5,9) e MB (151,3±7,1) comparado ao C (121,4±6,1); contudo a incidência de apoptose não diferiu (P>0,05)

entre os grupos. A taxa de prenhez oriunda da transferência dos blastocistos frescos dos grupos MB e C foram semelhantes ($35,0 \pm 2,6$ vs. $28,3 \pm 2,9$, respectivamente; $P > 0,05$), validando a eficiência da formulação do meio livre de SFB. Dessa forma, o uso de meios de cultivo livres de SFB favoreceu o desenvolvimento embrionário, perfil lipídico, e a criotolerância, sem interferir na taxa de prenhez após transferência dos embriões, contribuindo portanto, para uma maior expansão comercial do uso dos embriões PIV no manejo reprodutivo de fazendas.

Infusão de células-tronco mesenquimais em ovários de cabras submetidas a múltiplas aspirações foliculares por laparoscopia

Felipe Pereira da Silva Barçante ¹, Yndyra Nayan Teixeira Carvalho Castelo Branco ¹, Ícaro Oliveira Torres de Souza ¹, Felipe de Jesus Moraes Júnior, Antônio de Sousa Júnior ¹, Maria Acelina Martins de Carvalho ¹, José Adalmir Torres de Souza ¹

¹ UFPI - Universidade Federal do Piauí (Campus Ministro Petrônio Portella, Centro de Ciências Agrárias, Campus SOCOPO, Teresina - PI, CEP 64049-550)

Problemas ligados à diminuição do potencial produtivo dos ovários estão entre os principais fatores limitantes à atividade reprodutiva das fêmeas domésticas. Objetivou-se com o presente trabalho avaliar o potencial regenerativo das células-tronco mesenquimais (CTMs) derivadas do cordão umbilical de caprinos, em ovários de cabras submetidas a múltiplas aspirações foliculares por laparoscopia (LOPU). Foram utilizadas sete cabras sem padrão racial definido (SPRD), não lactantes, com idade média de três anos e escore da condição corporal (ECC) variando de três a quatro. As cabras foram divididas em dois tratamentos: T1-CTR (controle – três animais); T2 - CTM (ovários tratados com células-tronco mesenquimais – quatro animais) e sincronizadas com o uso de esponjas intravaginais impregnadas com acetato de medroxiprogesterona - MGA (Progespon) e aplicações de d-cloprostenol (PGF 2α), enquanto a estimulação ovariana decorreu da administração IM de FSH (Folligon) e eCG (Novormon), em aplicações únicas, feitas 36 horas anterior às LOPU's. Todas fêmeas foram submetidas a cinco sessões de LOPU/animal, com intervalos de 12 dias, e a terapia celular através de infusão ovariana com células tronco mesenquimais (CTMs) originárias do cordão umbilical de caprinos, na concentração de 1×10^6 células por mL, nanomarcadas com Qtracker® e diluídas em 0,2 mL de NaCl a 0,9% em duas aplicações: na última LOPU e 70 dias após a mesma. A avaliação funcional ovariana e oocitária foi realizada 45 dias posterior à quinta LOPU. Biópsias aspirativas no córtex ovariano foram realizadas antes da primeira e após a quinta LOPU. A avaliação histológica de biópsias ovarianas foi realizada após 115 dias da primeira infusão de CTMs, a partir do abate dos animais e coleta dos ovários. As análises foram realizadas através do Programa *Statistical Analysis System* (SAS Institute Inc., 2002), não tendo ocorrido diferença significativa ($P > 0,05$) entre os folículos aspirados, oócitos recuperados e taxa de recuperação, em relação aos grupos controle (T1) e grupo de cabras tratadas com CTMs (T2). Quanto à qualidade dos complexos cúmulus oóforos (CCO's) também não ocorreu diferença significativa ($P < 0,05$) entre as classificações qualitativas das estruturas oocitárias nas diversas LOPU's. Sobre a histologia, as alterações quando observadas, foram bem discretas, restritas ao parênquima ovariano e sem comprometimento do

mesmo, indicando que a utilização de CTMs não exerceu influência sobre os parâmetros qualitativos e quantitativos de oócitos recuperados de caprinos, por laparoscopia.

Efeito da Suplementação de Progesterona na Taxa de Concepção e Ressincronização de Receptoras de Embriões da Raça Nelore

Pedro Baeza¹, Danieli Aparecida Bobbo Moreski¹, Antonio Hugo Bezerra Colombo¹, Marcia Andreazzi¹, Isabeli Emanuelle Picada¹, Fabio Morotti², Marcelo Marcondes Seneda², Larissa Zamparone Bergamo², Luiz Paulo Rigolon³, Gustavo Gonçalves², Rafael Ricci Mota¹, Fabio Luiz Bim Cavalieri¹

¹ *Unicesumar - Unicesumar - ICETI (Av Guedner 1610)*, ² *UEL - Universidade Estadual de Londrina (Rodovia Celso Garcia Cid Pr 445 Km 380)*, ³ *UEM - Universidade Estadual de Maringa (Av Colombo 3339)*

A produção in vitro (PIV) de embriões bovinos vem se destacando como uma das principais metodologias utilizadas para multiplicar animais de mérito genético superior, o objetivo deste trabalho, foi estudar o efeito da suplementação de progesterona (P4) no diestro na taxa de concepção e na ressincronização de receptoras da raça Nelore, para isto foram realizados 2 experimentos. Sendo que, no experimento 1, utilizou-se vacas múltíparas da raça nelore (n=396), submetidas inicialmente a um protocolo convencional para transferência de embrião em tempo fixo (TETF), ou seja, receberam CIDR de primeiro uso mais 2 mg de benzoato de estradiol no D-11. No D-8 todos os animais receberam 12,5mg de dinoprostometamina, 0,5 mg de cipionato de estradiol, 300 UI gonadotrofina coriônica eqüina, e remoção do implante, no D8 as receptoras foram avaliadas por ultrassonografia (U.S.) e realizado a TETF. A formação do grupo controle (T1) (n=132) foi proveniente dos animais não receberam nenhum tipo de suplementação a base de progesterona. Em contrapartida, o grupo tratamento (T2) (n=137) no ato da TETF, recebeu um dispositivo CIDR previamente usado, permanecendo por treze dias, a fim de avaliar o efeito da suplementação dos animais pela progesterona. O diagnóstico de gestação (DG) para os dois grupos foram realizados no D31. Os resultados mostraram que não houve efeito ($P>0,05$) da suplementação de P4 em relação à taxa de concepção (controle 37,9%, tratamento 39,7%), como também para diâmetro do CL (controle 17.5 ± 3.2 mm, tratamento 18.1 ± 3.4 mm). O experimento 2, foi realizado a partir do aproveitamento dos animais com DG negativo do experimento anterior, avaliando a hipótese da ressincronização dos animais que receberam o implante por treze dias, na tentativa de torná-las aptas para uma segunda TETF. A formação do grupo controle, foi provenientes do resultado negativo do T1 do experimento 1 (n=69), no mesmo sentido, para formação dos animais do grupo tratamento, foi procedente do grupo T2 do experimento 1 (n=74). Assim, somente as receptoras que apresentaram CL, receberam um novo embrião. O DG para o experimento 2, foi realizado 23 dias após a TETF2. Não houve diferença estatística entre os dois grupos para as taxas de concepção (T1: 22,2% vs T2: 35,7%, $P>0,05$), aproveitamento de receptora, e diâmetro de CL. Porém houve semelhança na taxa de concepção entre TETF convencional do experimento 1 (38,8%) e protocolo de ressincronização no experimento 2 (35,7%). Esta semelhança mostra, que a ressincronização pode ser uma estratégia inovadora para a aplicação e compactação dos programas atuais de TETF.

Produção in vitro de embriões bovinos em baixa tensão de oxigênio aumenta a taxa de eclosão de blastocistos

Daniela Moraes Pereira ¹, Giovanna de Lima Ortiz ¹, Mirela Brochado Souza-Cáceres ³, Christopher Junior Tavares Cardoso ², Mariana Santos ¹, Silvio da Silva Oliveira ¹, Aldair Felix da Silva ¹, Ruan Francisco da Silva ¹, Ana Caroline Bini de Lima ¹, Geancarlos Carraro da Silva ¹, Fabiana de Andrade Melo-Sterza ¹

¹ UEMS - Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul (Rodovia Aquidauana/UEMS KM 12), ² UFMS - Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (Av. Senador Felinto Muller, 2443, Vila Ipiranga), ³ UEL - Universidade Estadual de Londrina (Rodovia Celso Garcia Cid - Pr 445 Km 380)

O objetivo desse estudo foi avaliar o efeito das diferentes tensões de oxigênio na produção in vitro de embriões. Os ovários foram coletados de abatedouro local e transportados até o laboratório em solução de NaCl 0,9% acrescida de antibióticos, à temperatura de 35 a 37°C. Foram puncionados folículos de 3-8 mm de diâmetro e os complexos cumulus-oophorus (CCOs) recuperados foram classificados de acordo com o aspecto e distribuição das células do cumulus e uniformidade do citoplasma. Somente os CCOs classificados como Grau 1 e Grau 2 foram utilizados. Após a seleção, os CCOs foram divididos em dois grupos: ALTAO2 (alta tensão de oxigênio – 20% O₂) e BAIXAO2 (baixa tensão de O₂ – 5%) maturados in vitro (MIV - TCM 199 + 10% de SFB + Piruvato de Sódio + FSH + LH + Amicacina) por um período de 24h, a 38,5°C. Os oócitos maturados foram fertilizados in vitro com sêmen selecionado pelo gradiente Percoll. Após a FIV (HTF + BSA + Piruvato de Sódio + Cafeína + Heparina + Penicilinamina + Hipotaurina + Epinifrina + Amicacina), os possíveis zigotos foram transferidos para gotas de cultivo (SOFaa + Mio-inositol + Piruvato de Sódio + BSA + SFB + Amicacina) de acordo com os tratamentos, onde permaneceram por 9 dias. Todas as etapas da produção in vitro de embriões (PIVE) foram realizadas em baixa ou alta tensão de O₂. Nesse experimento foram realizadas 11 replicatas (n=562 CCOs), e em cada uma delas os dois grupos foram testados simultaneamente. As variáveis avaliadas foram taxa de clivagem em D3 (n°clivados/n°CCOs), taxa de blastocistos em D7 (n°blastocistos/n°CCOs) e taxa de eclosão em D9 (n° eclodidos/n°blastocistos), todos expressos em porcentagem. As porcentagens foram transformadas utilizando arco seno. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) utilizando o programa estatístico R. Houve efeito (P<0,05) da tensão de oxigênio na taxa de clivagem (88,4% ALTAO2(252/282) vs. 78,5% BAIXAO2 (226/280)). Por outro lado, não houve efeito (P>0,05) nas taxas de blastocistos (31,2% ALTAO2 (89/282) vs. 27,1% BAIXAO2 (78/280)). No entanto, a taxa de eclosão em D9 foi maior (P<0,05) na baixa tensão de O₂ (31% ALTAO2 (35/113) vs. 43,6% BAIXAO2 (44/101)). Conclui-se que a PIVE realizada em incubadora com baixa tensão de oxigênio gera menor taxa de clivagem, porém maior taxa de eclosão dos blastocistos e portanto embriões de melhor qualidade.

Análise da expressão gênica de embriões bovinos produzidos in vitro cultivados em meio

condicionado por células estromais mesenquimais uterinas

Lais do Nascimento Cintra ¹, Elena Carolina Serrano Recalde ¹, Bruna De Vita ¹, Carolina Nogueira de Moraes ¹, Fernanda da Cruz Landim Alvarenga ¹

¹ UNESP - Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho (Botucatu)

Há evidências de que o meio condicionado (MC) obtido através da cultura de células estromais mesenquimais (CTMs) contém proteínas com atividade de remodelação tecidual e também melhora a taxa de proliferação celular. O sistema de cultura de embriões tem um efeito dramático na expressão de mRNA de vários genes importantes para o desenvolvimento embrionário, como OCT4 e CDX2 e genes relacionados à apoptose como HSP70 e BAX. O objetivo deste estudo foi avaliar a taxa de expressão gênica dos genes HSP70, BAX, OCT4 e CDX2 em embriões bovinos produzidos *in vitro* em diferentes meios de cultura. As CTMs derivadas do endométrio bovino foram obtidas por digestão enzimática. As células foram plaqueadas e cultivadas em meio composto por 80% DMEM/F12, 20% SFB, antibióticos e antimicóticos até 70% de confluência. Para a obtenção do MC, a garrafa foi lavada com PBS e o meio de cultivo substituído por meio sem SFB por 96 horas. O MC obtido foi centrifugado, filtrado e armazenado a -80°C. O complexo cumulus-ócito (COC) (n = 20 / gota) de grau I e II obtido a partir de ovários de matadouro foi selecionado em DPBS contendo SFB e transferido para TCM HEPES. Os COCs foram maturados *in vitro* com TCM199 acrescido de piruvato, FSH, antibióticos e 10% de FBS. A MIV foi realizada em placas de Petri com gotas de 90µL, cobertas com óleo mineral a 38,5°C e 5% de CO₂ em ar umidificado por 24 horas. A FIV foi realizada em FIV-fert em uma concentração de 2x10⁶ espermatozoides/ml. Os prováveis zigotos foram cultivados em SOFaaci (suplementado com antibióticos e aminoácidos) com a respectiva adição de 0,5% de BSA (BSA), 0,5% de BSA + 2,5% de FBS (FBS) e 0,5% de BSA + 20% de MC (MC). Os parâmetros analisados foram o desenvolvimento embrionário e a expressão temporal de genes relacionados à qualidade embrionária (HSP70, BAX, OCT4 e CDX2). Os dados foram normalizados utilizando o gene de referência PPIA e analisados por análise de variância (ANOVA). O teste de Tukey foi utilizado para comparar as médias. Os grupos BSA (n = 223) e SFB (n = 198) mostraram uma taxa de produção de blastocisto maior (p = 0,0014) em comparação com o grupo MC (n = 265), 28, 42 e 16% respectivamente. Os resultados da expressão gênica foram obtidos a partir de 5 repetições (3 blastocistos expandidos/pool) de cada grupo. A avaliação dos genes mostrou o mesmo padrão de expressão (P > 0,05) nos três diferentes grupos. Com os resultados apresentados, conclui-se que é possível a produção de embrião bovino na ausência de SFB no meio de cultivo. Além disso o MC produz embriões de qualidade semelhante quando em comparação com o SFB.

Efeito do tamanho folicular sobre os lipídios oocitários, desenvolvimento embrionário e conteúdo lipídico de blastocistos bovinos

Diego Borba Müller ¹, Kelly Annes ², Jorge Abrão Pinto Vilela ¹, Roniele Santana Valente ¹, Diana Pedroso Caetano ¹, Franciele Weber Santos Cibin ¹, Marcella Pecora Milazzotto ²,

Fernando Silveira Mesquita ¹, Katia Roberta Anacleto Belaz ⁴, Marcos Nogueira Eberlin ³,
Mateus José Sudano ¹

¹ UNIPAMPA - Universidade Federal do Pampa (BR 472 Km 585), ² UFABC - Universidade Federal do ABC (v. dos Estados, 5001 - Bangú, Santo André), ³ UNICAMP - Universidade Estadual de Campinas (Cidade Universitária Zeferino Vaz - Barão Geraldo, Campinas - SP), ⁴ UFU - Universidade Federal de Uberlândia (Av. João Naves de Ávila, 2121 - Santa Mônica, Uberlândia)

O desenvolvimento de oócitos é um processo complexo que envolve mudanças moleculares, bioquímicas e ultraestruturais sequenciais nos oócitos para produção de um embrião viável. Este estudo acessou os lipídios oocitários recuperados de folículos com diferentes tamanhos e: 1) associou aos níveis de transcritos mRNA de genes relacionados ao metabolismo lipídico, a moléculas do fluido folicular; 2) investigou e suas consequências para o desenvolvimento embrionário e depósito de lipídios nos blastocistos bovinos. Oócitos e o fluido folicular foram recuperados de folículos de ≤ 2 mm, 3 a 5mm, 6 a 8mm e >8 mm. Os diâmetros dos folículos foram cuidadosamente determinados com o uso de paquímetro, seguido de monitoramento de volume. Os oócitos foram submetidos à coloração de sudan black (n=20 a 30), perfil lipídico (n=35 a 65), e investigação do nível de transcritos para os genes alvos (n= 4 pools de 15 oócitos). Na avaliação do fluido folicular foram investigados os níveis de glicose, triglicerídeos, colesterol, ROS, SOD, GSH, e TBARS. Posteriormente, oócitos de folículos pequenos (≤ 5 mm e volume $<0,1$ mL; n=322) e grandes (≥ 6 mm e volume $\geq 0,1$ mL; n=93) foram utilizados para produção *in vitro* de embriões (10 rodadas) para produzir blastocistos expandidos no dia sete (BxD7) e blastocistos que só expandiram a blastocele no dia oito (BxD8) após a fertilização *in vitro*. As taxas de clivagem e produção de blastocistos foram registradas nos dia 3 e 8 após a fertilização. Para análise estatística, modelos uni e multivariado de dados foram utilizados. Oócitos recuperados de folículos >8 mm apresentaram maior (P<0,05) conteúdo lipídico citoplasmático quando comparados com os oócitos oriundos de outros tamanhos. Poucas variações de fosfolipídios foram identificadas entre os oócitos recuperados dos diferentes tamanhos foliculares. A abundância de mRNA de *ELOVL6* foi reduzida (P<0,05) em oócitos de folículos maiores em comparação com o grupo ≤ 2 mm. O aumento dos níveis de glicose, ROS, SOD e GSH foi identificado em folículos maiores. O desenvolvimento embrionário (clivagem: ≥ 6 mm: $74,78 \pm 3,56$ vs ≤ 5 mm: $53,24 \pm 7,42$; produção de blastocistos: ≥ 6 mm: $46,36 \pm 5,43$ vs ≤ 5 mm: $13,53 \pm 5,52$) e o conteúdo de lipídico dos BxD7 (≥ 6 mm: $5,33 \pm 0,29$ vs ≤ 5 mm: $4,28 \pm 0,37$) gerados a partir de oócitos oriundos de folículos grandes foram maiores (P<0,05) quando comparados com os de folículos pequenos. BxD8 apresentaram maior (P<0,05) depósito lipídico comparado aos BxD7. Portanto, oócitos e blastocistos revelaram lipídios específicos de acordo com o tamanho folicular; os oócitos dos folículos grandes apresentaram aumento do conteúdo lipídico e geraram BxD7 com maior depósito lipídico; a expansão tardia do blastocele associada a um período prolongado de cultivo foi mais determinante para o acúmulo lipídico do que o tamanho folicular; e o microambiente do fluido folicular dos folículos grandes parece favorecer o desenvolvimento embrionário.

Efeito do inibidor de histona desacetilase durante a Pré-Maturação e/ou maturação *in vitro* de ovócito bovinos no desenvolvimento embrionário

Thais Pontelo ¹, Taynan Kawamoto ², Felipe Caixeta ³, Marcio Zangeronimo ¹, Margot Dode ⁴

¹ UFLA - Universidade Federal de Lavras (Universidade Federal de Lavras Campus Universitário, S/N. Caixa Postal 3037 Lavras MG - CEP: 37200-000), ² UFU - Universidade Federal de Uberlândia (Av. João Naves de Ávila, 2121 - Santa Mônica, Uberlândia - MG, 38400-902), ³ UNB - Universidade de Brasília (Faculdade de Educação - Prédio FE 03 - Sala BT 06 / 14Asa Norte - Brasília-DF Cep: 70.910-900), ⁴ Embrapa Cenargen - Embrapa Recursos Genéticos e Biotecologia (STN - Brasília, DF, 70297-400)

O estoque de mRNAs presentes no ovócito no momento da sua retirada do folículo está relacionado a sua competência para o desenvolvimento. Considerando que uma maior acetilação permite uma maior transcrição gênica foi levantada a hipótese que a presença de um inibidor de desacetilase antes da MIV permitiria um maior acúmulo de RNA aumentando a competência do ovócito. O objetivo desse estudo foi avaliar o efeito do Scriptaid, um inibidor de histonas desacetilases, durante pré-MIV (PMIV) e/ou MIV no desenvolvimento *in vitro* de embriões bovinos. Complexo cumulus-ovócito (COC's) foram obtidos de ovários de abatedouros e submetidos a PMIV por 6 h utilizando 100nM de peptídeo natriurético tipo-C (NPPC), na presença ou ausência de 500nM de Scriptaid. COCs foram distribuídos em 5 grupos: T1- MIV por 22h; T2- PMIV por 6 h e MIV por 22 h; T3 PMIV com Scriptaid por 6 h e MIV por 22 h; T4- PMIV por 6 h e MIV com Scriptaid por 22 h; e T5- PMIV com Scriptaid por 6 h e MIV com Scriptaid por 22 h. Foram avaliadas a maturação nuclear, a expansão das células do cumulus, o desenvolvimento embrionário e a qualidade dos embriões (coloração diferencial de células). Dados de maturação nuclear e desenvolvimento embrionário foram avaliados por Chi-Quadrado ($P < 0,05$). Os dados da coloração diferencial e expansão das células do cumulus foram avaliados por ANOVA e, quando não paramétricos por Kruskal-Wallis ($P < 0,05$). Todos os tratamentos submetidos a PMIV quando avaliados no início da maturação (0 horas) apresentaram a maior parte dos ovócitos em estado de vesícula germinativa (T2= 87%, 47/54; T3= 85%, 41/48) semelhante ($P > 0,05$) ao controle (T1=96%, 66/69). Após 22 horas de MIV todos os grupos apresentaram a maioria dos ovócitos em a metáfase II (T1= 94%, 56/57; T2= 96%, 46/48, T3= 92%, 48/52; T4= 96%, 52/54 ($P > 0,05$), exceto o T5 (88%, 47/56) que apresentou uma menor taxa em relação ao T1 ($P < 0,05$). A expansão das células do cumulus foi semelhante entre os grupos, com exceção do T5 em que foi menor ($P < 0,05$) do que no T2. Em relação ao desenvolvimento embrionário no D7, o T3 (32%, 65/203) teve menor taxa que o T2 (37%, 71/190) mas foi semelhante ao controle (35%, 82/236). Os grupos que receberam Scriptaid na MIV (T4= 23%, 47/207 e T5= 18%, 32/177) tiveram as taxas mais baixas de blastocistos em D7 ($P < 0,05$) em relação aos demais tratamentos (T1= 35%, T2= 37% e T3= 32%). Quanto a qualidade dos embriões o T5 (165, n=30) apresentou menor quantidade de células totais ($P < 0,05$) em relação ao T1 (192,59, n= 39) e T3 (189,53, n= 32). Em relação a proporção de massa celular interna e células totais, o grupo T5 também apresentou menor ($P < 0,05$) quantidade de embriões com proporção 20-40% de células da massa celular interna (T5=67%, 20/30) em relação ao grupo T1 (87%, 34/39). Conclui-se que a presença do Scriptaid na PMIV e na MIV

simultaneamente afeta a maturação nuclear, a expansão das células do cumulus, o desenvolvimento embrionário e a qualidade dos embriões.

Suporte: Embrapa e CAPES.

Análise da produção comercial excedente de embriões bovinos *in vitro*

Isabele Picada Emanuelli ^{1,2}, Danieli Aparecida Bóbbo Moreski ¹, Fábio Luiz Bim Cavaliere Cavaliere ^{1,2}, Marcia Aparecida Andreazzi ^{1,2}, Ana Carolina Fanhani De Arruda Botelho ¹, Francielli Gasparotto Gasparotto ^{1,2}, Josmar Mazucheli ³

¹ UNICESUMAR - Centro Universitário de Maringá (Av. Guedner, n. 1600, Bairro: Jd. Aclimação, CEP 87005-090, Maringá-Pr, Brasil), ² ICETI - Instituto Cesumar de Tecnologia e Inovação (Av. Guedner, n. 1600, Bairro: Jd. Aclimação, CEP 87005-090, Maringá-Pr, Brasil), ³ UEM - Universidade Estadual de Maringá (Av. Colombo, n. 5790 - Zona 7, CEP 87020-900, Maringá-Paraná-Brasil)

A cadeia produtiva de embriões bovinos *in vitro* gera uma produção excedente de blastocistos viáveis que na maioria das vezes são descartados. Isso é um problema para indústria de embriões, pois até o momento a metodologia de criopreservação de embriões bovinos produzidos *in vitro* (PIV), ainda não está completamente elucidada e eficiente. Frente à necessidade atual do desenvolvimento de processos produtivos mais sustentáveis, são essenciais estudos que detectem as reais perdas na produção comercial de embriões PIV. O objetivo deste estudo foi analisar o descarte de embriões bovinos PIV mediante um estudo retrospectivo da produção excedente de blastocistos comercial, e apresentar propostas para melhorar a eficiência do sistema de produção *in vitro* de embriões. Foi realizado um estudo do tipo retrospectivo da PIV de embriões utilizando uma série histórica de 5 anos, com 3238 aspirações, de um banco de dados entre os anos de 2013 a 2017. A PIV foi realizada no laboratório pelos processos de maturação, fertilização e cultivo *in vitro*. No sétimo dia de cultivo os blastocistos eram avaliados quanto à viabilidade para transferência, sendo parte inovulados nas receptoras, e o excedente descartado. A análise dos dados foi realizada por meio de estatística descritiva. As taxas de embriões viáveis transferidos e embriões viáveis descartados, respectivamente foram: 2013 – 29% (2312/7905) e 7% (167/2312); 2014 - 34,4% (1824/5308) e 11% (195/1824); 2015 – 37,1% (3100/8355) e 21% (559/3100); 2016 – 30,1% (2165/7192) e 32% (530/2165) 2017 – 31,5% (2624/8317) e 22% (598/2624), observando uma grande variação na taxa de embriões descartados ao longo da série histórica (7%, 11%, 21%, 32% e 22%). Na série histórica de cinco anos obteve-se uma produção embrionária total de 31,8% (40694/12931) e de 16% (2090/12931) de excedentes de produção. Isso ocorreu devido à produção média dos embriões ter superado a das receptoras sincronizadas disponíveis. Analisando economicamente, essa prática usual de descarte de embriões *in vitro* gera uma perda de produto e conseqüentemente menor lucratividade aumentando o custo de produção. No enfoque ambiental, essa ação de descarte contribui para o desperdício de materiais, bem como consumo de recurso e energia desnecessários. A série histórica de cinco anos analisada indica que em média 1/6 da produção de embriões *in vitro* é descartada, podendo chegar até quase 1/3, dependendo do ano. Tendo em vista a produção de embriões excedentes detectada, propõem-se: a curto prazo, realizar o planejamento para mensurar o número de

receptoras sincronizadas por aspiração levando em consideração a raça, a população folicular e/ou o histórico de aspirações da doadora; e a longo prazo, o ideal seria o estabelecimento de uma técnica de criopreservação embrionária eficiente e com resultados regulares de taxa de concepção.

Comparação de OPU-PIVE em bubalinos com o uso de sêmen refrigerado e congelado durante o período reprodutivo desfavorável

Jaci Almeida ¹, Beatriz Parzewski Neves ¹, Mayara Ferreira Brito ¹, Robson F. Freitas, Lílian G. Lacerda, Lira S. Grapiuna, Marc Henry ¹

¹ UFMG - Universidade Federal de Minas Gerais (Av. Antônio Carlos, 6627, Caixa Postal 567, Pampulha CEP.: 31270901, Belo Horizonte, MG)

As particularidades anatômico-fisiológicas da espécie bubalina como ovários menores, população folicular reduzida e qualidade dos oócitos recuperados, afetam diretamente a eficiência dos programas de OPU-PIVE. O objetivo foi verificar, em bubalinos, as taxas de clivagem e desenvolvimento embrionário na PIVE com o uso de sêmen refrigerado (SR) no meio extensor TRIS com 10% Lipoproteína de baixa densidade (LDL), 0,5% de Lecitina de soja (LS) e com 10 mM do antioxidante Acetilcisteína (NAC), comparativamente ao sêmen congelado (SC) com o mesmo meio. O experimento ocorreu no estado de Minas Gerais (latitude 19°37'05" S e longitude 44°02'35" O). Foram utilizados ejaculados de três touros (Murrah), sendo cada ejaculado alíquotado em duas partes iguais (refrigerado a 5°C/24 hs e congelado). A motilidade e cinética espermática foi avaliada no CASA e, a integridade de membrana espermática pelo teste hiposmótico (HOST), sendo as avaliações realizadas nos tempos 0 hs (pós-diluição à 37°C), 4 hs (equilíbrio até 5°C), 24 hs (refrigeração à 5°C) e pós-descongelamento. Para a OPU foram aspiradas 25 búfalas Murrah. As sessões de aspiração ocorreram de setembro a novembro de 2017. Foram utilizados 239 oócitos distribuídos em três sessões: 1ª (102), 2ª (80) e 3ª (57). Os oócitos foram colocados em meio de lavagem (TCM 199 Hepes + 10% SFB + 22 µg/mL piruvato + 83,4 µg/mL de amicacina). Foram maturados em uma incubadora (38,5°C, 5% de CO₂, 95% de umidade) durante 24 horas. Sendo usado o meio de fecundação TALP suplementado com 83 µg/mL de amicacina, 44 µL/mL da solução PHE (penicilamina 68 µg/mL, hipotaurina 25 µg/mL, epinefrina 8,1 µg/mL), 0,6% de BSA, 0,2 mM de piruvato de sódio e 10 µg/mL de heparina) e posteriormente fertilizados durante 21 horas com 8 µL de sêmen ($\pm 0,4 \times 10^6$ SPTZ). Os zigotos foram desnudados e, em seguida, cultivados em meio SOF por 72 horas. As taxas de clivagem dos embriões foram avaliadas após 72 horas (D3) e as taxas de blastocistos foram observadas 148 horas (D6) após a FIV. Para a análise estatística do sêmen utilizou-se o pacote STATA 12.0 (Statacorp, 2012) e Teste T (médias de duas amostras independentes). Já para as variáveis da FIV (oócitos cultivados, clivados e embriões produzidos) foi usado o Teste Z ($P < 0,05$). O SR/24 horas utilizado apresentava motilidade progressiva de $64,3 \pm 6,1$ e o SC $41,3 \pm 4,0\%$ e HOST de $89,9 \pm 1,5$ e $58,6 \pm 2,5\%$ para o SR e SC, respectivamente. Os resultados obtidos para SR e SC ($P < 0,05$) foram: a) oócitos cultivados = $86,4^a(102/118)$ e $76,0^b(92/121)$; b) oócitos clivados = $34,3^a(35/102)$ e $25,0^b(23/92)$ e c) embriões produzidos =

29,4^a (30/102) e 18,5^b(17/92). Conclui-se que na PIVE de búfalos, os resultados obtidos com sêmen refrigerado foram superiores aos do sêmen congelado/descongelado.

Palavras-chave: Produção *in vitro* de embriões, sêmen refrigerado, búfalos.

3) *Foliculogênese, oogênese e superovulação*

Reserva ovariana e dano no DNA em oócitos e células da granulosa em camundongos Ames Dwarf deficientes em GH

Tatiana Dandolini Saccon ¹, Driele Neske Garcia ¹, Rafael Gianella Mondadori ¹, Monique Tomazele Rovani ³, Jorgea Pradice ¹, Carlos Castilho de Barros ¹, Michal Masternak ², Augusto Schneider ¹

¹ UFPel - Universidade Federal de Pelotas (Rua Gomes Carneiro, 01, Pelotas, RS), ² UCF - University of Central Florida (6850 Lake Nona Blvd, Orlando, FL 32827, US), ³ IF - Instituto Federal Farroupilha (Rua Esmeralda, 430 - Faixa Nova - Camobi, Santa Maria, RS. CEP: 97110-767)

Camundongos anões Ames (Ames Dwarf-df/df) possuem deficiência no gene Prop1 (Profeta de Pit-1), o qual impossibilita o desenvolvimento da hipófise anterior, resultando na deficiência de hormônio do crescimento (GH) (Andersen et al., *Reproductive Biology*, 172: 494-503, 1995). Como resultado, camundongos df/df possuem baixos níveis circulantes de fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-1), tamanho corporal reduzido e vivem cerca de 30-65% mais que animais normais (N) (Chandrashekar, V., Bartke, A., *Reproductive Biology*, 3: 7-28, 2003). O objetivo deste estudo foi avaliar o número de folículos nos estágios primordial, primário, secundário e terciário, bem como o nível de dano no DNA em oócitos e células da granulosa em folículos primordiais e primários de camundongos df/df e N com 6 meses de idade. Ovários de camundongos df/df (n=5) e N (n=5) com 6 meses de idade foram usados para os experimentos. Para análise histológica, as amostras ovarianas foram submetidas a desidratação, corte em micrótomo e coloração por hematoxilina-eosina. Os cortes ovarianos foram analisados para número de folículos usando um microscópio óptico nas objetivas de 10X e 40X. Para análise de imunofluorescência, os cortes foram desparafinizados com xilol e reidratados com uma grade de álcoois. O anticorpo primário usado foi o anti Histona H2A.X (phospho S139) (diluição 1:500; ab81299; Abcam Ltd., Cambridge, USA) e o anticorpo secundário Alexa Fluor® 488 (diluição 1:500; ab150077; Abcam Ltd., Cambridge, USA). O DNA foi corado com DAPI (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA). A fluorescência de H2AX foi avaliada de acordo com o número de focos fluorescentes. Análises estatísticas foram realizadas utilizando software GraphPad Prism 7 (La Jolla, San Diego, USA). Foi utilizado o Teste-t Student para todas as análises, assumindo um nível de significância de 5%. Camundongos df/df deficientes em GH apresentaram um maior número de folículos primordiais (P=0,002) e menor número de folículos primários, secundários e terciários (P=0,02, P=0,005 e P=0,019, respectivamente). O número total de folículos não foi diferente entre camundongos df/df e N (P=0,115). Camundongos df/df tiveram um menor número de focos fluorescentes de H2AX comparado a camundongos N em folículos primordiais e primários (P<0,0001 e P=0,004, respectivamente), sugerindo menor dano no DNA.

Camundongos df/df também apresentaram menor número de focos fluorescentes de H2AX em células da granulosa de folículos primordiais e primários (P=0,004 e P=0,0006, respectivamente). Em conclusão, camundongos df/df deficientes em GH apresentaram maior número de folículos primordiais comparado com camundongos N, indicando que a deficiência de GH e IGF-1 diminui a ativação folicular e aumenta a longevidade ovariana. Além do mais, camundongos df/df apresentaram diminuição de focos de danos no DNA, sugerindo uma melhor qualidade do oócito, capaz de resistir a danos causados pelo envelhecimento.

Estresse oxidativo em tecido ovariano bovino cultivado em diferentes sistemas *in vitro*

Camila Bizarro da Silva ¹, Larissa Zamparone Bergamo ¹, Miriam Sayuri Nagashima Hohmann ¹, Suellen Miguez González ¹, Waldiceu Aparecido Verri Junior ¹, Marcelo Marcondes Seneda ¹

¹ UEL - Universidade Estadual de Londrina (Rodovia Celso Garcia Cid, Pr 445 Km 380, Campus Universitário, Londrina-PR)

O estresse oxidativo é resultante do desequilíbrio entre os níveis de espécies reativas de oxigênio (EROs) e antioxidantes. Assim, EROs são importantes moléculas no contexto do cultivo celular. O objetivo deste trabalho foi quantificar a produção de EROs em quatro diferentes métodos para cultivo *in vitro* de folículos pré-antrais da espécie bovina. Ovários (n=12) foram coletados de abatedouro local, a partir de fêmeas Nelore cíclicas. Depois da coleta, os ovários foram lavados em etanol 70% e PBS. O tecido circundante dos ovários foi retirado e o córtex do ovário foi dividido com auxílio de punch estéril (5mm) em fragmentos (n=9) de 5x5x1 mm. Um fragmento por animal foi acondicionado a temperatura -81°C (controle) e os demais fragmentos (n=8) foram distribuídos aleatoriamente em quatro grupos: i) cultivo padrão, em placa de cultivo; ii) cultivo com suporte de gel de agarose; iii) cultivo com gel de agarose sobre a placa; e iv) cultivo Millicell (Millipore Corp., Bedford, USA). Os fragmentos foram individualmente cultivados em meio essencial mínimo (MEM, Gibco) suplementado com ITS, piruvato, glutamina, hipoxantina, BSA (Gibco), penicilina e estreptomicina. Os métodos de cultivo foram testados por seis (D6) ou quatorze (D14) dias, com trocas de meio a cada dois dias. Os níveis de EROs e capacidade antioxidante da amostra em evitar a produção de EROs foram quantificados através dos ensaios colorimétricos do ânion superóxido pela redução do nitroazul tetrazólo (NBT) e sequestro de cátion 2,2V-azinobis (3-etilbenzotiazolina 6-sulfonato; ABTS), respectivamente. A análise estatística foi realizada por ANOVA de uma via e pós-teste de Tukey (P<0,05). Observou-se que todas as amostras cultivadas pelos quatro métodos apresentaram redução dos níveis de ânion superóxido e da capacidade antioxidante quando comparadas ao grupo controle. No D6 observou-se que método de cultivo de gel sobre a placa apresentou maiores níveis de ânion superóxido quando comparado aos demais (média±EPM= 5,37±0,1 no cultivo padrão; 5,06±0,2 no cultivo com suporte de gel; 6,64±0,5 no cultivo com gel sobre a placa e 4,69±0,1 OD/mg proteína no cultivo Millicell). Em D14 o mesmo foi observado para o método de cultivo de gel sobre a placa, com níveis maiores de ânion superóxido quando comparado ao método padrão (6,42±0,7 e 4,61±0,2 OD/mg proteína, respectivamente). Por outro lado, não foi observado diferença significativa na capacidade antioxidante entre os métodos de cultivo em D6. Em D14 observou-se que o método gel sobre a placa apresentou menor capacidade antioxidante quando

comparado aos métodos padrão, suporte de gel e Millicell (70,85; 85,17; 47,78 e 86,43 Equivalente de Trolox/mg proteína, respectivamente). Concluímos que o método de cultivo gel de agarose sobre a placa resulta em maior estresse oxidativo sobre folículos pré-antrais, aspecto que pode comprometer a integridade celular.

Efeito da adição do ácido α -lipóico no sistema de cultivo *in vitro* de folículos ovarianos pré-antrais de fêmeas *Bos taurus indicus*

Denis Vinicius Bonato ¹, Camila Bizarro da Silva ¹, Andressa Guidugli Lindquist ¹, Tamires Korchovei Sanches ¹, Mateus Anastacio da Silva ¹, Isabela Búfalo ¹, Larissa Zamparone Bergamo ¹, Marcelo Marcondes Senenda ¹

¹ UEL - Universidade Estadual de Londrina (Rodovia Celso Garcia Cid, PR 445 Km 380, Campus Universitário, CEP 86057-970, Londrina - PR)

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da adição do antioxidante ácido α -lipóico no meio de cultivo *in vitro* de folículos ovarianos pré-antrais de fêmeas *Bos taurus indicus*. Foram coletados em abatedouro seis pares de ovários de fêmeas Nelore adultas cíclicas, com escore corporal entre 3 a 3,5 (escala de 1 a 5). Os ovários foram lavados em etanol 70% e o córtex de cada ovário foi dividido em fragmentos de aproximadamente 3x3x1 mm. Um fragmento por animal foi imediatamente fixado em Bouin (controle não-cultivado, D0). Os demais fragmentos (n=8) foram cultivados individualmente em placas de cultivo de 24 poços contendo 1mL de meio essencial mínimo (MEM, Gibco BRL, Rockville, MD, USA; osmolaridade 300mOsm/L, pH 7,2) suplementado (MEM+) com ITS (6,25mg/mL insulina, 6,25mg/mL transferina, e 6,25ng/mL selênio; Sigma, St. Louis, MO, USA), 0,23mM de piruvato (Sigma, St. Louis, MO, USA), 2mM glutamina (Gibco BRL, Rockville, MD, USA), 2mM hipoxantina (Sigma, St. Louis, MO, USA), 1,25mg/mL de BSA (Gibco BRL, Rockville, MD, USA), 20UI/mL de penicilina (Sigma, St. Louis, MO, USA) e 200mg/mL de estreptomicina (Gibco BRL, Rockville, MD, USA). Ao meio MEM+ foram adicionadas diferentes concentrações (50, 100 e 250ng/mL) de α -lipóico (Sigma, St. Louis, MO, USA). O cultivo dos meios testados ocorreu por seis (D6) ou doze (D12) dias. A cada dois dias, os meios de cultivo foram substituídos por alíquotas frescas. Para a análise da integridade e grau de desenvolvimento dos folículos utilizou-se a histologia clássica com coloração de Ácido Periódico de Schiff (PAS) e Hematoxilina. A classificação dos folículos baseou-se na avaliação do estágio de desenvolvimento (primordial, primário e secundário) e quanto à integridade morfológica em normal ou degenerado. Os dados foram submetidos aos testes de ANOVA ($p \leq 0,05$). Foram avaliados 1620 folículos pré-antrais (normais ou degenerados), dos quais 362 eram folículos primordiais e 1258 em desenvolvimento. Após seis dias de cultivo, a concentração de 100ng/ml de α -lipóico apresentou uma maior proporção (40%; 72/180) de folículos morfolologicamente íntegros ao se comparar às demais concentrações testadas: 16,11%, (29/180) para MEM; 19,44% (35/180) para 50ng/mL; 20% (36/180) para 250ng/mL ($P < 0,05$). Após doze dias de cultivo, a concentração de 100ng/mL de α -lipóico novamente possibilitou um maior percentual de folículos morfolologicamente íntegros (31,11%; 56/180), quando em comparação às demais concentrações testadas: 14,44%, (26/180) para MEM; 25,55% (46/180) para 50ng/mL; 8,33% (15/180) para 250ng/mL ($P < 0,05$). Com relação a

porcentagem de folículos em desenvolvimento não houve diferença entre os tratamentos, tanto para o cultivo de seis quanto de doze dias. Assim, o MEM+ suplementado com 100ng/mL de ácido α -lipóico por seis ou por doze dias de cultivo *in vitro* foi o tratamento mais efetivo em preservar a integridade morfológica dos folículos pré-antrais.

Fêmeas Nelore com baixa contagem de folículos antrais apresentam maiores taxas de concepção à IATF

Janaina Menegazzo Gheller ¹, Aldair Félix da Silva ¹, Silvio da Silva Oliveira ¹, Lucas Ribeiro Zottesso ¹, Wilian Aparecido Leite da Silva ², Ana Caroline Bini de Lima ¹, Fabiana de Andrade Melo Sterza ¹

¹ UEMS - Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul (Rodovia Aquidauana/UEMS - Km 12 - Aquidauana/MS), ² UFMS - Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (Av. Senador Felinto Muller, 2443 - Campo Grande/MS)

O número de folículos antrais ovarianos é uma característica determinante nas fêmeas bovinas. A associação desse fator com medidas de fertilidade é observada em *Bos taurus* (Ireland et al., *Biology of Reproduction*, 79:1219-25, 2008), enquanto em *Bos indicus* ainda há controvérsias (Morotti et al., *Animal Reproduction*, 12:479-86, 2015). A contagem de folículos antrais (CFA) demonstra ser uma ferramenta potencial utilizada para a seleção de fêmeas a fim de otimizar os resultados em programas reprodutivos, como a IATF (Evans et al.; *Reproduction in Domestic Animals*, 47:31-7, 2012; Baruselli et al., *Animal Reproduction*, 12:487-97, 2015). O objetivo do presente estudo foi caracterizar a população folicular ovariana de fêmeas Nelore e avaliar o seu efeito sobre a taxa de concepção em programas de IATF e correlacionar essa característica ao tamanho do folículo dominante e a intensidade do estro. Os ovários de 435 fêmeas da raça Nelore foram avaliados por ultrassonografia com transdutor transretal multifrequencial SonoScape A5 VET® em dias aleatórios do ciclo estral. A partir disso as fêmeas foram classificadas conforme a CFA em grupo CFA baixa (B; ≤ 15 folículos), CFA média (M; 16 a 30 folículos) e CFA alta (A; ≥ 31 folículos). Todas as fêmeas avaliadas foram submetidas a protocolo de IATF e diagnóstico de gestação. Utilizou-se o GLIMIX (SAS) para a análise estatística, quando houve diferença aplicou-se o teste Tukey-Kramer ($p \leq 0,05$) e então foi realizado o teste de correlação de Pearson e a regressão logística. Foram incluídos no modelo estatístico a CFA, idade das fêmeas, sêmen utilizado nos cruzamentos, escore de condição corporal (ECC) e fazenda de origem, no entanto somente CFA e idade apresentaram efeito ($p \leq 0,05$) sobre a taxa de concepção. Além disso, tratando-se da CFA não foi encontrada correlação com o tamanho do folículo dominante ($r = -0,26$; $P = 0,096$) e a intensidade da expressão do estro ($r = 0,15$; $P = 0,164$), mensurado pela intensidade da marcação do bastão na região lombar das fêmeas no dia da IA. Em relação ao desempenho das matrizes nos programas de IATF, observou-se maior taxa de concepção para o grupo B que apresentou 48,9% (43/88), seguida do grupo M com 42,7% (119/279) e grupo A com 32,4% (22/68). 64% (279/435) dos animais avaliados nesse estudo apresentavam CFA média (M) e esse grupo não apresentou diferença estatística da taxa de concepção com os outros grupos (B e A), mas a diferença foi clara ($p \leq 0,05$) entre os grupos A e B. A regressão logística revelou haver uma relação

inversamente proporcional entre a CFA e taxa de concepção, ou seja, a probabilidade estimada para taxa de concepção aumenta à medida que a CFA se torna mais baixa. Conclui-se, que matrizes Nelore com $CFA \leq 15$ folículos apresentam as melhores taxas de concepção à IATF e que essa característica pode ser utilizada como critério de seleção para melhorar os índices de fertilidade à IATF.

Agradecimentos: CAPES, Fundect, Fazendas São Judas Tadeus e Arizona, Real H.

Eficiente cultivo *in vitro* de complexos granulosa-oócito de camundongos

Fabília Heloísa Cavicchioli Sugiyama¹, Karen Freire Carvalho¹, Carolina Habermann Macabelli¹, Thiago Simões Machado¹, Mateus Priolo Grejo¹, Marcos Roberto Chiaratti¹

¹ UFSCar - Universidade Federal de São Carlos (Rod. Washington Luís, km 235)

Durante a oogênese, o oócito sofre um aumento de mais de cem vezes no seu volume inicial, atingindo diâmetro superior a 70 μm no momento em que o crescimento se completa. Este crescimento é em grande parte sustentado pela proliferação de células da granulosa que circundam o oócito interagindo intimamente com o gameta. Visando o estudo da oogênese, este trabalho objetivou estabelecer em nosso laboratório um sistema para o cultivo *in vitro* de Complexos Granulosa-Oócito (GOCs) de camundongos. Ainda, comparou-se o efeito da suplementação com FSH e cilostamida (inibidor de fosfodiesterase) sobre o desenvolvimento dos GOCs. Para tanto, fêmeas com 11-12 dias de idade foram sacrificadas e tiveram seus ovários digeridos enzimaticamente com 100 $\mu\text{g/ml}$ colagenase e 10 $\mu\text{g/ml}$ DNase por 30 min. Isso possibilitou o isolamento de GOCs de folículos pré-antrais contendo uma ou mais camadas de células da granulosa. Então, os GOCs foram cultivados à 37°C por 7 dias em placas de 24 poços sobre membrana de colágeno com poro de 3 μm (Costar Transwell-COL; Corning) e atmosfera com máxima umidade com 5% CO_2 . Para o cultivo foi utilizado 750 μl de α -MEM tamponado com bicarbonato (Thermo Fisher Scientific) e suplementado com 0,01% BSA (Sigma-Aldrich), 10 U/ml penicilina, 10 $\mu\text{g/ml}$ estreptomicina e 1x ITS (Sigma-Aldrich). Para o tratamento, foi adicionado ao meio 0,01 U/ml FSH (Sigma-Aldrich) e 0,1 μM cilostamida (Sigma-Aldrich). No dia 0 do cultivo, uma fração dos GOCs teve as células da granulosa removidas para mensuração do diâmetro dos oócitos. Os demais GOCs foram cultivados e avaliados no dia 7 quanto a morfologia e diâmetro do oocitário. Os grupos foram comparados por teste T e considerados diferentes quando $P < 0,05$. Como resultado, foi observado que no dia 0 os oócitos apresentaram diâmetro de $58,2 \pm 1,45 \mu\text{m}$. Já no dia 7, o diâmetro foi de $68,6 \pm 1,51 \mu\text{m}$ no grupo sem suplementação e de $66,8 \pm 1,21 \mu\text{m}$ no grupo suplementado com FSH e cilostamida. Apesar da diferença entre grupos não ser significativa ($P = 0,20$), os GOCs cultivados na ausência de suplementação apresentaram morfologia mais típica, com múltiplas camadas de células da granulosa. Ainda, quando apenas oócitos maiores que 70 μm foram considerados, observou-se maior diâmetro oocitário ($P = 0,01$) na ausência de suplementação ($74,3 \pm 0,66 \mu\text{m}$ vs. $71,2 \pm 0,54 \mu\text{m}$). Em conclusão, tivemos sucesso em estabelecer o sistema para cultivo *in vitro* de GOCs e este foi mais eficiente quando realizado na ausência de FSH e cilostamida.

Agradecimentos: FAPESP 2017/05899-2.

Uso de diferentes indutores de ovulação em éguas

Diego Rodrigues Gomes ¹, Cinthia Cristina Jardim ¹, Rita De Cassia Lima De Morais ¹, Gabriel Almeida Dutra ¹, Giselle Stefani ¹, Vera Lúcia Teixeira De Jesus ¹, Júlio César Ferraz Jacob ¹, Mariana Fernandes Souza ¹

¹ *UFRRJ - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (Br 465, Km7, Seropédica, Rio De Janeiro)*

Como a espécie equina apresenta grande variação na duração do estro, existe uma difícil competência na previsão da ovulação pelos métodos de palpação e ultrassonografia transretal. A ovulação nas éguas ocorre em média 75 horas após o folículo atingir 35 mm de diâmetro (Silva et al., Rev. Bras. Med. Vet., 38(Supl.2):45-48, 2016), podendo ser encurtado para 36-48h por meio de indutores de ovulação. A gonadotrofina coriônica humana (hCG) e análogos do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) como o acetato de deslorelina são os hormônios mais utilizados para a indução da ovulação. O trabalho teve como objetivo comparar a eficiência e precisão de diferentes indutores da ovulação em éguas. Foram utilizados 79 ciclos estrais de 47 éguas, da raça Mangalarga Marchador, entre três e 25 anos de idade, com peso variando de 350 a 500 Kg. As avaliações dos ovários e útero, foram realizadas com auxílio de aparelho digital de ultrassonografia, equipado com transdutor linear de 5,0 Mega-hertz (Sonoscape A6). Os ciclos foram distribuídos em grupos; G1 (n = 34) = 1000 UI de hCG (Chorulon®) EV; G2 (n = 25) = 1mL de acetato de histrelina (Strelin®) IM; G3 (n=20) = 1.000UI de hCG (EV) + 1 mL de acetato de histrelina (IM). As éguas foram monitoradas diariamente e o tratamento foi iniciado quando o maior folículo ovariano atingiu o diâmetro ≥ 35 mm e edema endometrial compatível com o estro. Vinte quatro horas após o tratamento as éguas foram monitoradas a cada 6 horas até a ovulação. Os dados obtidos foram analisados pelo método ANOVA. A média do diâmetro folicular no momento da indução foi de $35,3 \pm 0,7$; $35,0 \pm 0,5$; $35,3 \pm 0,8$ para G1, G2 e G3, respectivamente. O percentual de ovulações até 36 horas foi de 73,4% (25/34), 4,0% (1/25) e 25,0% (5/20) e em até 48 horas foi de 100% (34/34), 64% (16/25) e 95% (19/20) para G1, G2 e G3, respectivamente. Houve um aumento ($P < 0,00001$) das ovulações no G1 em relação à G2 e G3 nas primeiras 36 horas. Em até 48 horas houve diferença ($P < 0,05$) apenas de G1 para G2. De acordo com os resultados apresentados o melhor indutor de ovulação nas primeiras 36 e 48 horas é o hCG o que favorecerá o manejo reprodutivo das éguas com menor custo.

Vascularização de corpos lúteos na fase luteal inicial de ovelhas superovuladas

Júlia Ribeiro Bevilaqua ^{1,1}, Maria Emília Franco Oliveira ¹, Mariana Garcia Kako Rodriguez ¹, Giovanna Serpa Maciel ¹, Gabriel Brun Vergani ¹, Jeferson Ferreira da Fonseca ²

¹ *UNESP, FCAV - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, Castellane - S/N - Vila Industrial,*

*Jaboticabal - SP), ² EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, EMBRAPA
Caprinos e Ovinos (Coronel Pacheco, Minas Gerais, 36.155-000, Brasil)*

O objetivo foi testar a hipótese de que a vascularização dos corpos lúteos aumenta ao longo da fase luteal inicial de ovelhas superovuladas. Tal investigação favorece o desenvolvimento de protocolos superovulatórios eficientes e de custo inferior em ovinos, assim como, na definição de ferramenta diagnóstica alternativa, prática, rápida, não invasiva e efetiva da qualidade dos corpos lúteos. A metodologia foi baseada na utilização de oito ovelhas Santa Inês que tiveram o estro sincronizado com dispositivo intravaginal de progesterona (0,3g, CIDR®, Zoetis, Nova Zelândia) por nove dias. Na inserção e retirada do dispositivo (Dias 0 e 8) foram realizadas aplicações de análogo de PGF2 α (37,5 μ g d-Cloprostenol, i.m., ProLise®, Arca S.R.L., Argentina). O tratamento de superovulação iniciou-se no Dia 6, consistindo em oito aplicações de pFSH (dose total de 100mg, i.m., Folltropin®, Bioniche, Canadá) a intervalos de 12 horas. Na remoção do dispositivo as ovelhas receberam ainda eCG (300 UI, i.m., Novormon®, Zoetis, Nova Zelândia). Avaliações ultrassonográficas modo-B e Doppler colorido dos ovários foram obtidas por meio de ultrassom MyLab™ Vet 30 Gold (Esoate, Holanda) ao longo da fase luteal inicial (entre os Dias 12 e 15, sendo o último correspondente ao dia da colheita de embriões. Foram selecionadas imagens que garantiam a visualização da maior área de vascularização de cada corpo lúteo presente. Por meio de softwares específicos (Adobe FireWorks® CS6 e Image J®) calculou-se o número de pixels total e coloridos e, por fim, o percentual de vascularização. Os dados foram comparados entre dias por meio do teste de Tukey (P<0,05). O percentual de vascularização dos corpos lúteos não diferiu (P = 0,13) ao longo dos dias da fase luteal inicial (Dia 12 = 68,2%, Dia 13 = 67,3%, Dia 14 = 66,3% e Dia 15 = 61,9%). Em conclusão, a angiogênese durante o desenvolvimento dos corpos lúteos, indicado pelo percentual de vascularização do tecido luteal, é rapidamente estabelecida nos primeiros dias após a ovulação. Agradecimentos: FAPESP (PROCESSO 2017/04193-9) e CNPq.

Efeito do tratamento intrafolicular com BHB no crescimento folicular e taxa de ovulação em vacas *Bos taurus*

Juliana Ferst ¹, Rogério Ferreira ², Alexandro Fritzen ², Cristina Sangoi Haas ⁴, Fernando Oliveira ⁴, Sérgio Vargas ⁴, Nayrema Maciel ¹, Kalyne Bertolin ¹, Bernardo Gasperin ⁴, Paulo Gonçalves ^{3,1}

¹ UFMS - Universidade Federal de Santa Maria (Avenida Roraima número 1000), ² UDESC - Universidade do Estado de Santa Catarina (rua Beloni Trombeta Zanin), ³ UNIPAMPA - Universidade Federal do Pampa (BR 242 - Uruguaiana), ⁴ UFPel - Universidade Federal de Pelotas (Capão do Leão)

O balanço energético negativo (BEN), que ocorre no período do pós-parto, é um dos principais fatores de risco determinantes de alterações reprodutivas em vacas de alta produção de leite. Há evidência de que o aumento dos ácidos graxos não esterificados (NEFAS) e β -hidroxibutirato (BHB) podem afetar o desenvolvimento folicular em bovinos. Recentemente, o nosso grupo verificou que a concentração plasmática de BHB não afeta a taxa de crescimento folicular e

ovulação em vacas submetidas a protocolo de IATF. Porém, pouco se sabe a respeito do efeito do BHB elevado no crescimento folicular em vacas. Assim, o objetivo do trabalho foi avaliar se a injeção intrafolicular com BHB, em níveis observados no pós-parto em vacas de leite, interfere no crescimento folicular. Vacas *Bos taurus* tiveram a emergência de uma nova onda folicular induzida através do uso de dispositivo intravaginal contendo progesterona (1 g de progesterona, DIB-Intervet Schering Plough, Brasil) e injeção i.m. com 2 mg de benzoato de estradiol (Genix, Anápolis, Brasil). Quatro dias depois, o dispositivo foi retirado e realizada injeção i.m. com análogo da PGF2 α (cloprostenol, 250 μ g; Schering-Plough Animal Health, Brasil). A partir deste momento, os ovários foram monitorados diariamente por ultrassonografia transretal, utilizando transdutor linear com 8 MHz (Aquila Vet scanner, Pie Medical, Netherlands). Quando o maior folículo atingiu um tamanho de 7 ou 8 mm (doze vacas), os animais foram divididos em dois grupos para receber injeção intrafolicular com 15 mM BHB (n=6) ou PBS (n=6). Os folículos foram injetados de acordo com a técnica descrita por Ferreira et al. (Reproduction, 134, 713-9, 2007). A dose utilizada para a injeção intrafolicular com BHB foi escolhida de acordo com Vanholder et al. (Reproduction Domestic Animal, 41, 39-40, 2006). O crescimento folicular foi monitorado durante 72 h e a taxa de ovulação até 120 h após o tratamento. Os dados de diâmetro folicular após aplicação dos tratamentos foram analisados utilizando modelos mistos para dados repetidos (PROC MIXED). O tamanho médio dos folículos injetados com PBS foi de 8,5 \pm 0,3 mm, 8,4 \pm 0,6 mm, 9,5 \pm 0,5 mm e 11,5 \pm 0,6 mm nas 0, 24, 48 e 72 h após o tratamento, respectivamente. Contudo, folículos injetados com BHB reduziram o crescimento 72 h após o tratamento (P<0,05) e a curva dos tamanhos foliculares foi 8,0 \pm 0,2 mm, 7,8 \pm 0,3 mm, 8,7 \pm 0,9 mm e 7,7 \pm 1,6 mm nas 0, 24, 48 e 72 h após o tratamento, respectivamente. Todos os folículos do grupo controle ovularam. No entanto, 75 % dos folículos tratados com BHB recuperaram a taxa de crescimento e ovularam após as 72 h. Em conclusão, o aumento da concentração de BHB intrafolicular afetaram o crescimento do folículo dominante, mas não impediram a ovulação. Suporte Financeiro:CAPES, CNPq e FAPERGS.

A eliminação de DNA mitocondrial mutante não é revertida pela inibição da via autofágica em oócitos murinos

Mateus Priolo Grejo ¹, Thiago Simões Machado ¹, Bruna Martins Garcia ¹, Fabrícia Heloísa Cavicchioli Sugiyama ¹, Carolina Habermann Macabelli ¹, Marcos Roberto Chiaratti ¹

¹ UFSCar - Universidade Federal de São Carlos (Rodovia Washington Luís, s/n, São Carlos - SP, 13565-905)

Diversas doenças em humanos têm origem em mutações no DNA mitocondrial (mtDNA), o qual tem herança exclusivamente materna. Uma vez que centenas de milhares de moléculas de mtDNA estão presentes no oócito, a transmissão da doença depende da quantidade de moléculas mutantes. Ainda, diversas evidências dão suporte para a existência de um mecanismo que elimina mutações no mtDNA durante o desenvolvimento do oócito. O mecanismo responsável por essa função no gameta não é conhecido, mas em células somáticas uma forma seletiva de autofagia (mitofagia) é responsável pela destruição de mitocôndrias disfuncionais contendo mutações no mtDNA. A Mitofusina 2 (MFN2) está envolvida com o controle da dinâmica

mitocondrial, a qual regula a atividade, o transporte e degradação de mitocôndrias. O papel da MFN2 na ocorrência de mitofagia parece se dar por este ser um importante alvo de ubiquitinação em mitocôndrias disfuncionais. Além disso, o MFN2 regula a formação de autofagossomos e a subsequente fusão destes com lisossomos. Em acordo com essas informações, observamos previamente que o nocaute da *Mfn2* em oócitos contendo mtDNA C57BL/6 e NZB/BINJ resulta em acúmulo de mtDNA mutante NZB/BINJ na progênie (dados não publicados). Dito isso, este trabalho teve como objetivo investigar se a eliminação de mtDNA NZB se dá por autofagia. Para isso, a autofagia foi inibida por administração de 50 µg de cloroquina por grama de peso vivo, duas vezes por dia. Camundongos com 11 dias de idade contendo 50-70% de mtDNA NZB foram submetidos ao tratamento com cloroquina por 10 dias, período correspondente a primeira onda de desenvolvimento folicular. Como controle, os animais foram submetidos ao mesmo protocolo, porém utilizando um volume similar de solução fisiológica (diluído da cloroquina). No dia 8 do tratamento, todos os animais foram estimulados com 5 U.I. de eCG e após 42 h os oócitos imaturos foram coletados de folículos antrais. A quantidade de mtDNA NZB, determinada por PCR em tempo real, foi estimada nos oócitos e em biópsia de orelha da fêmea doadora. Para análise do efeito do tratamento, os grupos controle e tratado foram comparados por teste T quanto ao Δ NZB, o qual foi calculado pela diferença entre a porcentagem de mtDNA NZB no oócito e a presente na orelha da fêmea. Em desacordo com a nossa hipótese, os grupos não diferiram quanto ao Δ NZB ($P=0,58$). Em conclusão, nossos dados atuais indicam que a eliminação de mtDNA NZB não pode ser explicada pela ocorrência de autofagia nos oócitos. Agradecimentos: CAPES e FAPESP (2017/05899-2).

Influência da substituição da matriz extracelular durante um cultivo *in vitro* prolongado de folículos ovarianos pré-antrais

Denis Vinicius Bonato ¹, Marcela Bortoletto Cerezetti ¹, Mateus Anastacio Da SILVA ¹,
Andressa Guidugli Lindquist ¹, Tamires Korchovei Sanches ¹, Ana Beatriz Marques de Almeida,
Elena Castellani ¹, Camila Bizarro Da Silva ¹, Marcelo Marcondes Seneda ¹

¹ UEL - Universidade Estadual de Londrina (Rodovia Celso Garcia Cid, PR 445 Km 380,
Campus Universitário, Londrina-Paraná)

O cultivo *in vitro* (CIV) de folículos pré-antrais é uma importante biotecnologia reprodutiva por auxiliar no conhecimento da fisiologia e foliculogênese. O CIV mimetiza os acontecimentos *in vivo* e proporciona o desenvolvimento completo de folículos pré-antrais. Dessa forma, o objetivo do trabalho foi avaliar a substituição do suporte de gel de agarose durante o cultivo *in vitro* e sua interferência na integridade e desenvolvimento de folículos pré-antrais cultivados *in situ*. Foram coletados 5 pares ovários (n=10), provenientes de abatedouro local, oriundos de novilhas *Bos taurus indicus*, púberes e procedentes do mesmo rebanho. Os ovários foram lavados em etanol 70% e solução tampão (PBS), transportados para o laboratório a uma temperatura de 4°C em meio essencial mínimo (MEM) suplementado com 200UI/mL de penicilina e 200mg/mL de estreptomicina. No laboratório, o córtex ovariano foi dividido em fragmentos de aproximadamente 3x3x1 mm. Os fragmentos oriundos do mesmo ovário foram distribuídos em dois tratamentos, tratamento controle e tratamento substituição (n=5/tratamento).

Resumidamente, para tratamento controle, o cultivo foi realizado por doze dias sobre o mesmo suporte de gel de agarose, enquanto, o tratamento substituição, o suporte gel foi trocado no sexto dia do cultivo. Os fragmentos ovarianos foram cultivados em MEM (Gibco BRL, Rockville, MD, USA) suplementados com ITS, piruvato, glutamina, hipoxantina, BSA (Gibco), penicilina e estreptomicina. A substituição total do meio de cultivo foi realizada a cada dois dias. Ao fim do cultivo, esses fragmentos foram fixados em Bouin por 24 horas e processados para histologia clássica. Para a análise folicular, as lâminas foram coradas com ácido periódico de Schiff (PAS) e Hematoxilina. Avaliação dos fragmentos foi realizada por microscopia óptica. Os folículos pré-antrais foram classificados de acordo com a fase de desenvolvimento (primordial ou em desenvolvimento, primário e secundário) e integridade (íntegro e degenerado). As médias foram comparadas por análise de variância ($P < 0,05$). O grupo controle e grupo tratado apresentaram a percentagem média de 25% (3/12) e 75% (9/12) para folículos primordiais íntegros, respectivamente. Esta comparação resultou em um valor de $P = 0,421$. As porcentagens médias de folículos desenvolvidos íntegros foram, respectivamente, de 41,7% (25/60) e 58,3% (35/60) com valor de $P = 0,909$. O suporte com o gel de agarose permite a preservação da arquitetura folicular, conseqüentemente, auxilia no desenvolvimento. Contudo, não pareceu apresentar diferenças ao realizar a substituição do gel de acordo com os parâmetros avaliados. Desta forma, conclui-se que a substituição do suporte de gel de agarose durante o sexto dia de cultivo não interfere na integridade e desenvolvimento dos folículos pré-antrais cultivados.

Efeito da prostaglandina F2 alfa na esteroidogênese de folículos pré-ovulatórios bovinos

Monique Tomazele Rovani ¹, Camila Amaral D'Avila ², Cristina Sangoi Haas ², Fernando Caetano de Oliveira ², Sérgio Farias Vargas Jr ², Lígia Margareth Cantarelli Pegoraro ³, Augusto Schneider ², Luiz Francisco Machado Pfeifer ⁴, Bernardo Garziera Gasperin ², Thomaz Lucia Jr ², Paulo Bayard Dias Gonçalves ⁵

¹ IFFAR - Instituto Federal Farroupilha, Campus Frederico Westphalen, RS, Brasil. (Linha 7 de setembro, s/n, BR 386 - KM 40, Cx. Postal: 169 - Fone: (55) 3744-8900 - CEP: 98400-000 - Frederico Westphalen - RS), ² UFPel - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, Brasil (Campus Universitário 96010900 - Capão do Leão, RS - Brasil), ³ EMBRAPA - Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, Brasil. (BR 392 Km 78 CP 403 96001-970 - Pelotas, RS - Brasil - Caixa-postal: 403), ⁴ EMBRAPA Rondônia - Embrapa Rondônia, Brasil. (Rodovia BR-364 - Km 5,5 lado ímpar Cidade Jardim 76815800 - Porto Velho, RO - Brasil - Caixa-postal: 76815800), ⁵ UFSM - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil. (Av. Roraima nº 1000 Cidade Universitária Bairro Camobi Santa Maria - RS CEP: 97105-900)

O presente estudo testou a hipótese de que a aplicação i.m. de PGF2 alfa (PGF) afeta a esteroidogênese folicular e avaliou o efeito de um anti-inflamatório não esteroide (AINE) sobre a luteinização induzida por GnRH. Os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética da UFPel e UFSM. No experimento 1, avaliou-se a expressão do receptor de PGF (*PTGFR*) nas células da granulosa (CG) de folículos ao redor da divergência e pré-ovulatórios (Rovani et al., Animal Reproduction, 14:383-391 2017). Depois (experimentos 2 e 3), 37 vacas das raças Jersey e Holandês, não lactantes e cíclicas, tiveram a onda folicular sincronizada com benzoato de

estradiol (2mg) i.m., dispositivo intravaginal (DIV) de progesterona (P4; 1g), no D0, e aplicações de cloprostenol (150µg; D0 e D8). No experimento 2, foi realizada a remoção do DIV (D9) e 12h após os animais foram alocados nos grupos (hora 0): controle= salina i.m. (n=6); GnRH= 100µg de acetato de gonadorelina (AG) i.m. (n=7) e PGF= 500µg de cloprostenol sódico i.m. (n=6). No experimento 3, foi realizada a remoção do DIV (D9) e 20h após foi realizada a aplicação de GnRH (AG; 100µg i.m.) em todas as vacas (hora 0). Dezesete horas após GnRH, os animais foram divididos em três grupos e receberam os seguintes tratamentos: controle= salina i.m. (n=6); AINE= 2,2mg/kg de flunixin meglumine (FM) i.m. (n=6); e AINE+PGF= 2,2mg/kg de FM (n=6) e, 6h após, 25mg i.m. de dinoprost trometamina (PGF). Nos experimentos 2 e 3, os grupos foram equilibrados quanto ao diâmetro do maior folículo e as aspirações foliculares foram realizadas 24h após a hora 0. A expressão gênica foi avaliada através de PCR em tempo real e os níveis de esteroides no fluido folicular (FF) por quimiluminescência. Os dados foram avaliados por ANOVA. No experimento 1, observou-se uma maior expressão de *PTGFR* nas CG de folículos dominantes em comparação aos subordinados, após a divergência ($P<0,05$). Ainda, observou-se uma tendência ($P=0,1$) a maior expressão de *PTGFR* 24h após GnRH. No experimento 2, vacas tratadas com GnRH apresentaram uma diminuição nos níveis de estrógeno (E2) no FF (467±80, 83±24 e 456±94ng/mL, para controle, GnRH e PGF, respectivamente; $P<0,05$). Entretanto, os níveis de P4 não diferiram entre os grupos (227±71, 606±185 e 271±119ng/mL, para controle, GnRH e PGF, respectivamente). No experimento 3, não se observou diferença nos níveis de E2 (94±17, 82±24 e 95±12ng/mL, para controle, AINE e AINE+PGF, respectivamente); porém, os níveis de P4 no FF de vacas que receberam GnRH+AINE (323,3±19,6ng/mL), com ou sem PGF, foram inferiores aos do controle (apenas GnRH; 477,5±80,1ng/mL; $P<0,05$). Apesar da expressão do *PTGFR* observada nas CG, a administração de PGF não alterou a esteroidogênese. Entretanto, a administração de AINE afetou negativamente a luteinização, representando um modelo para investigar os efeitos das PGs na ovulação em bovinos.

Os autores agradecem à FAPERGS e CNPq (Edital PRONEX) e CAPES, pelo suporte financeiro.

Função da proteína morfogenética óssea 15 no crescimento folicular final, ovulação e luteinização em bovinos

Cristina Sangoi Haas ¹, Fernando Caetano de Oliveira ¹, Vitória Gasperin Guazzelli Costa ¹, Monique Tomazele Rovani ², Arnaldo Diniz Vieira ¹, Sergio Farias Vargas Jr ¹, Raj Duggavathi ⁴, Vilceu Bordignon ⁴, Rogério Ferreira ⁵, Paulo Bayard Dias Gonçalves ³, Bernardo Garziera Gasperin ¹

¹ UFPel - Universidade Federal de Pelotas (Pelotas, RS, Brasil), ² IFF - Instituto Federal Farroupilha (Campus Frederico Westphalen, RS, Brasil), ³ UFSM - Universidade Federal de Santa Maria (Santa Maria, RS, Brasil), ⁴ McGill - Departamento de Ciências Animais, McGill University (Sainte Anne de Bellevue, QC, Canada), ⁵ UDESC - Universidade do Estado de Santa Catarina (Chapecó, RS, Brasil)

A proteína morfogenética óssea 15 (BMP15) oocitária é uma das principais reguladoras locais da função ovariana e exerce papel essencial na determinação da taxa ovulatória. Apesar da relevância, suas funções na fisiologia ovariana ainda não estão estabelecidas. O objetivo deste estudo foi determinar o efeito do tratamento com BMP15 intrafolicular sobre o crescimento folicular final, ovulação e luteinização. Os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética da UFPel. Vacas Jersey (n=18) tiveram o crescimento folicular sincronizado através de protocolo hormonal com dispositivo intravaginal (DIV) contendo progesterona (P4; 1g; DIB, Zoetis, São Paulo, SP, Brasil), injeção i.m. de 2 mg de benzoato de estradiol (Gonadiol, Zoetis, São Paulo, SP, Brasil) e uma aplicação i.m. de 150 µg de cloprostenol (Tecnopec, São Paulo, SP, Brasil). O DIV permaneceu por 7 a 9 dias, conforme o diâmetro do folículo a ser injetado. No experimento 1, para investigar o efeito sobre o crescimento folicular, foi realizada a injeção intrafolicular (IIF) em folículos dominantes (7,5 a 9,5 mm) com PBS (controle; n=3) ou 100 ng/mL de BMP15 recombinante humana (BMP15; n=5; Sigma Aldrich, St. Louis, MO, EUA). No experimento 2, para avaliar a função na ovulação e luteinização, foi realizada a IIF em folículos pré-ovulatórios (12 a 14 mm) com PBS (controle; n=4) ou BMP15 (n=6; 500 ng/mL), e aplicação i.m. de análogo de GnRH (acetato de buserelina; 21 µg; Gonaxal, Biogénesis Bagó, Vinhedo, SP, Brasil), imediatamente após a IIF. O efeito dos tratamentos sobre a dinâmica folicular foi avaliado através de análise de dados repetidos utilizando o *Mixed Procedure* (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Quando necessário, as variáveis contínuas foram normalizadas e o nível de significância utilizado foi de 5%. No experimento 1, observou-se uma tendência (P=0,09) de efeito do tratamento sobre o crescimento folicular, sendo observado diâmetro de 8,9±0,9 (D0; momento da IIF) e 14±2 mm (D2), no grupo controle, e 8,4±0,3 (D0) e 9,1±1,4 mm (D2) nas vacas do grupo BMP15. Os folículos tratados com BMP15 apresentaram paredes espessas ao exame ultrassonográfico (D2). No experimento 2, folículos do grupo controle (4/4) tiveram a ovulação confirmada por ultrassonografia. Entretanto, folículos tratados com BMP15 não ovularam (0/6) e deram origem a estruturas císticas que atingiram diâmetro médio de 32 mm (D12), com paredes espessas, caracterizando cistos luteínicos. Amostras de fluido folicular de cinco das seis estruturas císticas apresentaram níveis de progesterona acima de 500 ng/mL. Dosagens de P4 sérica confirmaram que, apesar da BMP15 bloquear a ovulação, não inibiu a luteinização, sendo observados 7,1±1,7 e 4,1±1,2 ng/mL de P4 nos grupos controle e BMP15, respectivamente. Conclui-se que o tratamento com BMP15 inibiu o desenvolvimento folicular e ovulação, induzindo à luteinização e formação de cistos em bovinos. Os autores agradecem à FAPERGS, CAPES e CNPq pelo financiamento.

Bloqueio imunológico do desenvolvimento folicular em novilhas

Humberto Luis Neri ², Carlos Antonio Fernandes ^{1,2}, Ana Cristina Figueiredo ^{1,2}, Jessica Ruiz Pereira ², Miller Pereira Palhão ¹, Gustavo Henrique Sousa Pereira ², João Henrique Moreira Viana ^{1,2}

¹ Unifenas - Universidade José do Rosário Velano (Rodovia MG 179 km 0, Alfenas MG, Brasil),

² Biotran - Biotran (Rua Tatuin, 447. Residencial Teixeira, Alfenas MG)

No desenvolvimento de protocolos de tratamento hormonal que permitam a execução das biotecnologias da reprodução para a manipulação do ciclo estral de fêmeas bovinas, é necessária a descrição precisa sobre a farmacodinâmica de substâncias, especialmente as gonadotrofinas exógenas. Para tanto, utilizam-se procedimentos experimentais que bloqueiam ou limitam a ação dos hormônios endógenos, permitindo a real avaliação da eficácia do tratamento exógeno. O objetivo do estudo foi avaliar a eficiência de um bloqueio imunológico do FSH endógeno. Para isso, 11 novilhas cruzadas e cíclicas foram alocadas em dois grupos: GBI ($n = 6$), que recebeu a primeira dose do bloqueador imunológico no D-40 (Bopriva, Zoetis – Brasil), com reforço no D-10; no D-3, um implante vaginal de progesterona (P4) e 2 mg (IM) de benzoato de estradiol (BE), para a sincronização da onda folicular; GC ($n = 5$) foi o grupo-controle que recebeu o mesmo tratamento de GBI no D-3, sem qualquer tipo de bloqueio hormonal. A partir do D0 até o D4, os animais foram avaliados diariamente por ultrassonografia transretal para a contagem e medição dos folículos (Mindray – M5) que foram divididos em 4 categorias: menores que 3,9; entre 4,0 e 7,9; $\geq 8,0$ e $\leq 12,0$; e maiores que 12mm. Os grupos foram formados por distribuição inteiramente casualizada (DIC) e os dados analisados por Anova e comparados pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5%. Não houve alteração na população de folículos até 4 mm de diâmetro nem alteração no total de estruturas entre os tratamentos do D0 até D4 ($P > 0,05$), demonstrando que o bloqueio não interfere no recrutamento folicular. Mais de 80% dos folículos não ultrapassaram 4 mm de diâmetro entre os grupos nos diferentes dias de avaliação ($P > 0,05$), situação esperada para o início da onda de desenvolvimento folicular. A partir do D1, o grupo GBI apresentou menor quantidade de estruturas de 4,0 a 7,9 e de 8,0 a 12 mm em relação ao GC ($P < 0,05$). Adicionalmente, nenhum folículo no GBI atingiu 8 mm de diâmetro. Diante dos resultados, podemos concluir que o bloqueio imunológico não interfere no recrutamento e é eficaz no bloqueio do desenvolvimento folicular em fêmeas bovinas.

Apoio: Biotran; Zoetis, Unifenas, Fapemig, Capes, CNPq

Diferentes fontes de progestágenos não afetam a população folicular e a qualidade morfológica dos oócitos durante a estimulação ovariana em ovelhas da raça Santa Inês

Gláucia Mota Bragança¹, Joanna Maria Gonçalves de Souza-Fabjan¹, Ribrio Ivan Tavares Pereira Batista¹, Lilian dos Santos Ribeiro¹, Viviane Lopes Brair¹, Luana Rangel Côrtes¹, Clara Vieira de Souza¹, Augusto Ryonosuke Taira¹, Jeferson Ferreira da Fonseca², Alejo Menchaca³, Felipe Zandonadi Brandão¹

¹ UFF - Universidade Federal Fluminense (Rua Vital Brasil, 64. Santa Rosa, Niterói - RJ), ² EMBRAPA - Embrapa Caprinos e Ovinos (Estrada Sobral/Groaíras, km 04, CP. 145, Sobral, CE – Brasil), ³ IRAUy - Instituto de Reproducción Animal Uruguay (Camino La Cruz del Sur, 12200 Montevideo, Uruguai)

Buscando desenvolver um protocolo hormonal mais adequado à produção de oócitos de boa qualidade para uso em biotecnologias, um estudo anterior demonstrou que o FSH aplicado em múltiplas doses decrescentes produziu oócitos de melhor qualidade. Contudo, diferentes implantes progestagênicos utilizados durante a estimulação ovariana ainda não foram testados. O objetivo deste estudo foi investigar o efeito de diferentes progestágenos, utilizados durante a

estimulação ovariana, sobre a população folicular e a qualidade morfológica oocitária em ovelhas da raça Santa Inês. Trinta ovelhas pluríparas tiveram o estro sincronizados pelo protocolo Dia 0 (Balaro et al., *Domestic Animal Endocrinology*, 54: 10-14, 2016). O dia 0 (D0) do protocolo foi considerado 80 h após a remoção da esponja e estimulação ovariana com pFSH (Folltropin-V, Bioniche Animal Health, Ontário, Canadá). Todas as ovelhas receberam 80 mg de pFSH distribuído em três aplicações (50, 30 e 20%) a cada 12 h. As ovelhas foram randomizadas em três grupos (n = 10): (1) MAP, recebeu esponjas intravaginais contendo 60 mg de acetato de medroxiprogesterona (Progespon, Zoetis, São Paulo, Brasil); (2) P4, recebeu um dispositivo de silicone com 0,33 mg de progesterona (CIDR, Eazi-Breed, Zoetis); e (3) Controle, não recebeu dispositivo (P4 luteal). A avaliação ovariana foi realizada por ultrassonografia transretal (SonoScape, Shenzhen, China, transdutor linear de 7,5 MHz) em D-3 a D2 a cada 12 h. Os folículos foram classificados em pequenos (<3 mm), médios (3-5 mm) ou grandes (>5 mm). Os oócitos foram recuperados por videolaparoscopia (LOPU) e classificados de acordo com a qualidade morfológica em grau 1, 2, 3 e 4 (G1 e G2: bom, G3: aceitável e G4: ruim). Os dados paramétricos foram analisados por ANOVA e teste de Tukey. Para os dados não paramétricos, foi utilizado o teste qui-quadrado (P<0,05). Não houve efeito (P>0,05) da fonte de progesterona sobre a população folicular e qualidade morfológica oocitária. No D0, as ovelhas de todos os grupos apresentaram população folicular semelhante quanto ao número de folículos em cada categoria (pequeno, médio e grande), o número de folículos pequenos foi maior que de médios, que por sua vez, foi maior que o de folículos grandes. No D2, o número de folículos não diferiu entre os grupos, sendo que a quantidade de folículos pequenos e médios foram maiores que os grandes. Do mesmo modo, o número de oócitos G1/2 (MAP, $4,3 \pm 0,9$; P4, $5,3 \pm 0,8$ e Controle, $3,7 \pm 0,7$), G3 (MAP, $1,4 \pm 0,5$; P4, $2,3 \pm 0,8$ e Controle, $2,0 \pm 0,6$) e G4 (MAP, $0,2 \pm 0,1$; P4, $0,5 \pm 0,2$ e Controle, $0,5 \pm 0,2$), assim como, a taxa de recuperação 61% (MAP), 80% (P4) e 67% (Controle) não diferiram entre os grupos. Em conclusão, a fonte de progestágeno utilizada durante o protocolo de estimulação ovariana não afeta a população folicular, e nem a qualidade dos oócitos. O suporte exógeno de progestágenos pode ser dispensado quando a ovulação pós-sincronização for confirmada pela ultrassonografia.

Eficiência da produção de embriões *in vivo* em bovinos utilizando sêmen sexado

Ana Cristina Silva de Figueiredo ^{1,2}, Carlos Antônio de Carvalho Fernandes ^{1,2}, Humberto Luis del Hoyo Neri ¹, Gustavo Henrique de Sousa Pereira ¹, Jéssica Ruiz Pereira ¹, João Henrique Moreira Viana ^{2,4}, Mauricio Rocha Vieira ³

¹Biotran - Biotran LTDA (Rua Tatuin, 447 - Alfenas, MG - Brasil), ²UNIFENAS - Universidade José do Rosário Velano (Rod. MG 179 - Km0 - Alfenas, MG - Brasil), ³Consulte - Consulte Embriões (Governadores Valadares, Minas Gerais, Brasil), ⁴Embrapa Cenargen - Embrapa Recursos Genéticos (Brasília, DF, Brasil)

Segundo as estatísticas do IETS (Viana et al., 2017), no Brasil, a produção de embriões *in vitro* (PIVE) é superior à produção *in vivo*, antigamente chamada de transferência de embriões, desde 2004. Mesmo com grande evolução, a PIVE ainda não consegue atingir, por questões de escala e logística, um grande número de propriedades que poderiam utilizar da multiplicação genética por

embriões. Principalmente os rebanhos leiteiros, não utilizam a PIVE por tal motivo, também não utilizam a produção *in vivo*, pelos resultados ruins observados com sêmen sexado. Nos últimos anos, houve evoluções nos protocolos de superovulação e também na qualidade do sêmen sexado. O objetivo deste estudo foi determinar a eficiência técnica e econômica da produção de embriões bovinos *in vivo*, utilizando sêmen sexado. Foram utilizadas 20 doadoras da raça girolando, ½ sangue, nulíparas, com idade entre 16 e 22 meses. Foram superovuladas com 180mg de Folltropin® (Vetoquinol) num esquema de doses decrescentes. O protocolo de superovulação foi o seguinte: D0 – implante de progesterona; D1 – 2 mg de benzoato de estradiol IM, D5 a D8 – aplicações de Folltropin a cada 12 horas. No D7 a tarde foi aplicado 0,5mg de Cloprostenol e no D8 pela manhã o implante foi removido. A partir de D9 o estro foi observado. No início do estro foi aplicado 0,05mg de Gonadorelina. Foram feitas duas inseminações, utilizando sêmen sexado de touros da raça holandesa, 18 e 30 horas após a aplicação do análogo do GnRH. As colheitas foram feitas sete dias após a 1ª inseminação. Os ovários foram avaliados por ultrassonografia (Mindray - M5™) em D9 para verificação dos folículos e no dia da colheita para mensuração dos corpos lúteos (CL). Foram contabilizados os custos envolvidos no processo. O total de folículos >9mm por doadora em D9 foi de 16,2±8,5. A média de CLs foi de 14,4±7,6, indicando taxa de ovulação de 88,8%, e boa eficiência do protocolo utilizado. Foram coletados em média 8,1±6,8 estruturas, sendo 5,7±3,9 embriões viáveis, 1,3±1,1 degenerados e 1,1±0,9 não fecundados. O custo total por doadora foi de R\$ 758,50, considerando os hormônios (R\$ 207,60), meios (R\$ 27,50), materiais descartáveis (R\$ 67,20), duas doses de sêmen sexado (R\$ 176,20) e honorários (R\$ 280,00). Com este gasto total de R\$ 758,50 e uma produção média de 6,7 embriões viáveis, tem-se um custo médio de produção de cada embrião viável com sêmen sexado de R\$133,00. Pelos resultados de produção de embriões obtidos, pode-se afirmar que a multiplicação genética dos rebanhos utilizando embriões produzidos *in vivo*, com sêmen sexado é tecnicamente viável. Adicionalmente, o custo final de cada embrião também é competitivo, ao se comparar com os custos de produção *in vitro*, hoje praticados no mercado. Conclui-se que a produção de embriões bovinos *in vivo* com sêmen sexado é viável, técnica e economicamente.

Agradecimentos: Vetoquinol, Biotran, CNPq e Fapemig.

A insulina como possível modulador de genes das células da granulosa ligados ao desenvolvimento folicular

Giuliana de Avila Ferronato^{1,2}, Joao Alveiro Alvarado Rincón^{1,2}, Andressa Stein Maffi^{1,2}, Bruna Mion¹, Cassio Cassal Brauner^{1,2}, Fernando Caetano de Oliveira¹, Cristina Sangoi Haas¹, Eduardo Schmitt^{1,2}

¹ UFPel - Universidade Federal de Pelotas (Campus Capão do Leão), ² NUPEEC - Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária (UFPel, Campus Capão do Leão, RS)

Estudos demonstram grande número de receptores de insulina em folículos pré-ovulatórios, indicando um papel para a insulina nesse período. O objetivo do estudo foi verificar a capacidade da insulina em modular a expressão de genes relacionados ao desenvolvimento folicular em vacas leiteiras. Foram utilizadas 10 vacas Jersey, múltiparas, não gestantes, não lactantes,

submetidas a um protocolo hormonal de sincronização da onda folicular baseado na utilização de P4 e estradiol (E2). No dia 8 do protocolo, após a retirada da P4, as vacas foram divididas em dois grupos. Duas vacas não responderam ao protocolo hormonal e foram excluídas do estudo. O grupo tratamento (n=4) recebeu uma dose única de 0,25 UI/kg s.c. de insulina humana (Novolin® N, Novo Nordisk, Bagsvaerd, Dinamarca) e, o grupo controle (n=4) 1 mL de solução salina s.c. (NaCl 0,9%). O folículo dominante de cada vaca foi aspirado 16h após o tratamento (dia 9), para avaliação de glicose intrafolicular e coleta das células da granulosa para as análises de expressão gênica, realizadas conforme descrito previamente (Campos et al., *Theriogenology* 89:244-249, 2017). Nas células da granulosa foram analisados os genes *IGFBP2* (*insulin like growth factor binding protein2*) e *PAPPA* (*pappalysin 1*), utilizando como controle os genes endógenos *HIST1H2AC* (*histone H2A type 1-C*) e *RN18S1* (*18S ribosomal RNA*). Adicionalmente foram realizadas coletas de sangue no dia 8 e 9 para avaliação de glicose sérica (Labtest Diagnóstica S.A., Lagoa Santa, MG, Brasil). Os resultados foram analisados no programa NCSS (2005), utilizando o teste de medidas repetidas para os níveis de glicose e no GraphPad Prism 5 (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, USA) utilizando o teste t para analisar a expressão gênica. Os níveis de glicose sérica foram menores no grupo tratamento (41,2±4,2 mg/dL) em relação ao grupo controle (64,5±4,2 mg/dL, $P<0,05$), porém não diferiram a nível folicular entre os grupos (69,7±3,3 mg/dL e 62,2±3,3 mg/dL, respectivamente, $P=0,16$). No grupo tratamento a expressão relativa de mRNA de *IGFB2* foi menor do que no grupo controle ($P<0,001$) e houve tendência a uma maior expressão relativa de mRNA de *PAPPA* ($P=0,06$). No ovário a *PAPPA* realiza a clivagem proteolítica de *IGFBPs* e as *IGFBPs* regulam a biodisponibilidade do IGF1. Assim, a menor expressão de *IGFBP2* no grupo tratado com insulina, pode estar associada ao aumento da disponibilidade de IGF1, visto que, existe uma correlação negativa entre as concentrações de IGF1 livre e os níveis de *IGFBP-2*. Sugerindo um potencial benéfico, uma vez que o IGF1 atua como modulador da ação das gonadotrofinas no ovário, estimulando a proliferação e diferenciação celular da granulosa e da teca e prevenindo a apoptose folicular. Conclui-se que a insulina pode modular a expressão dos genes *IGFB2* e *PAPPA* nas células da granulosa, mediadores do desenvolvimento folicular através da disponibilidade de IGF1.

A adição de eCG no dia 2 de um protocolo de superovulação aumenta a produção de embriões em vacas doadoras da raça Aberdeen Angus

Javier Irouleguy Javier Irouleguy¹, Manuel Agustin Silva Manuel Agustin Silva², Joaquin Chiozza Logroño Joaquin Chiozza Logroño³, Santiago Perez Wallace Santiago Pérez Wallace²

¹ *Tres Marias Embriones - Tres Marias Embriones (Av. Constitución 320, Benito Juarez, Buenos Aires, Argentina)*, ² *Zoetis Argentina - Zoetis Argentina (Av. Fondo de la Legua 1171, 2° Piso. San Isidro; Buenos Aires, Argentina)*, ³ *FCV, UNLP - Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata (Calle 60 s/n, La Plata, Buenos Aires, Argentina)*

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da adição de gonadotrofina coriônica equina (eCG) em um protocolo de superovulação com FSH sobre a produção de embriões em vacas Angus. O experimento foi realizado na Província de Buenos Aires (Argentina) onde 71 vacas Angus

doadoras de embriões foram sincronizadas como segue: D0= 5mg de 17 β estradiol (17 Beta Estradiol®, Rio de Janeiro, Argentina) + 10mg de P4 injetável (Progesterona®, Rio de Janeiro, Argentina) + inserção de um dispositivo intravaginal de 1g de P4 (DIB®, Zoetis, Argentina); D4= 100UI de FSH (Pluset®, Calier, Argentina) AM e PM; D5= 80UI de FSH AM e PM, D6= 70UI de FSH + 500 μ g de cloprostenol sódico (Ciclase DL®, Zoetis, Argentina) AM e PM, D7= retirada do dispositivo intravaginal de P4 AM + 50UI de FSH PM; D8 AM= 100ug de GnRH (Gonasyn®, Zoetis, Argentina); D8 PM= inseminação artificial (IA); D9 AM= IA; D15= coleta de embriões. No dia 2 do protocolo as vacas foram aleatoriamente distribuídas em dois grupos para receber 400UI de eCG (Novormon®, Zoetis, Argentina; Grupo eCG; n=35) ou para permanecer como controle (Grupo Controle; n=36). Utilizou-se a regressão logística do GLIMMIX PROCEDURE da versão 9.3 do SAS para analisar as seguintes variáveis: número de embriões transferíveis (TRANS), degenerados (DEG), oócitos não fertilizados (UFO), e todas as estruturas (TRANS+UFO+DEG). A percentagem de coletas que não deram embriões transferíveis foi também analisada. O tratamento com eCG incrementou o número de TRANS (7.65 \pm 5.75 vs 6.69 \pm 6.41; média \pm DP; P<0.001), DEG (3.82 \pm 5.82 vs 2.66 \pm 4.36; P<0.001), UFO (3 \pm 6.3 vs 2 \pm 3.29; P<0.001), e todas as estruturas (14.49 \pm 9.10 vs 11.36 \pm 9.31; P<0.001). A percentagem de coletas que não deram embriões transferíveis não foi diferente entre grupos [eCG= 8.6% (3/35) vs Controle= 19.4% (7/36); P=0.2]. Conclui-se que o tratamento com eCG no dia 2 de um protocolo de superovulação com FSH aumenta a resposta superovulatoria e o número de embriões transferíveis em vacas da raça Aberdeen Angus.

Retenção da meiose em ovócitos bovinos a serem utilizados na Transferência Intrafolicular De Ovócitos Imaturos (TIFOI)

Venâncio Augusto Silva ¹, Otávio Augusto Costa de Faria ², Luzia Renata Oliveira Dias ², Felipe Manoel Costa Caixeta ², José Felipe Warmling Sprícigo ³, Margot Alves Nunes Dode ⁴

¹ ICESP - Faculdades ICESP (Brasília, DF-Brasil), ² UnB - Universidade de Brasília (Brasília, DF-Brasil), ³ University of Guelph - Department of Animal Bioscience, University of Guelph, ON, Canada (Guelph, ON, Canada), ⁴ Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia - Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (Brasília, DF-Brasil)

Na transferência intrafolicular de ovócitos imaturos (TIFOI) os ovócitos são aspirados das doadoras e, então transferidos para as ovuladoras. Considerando que a remoção do ovócito do ambiente folicular provoca a retomada espontânea da meiose, é necessário evitar que esse processo aconteça para que não haja “envelhecimento” dos ovócitos. O presente estudo teve como objetivo avaliar a cinética nuclear dos ovócitos em diferentes meios de manipulação a serem utilizados na TIFOI. Os CCOs foram obtidos de ovários de abatedouro e toda a manipulação e seleção foi realizada em líquido folicular (LF). Após a seleção, um grupo de CCOs foi colocado diretamente na MIV (controle), os demais foram transferidos para um eppendorf contendo 500 μ l de LF (T1), solução de aspiração folicular consistindo de PBS suplementado com 1% soro fetal bovino e 0,02 % de heparina (T2) e solução de aspiração folicular com adição de 500 μ M de IBMX [(inibidor não específico de fosfodiesterase) (T3)]. Os CCOs permaneceram por três horas nos diferentes meios, sobre placa aquecedora (36° C). Após

este período, os ovócitos foram transferidos para meio MIV onde permaneceram por 22 h. Às 0, 9, e 22 h de MIV, amostras de ovócitos de todos os grupos foram retiradas para avaliação do estágio da meiose. Apenas para o grupo controle, amostras de ovócitos foram também retiradas as 12 h, o que foi utilizado para confirmar a eficiência dos tratamentos em reter a meiose. Os grupos de ovócitos foram desnudados mecanicamente, fixados por 48 horas em etanol e ácido acético, corados com lacmóide (45%). A avaliação dos estágios da meiose foi realizada em microscópio de contraste de fase (Nikon Eclipse E200, 1.000X) e os ovócitos foram classificados em: vesícula germinativa (VG), vesícula germinativa rompida (GVBD); metáfase I (MI), anáfase I (AI), telófase I (TI) e metáfase II (MII). Os dados de maturação nuclear foram analisados pelo Teste Chi-quadrado ($p < 0.05$). Um total de 293 ovócitos foram avaliados no grupo controle, às 0 (n=63), 9(n=76), 12(n=76) e 22h (n=78). Para os tratamentos com inibidores, um total de 587 ovócitos foram distribuídos entre T1 (n=214), T2 (n=179) e T3(n=194) às 9 e 22h. Às 0h, 98,4% dos ovócitos encontravam-se em VG. Após 9h de MIV, os grupos T1 (75,7%) e T3 (82,4%) apresentaram a maioria dos ovócitos em VGBD, semelhante ao grupo controle (72,4%). No grupo T2 apenas 11,8% encontravam-se em VGBD, taxa inferior ($P < 0,05$) aos demais tratamentos. Ainda com relação ao T2, foi observado após 9 h, 86% dos ovócitos em MI, semelhante aos 72,4% observado para o grupo controle às 12 h. Às 22h a maioria dos ovócitos em todos os grupos atingiu o estágio MII, não havendo diferença ($P > 0,05$) entre eles. Os resultados sugerem que os ovócitos podem permanecer por 3 horas em LF e Solução de Aspiração com IBMX e prosseguir com o desenvolvimento nuclear normalmente, sem prejuízos aos ovócitos. Portanto, ambas podem ser utilizadas como meio de manipulação para ovócitos antes da TIFOI.

Suporte: CNPq e Embrapa.

Tratamento com insulina não afeta o crescimento folicular e a esteroidogênese em bovinos

Joao Alveiro Alvarado Rincón¹, Andressa Stein Maffi¹, Bruna Mion², Bernardo Garziera Gasperin², Jéssica Lazzari¹, Cassio Cassal Brauner¹, Márcio Nunes Corrêa¹

¹ NUPEEC - Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária (Campus Universitário/UFPEL), ² UFPEL - Universidade Federal de Pelotas (Campus Universitário/UFPEL)

Estratégias para estimular o desenvolvimento folicular em protocolos de inseminação artificial são importantes, uma vez que se encontram associadas à eficiência reprodutiva. O objetivo deste estudo foi verificar o efeito da aplicação de insulina sobre o crescimento folicular e as concentrações de estradiol (E2), progesterona (P4) e glicose em vacas leiteiras. Foram utilizadas oito vacas da raça Jersey, múltíparas, não gestantes, não lactantes, com 459 ± 3 Kg e ECC de 2,9, mantidas sob as mesmas condições de manejo. No dia zero (D0) foram aspirados os folículos com diâmetro > 9 mm e fez-se a inserção de um dispositivo de P4 (1,0 g P4, Sincrogest®, Ouro fino, São Paulo, SP, Brasil), aplicação de 2 mg de benzoato de estradiol i.m. (Sincrodiol®, Ouro fino) e 12,5 mg de PGF2 α i.m. (Lutalyse®, Zoetis, São Paulo, SP, Brasil). No dia 6 (D6) e 8 (D8) realizou-se uma nova aplicação de 12,5 mg de PGF2 α i.m. No D8, fez-se a retirada da P4 e a aplicação do tratamento: grupo insulina (GI: n=4) recebeu uma única dose de 0,25 UI/kg s.c. de

insulina humana (Novolin® N, Novo Nordisk, Bagsvaerd, Dinamarca) e; o grupo controle (GC: n=4) recebeu 1 mL s.c. de solução salina (NaCl 0,9%). O diâmetro do folículo dominante foi mensurado através de ultrassonografia transretal a cada 24 h a partir do D6. Em D8 e D9, foram coletadas amostras de sangue através de punção do complexo arteriovenoso coccígeo. Dezesesseis horas (D9) após a aplicação do tratamento, foi coletado o fluido folicular (FF) através da aspiração do folículo dominante. As concentrações de E2 e P4 foram analisadas através de quimiluminescência (Beckman Coulter®, Brea, CA, EUA) e de glicose através de colorimetria (Labtest Diagnóstica SA, Lagoa Santa, MG, Brasil). A análise estatística foi realizada no software NCSS (2005), utilizando o teste One-way ANOVA para crescimento folicular, níveis de E2 e P4, e análise de dados repetidos para a dinâmica folicular e glicose, considerando significativos valores de $P \leq 0,05$ e tendência $P \leq 0,10$. O tratamento com insulina diminuiu os níveis de glicose sérica 16 h (D9) após o tratamento (GI: $41,2 \pm 4,2$ mg/dL e GC: $64,5 \pm 4,2$ mg/dL, $P=0,05$), porém, não afetou os níveis de glicose intrafolicular (GI: $62,2 \pm 3,3$ mg/dL e GC: $69,7 \pm 3,3$ mg/dL; $P=0,16$). A administração de insulina não afetou o diâmetro folicular em D9 (GI: $12,1 \pm 0,6$ mm e GC: $11,1 \pm 0,6$ mm; $P=0,88$), crescimento folicular entre D8 e D9 (GI: $2,1 \pm 0,4$ mm e GC: $1,7 \pm 0,4$ mm; $P=0,59$) e as concentrações de E2 (GI: $1977,5 \pm 372,7$ ng/mL e GC: $1732,5 \pm 372,7$ ng/mL, $P=0,65$). Embora tenha havido uma tendência ($P=0,08$) a menores níveis de progesterona no FF no grupo GI (GI: $52,7 \pm 12,7$ ng/mL e GC: $93,3 \pm 12,7$ ng/mL), a relação E2:P4 não foi afetada (GI: $43,9 \pm 9,7$ ng/mL e GC: $18,6 \pm 9,7$ ng/mL; $P=0,13$). Conclui-se que a aplicação de uma dose de insulina alterou os níveis de glicose sanguínea, porém não afetou os níveis de glicose intrafolicular, o crescimento folicular e as concentrações de estradiol e progesterona.

Efeitos da superexpressão de Mitofusina 1 e 2 durante crescimento de oócitos murinos in vitro

Karen Freire Carvalho ^{1,2}, Marcos Roberto Chiaratti ¹, Hugh Clarke ²

¹ UFSCar - Universidade Federal de São Carlos (São Carlos, São Paulo, Brasil), ² McGill - McGill University (Montreal, Quebec, Canadá)

O papel determinante das mitocôndrias na regulação do desenvolvimento folicular e no crescimento de oócitos está emergindo da pesquisa básica em espécies-modelo e estudos clínicos sobre a infertilidade feminina. A atividade mitocondrial depende principalmente da dinâmica dessa organela, que por sua vez é dependente de eventos de fusão e fissão. A fusão mitocondrial depende da atividade das mitofusinas 1 e 2 (MFN1 e MFN2) e da proteína de atrofia ótica 1 (OPA1). Estudos recentes determinaram que o knockout condicional (cKO) de *Mfn1* no oócito afeta a foliculogênese, resultando no bloqueio do desenvolvimento do oócito, com a consequente falha da ovulação e infertilidade feminina. Em contrapartida, a cKO de *Mfn1* e *Mfn2* leva a um fenótipo mais brando, onde os oócitos são capazes de crescer, mas interrompem a progressão meiótica com a ovulação, levando as fêmeas à infertilidade. Além disso, *Mfn2* cKO não parece afetar a foliculogênese ou o crescimento do oócito, afetando a ovulação e a fertilidade sutilmente (dados não publicados). Para investigar se o balanço entre MFN1 e MFN2 desempenha um papel no crescimento e desenvolvimento de oócitos, foram coletados complexos oócitos-células da

granulosa (GOC) de camundongas com 12 dias de idade, injetados com cRNAs de MFN2 ou MFN1+MFN2 para promover superexpressão e cultivados por 7 dias. Após a cultura, os oócitos foram avaliados quanto à organização da cromatina, ao diâmetro e a quantidade de mTOR fosforilada (pmTOR). Os dados foram avaliados por ANOVA seguido por teste postoc de Duncan ($P=0,05$). A avaliação da organização da cromatina não mostrou diferenças significativas entre os grupos quanto à relação nucléolo em torno do nucléolo/não circundante. Entretanto, os oócitos superexpressando MFN2 apresentaram comprometimento grave do crescimento, atingindo um diâmetro médio de $67,60 \pm 0,60 \mu\text{m}$, enquanto os oócitos controle injetados alcançaram um valor médio de $77,25 \pm 0,60 \mu\text{m}$, e os oócitos superexpressando MFN1+MFN2, $74,86 \pm 1,02 \mu\text{m}$, valor estatisticamente intermediário ($P < 0,001$). Além disso, a análise de quantidade de proteína mostrou que os oócitos superexpressando MFN2 e MFN1+MFN2 apresentaram níveis mais baixos de pmTOR, $0,35 \pm 0,12$ e $0,39 \pm 0,14$, respectivamente, em comparação ao controle, 1 ($P=0,0094$). Estes resultados mostram que o excesso de MFN2 em relação ao MFN1 é prejudicial ao crescimento do oócito e está inibindo importantes substratos da via PI3K/PTEN, os complexos mTOR. A ativação dessas vias é importante para o crescimento e desenvolvimento dos oócitos, pois levam a uma maior tradução de proteínas, crescimento celular e secreção de GDF9 e BMP15. Em conclusão, este trabalho mostra que a superexpressão de MFN1 e MFN2 durante o desenvolvimento do oócito resulta em um efeito mais suave quando comparado com a superexpressão somente de MFN2, sugerindo importante papel da relação MFN1/MFN2 e Dinâmica Mitocondrial durante o desenvolvimento do oócito.

Suporte Financeiro: FAPESP (2016/11942-5 e 2017/16234-1).

4) Fisiologia da reprodução no macho e tecnologia do sêmen

Efeito do GnRH sobre a temperatura de superfície escrotal, volume testicular e parâmetros espermáticos de touros com baixa qualidade seminal

Narian Romanello ¹, Daniela Botta ², Alessandro Giro ², Ana Beatriz Bossois Moura ³, Messy Hannear de Andrade Pantoja ², Andréa do Nascimento Barreto ², Marco Antonio de Paula Sousa ², Caio Augusto Volante ^{4,5}, Alexandre Rossetto Garcia ⁴

¹ FMVZ/USP - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia/USP (Pirassununga-SP), ² UFPA - Universidade Federal do Pará (Castanhal-PA), ³ UFF - Universidade Federal Fluminense (Niterói-RJ), ⁴ Embrapa/CPPSE - Embrapa Pecuária Sudeste (São Carlos-SP), ⁵ FAPESP - Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (São Paulo-SP)

A espermatogênese é coordenada pelo eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal, regida pela secreção de GnRH. A resposta testicular acontece localmente, mas disfunções podem ser originadas por estímulo central ineficiente, justificando o uso do GnRH para tentar incrementar parâmetros reprodutivos masculinos (CONTRI et al., Vet Quart 32:5154,2012). Assim, o objetivo do estudo foi avaliar o tratamento com GnRH sobre a temperatura da superfície escrotal, volume testicular e parâmetros seminais de touros com baixa qualidade seminal. O experimento

foi conduzido na Embrapa, São Carlos-SP. Foram usados 5 touros bovinos da raça Canchim, (37,6±6,4 meses; 667,4±22,9 kg; 6,3±0,1 ECC), mantidos a pasto. Os animais passaram por avaliação andrológica, e foram classificados tendo baixa qualidade seminal, segundo critérios preconizados (CBRA,2013). O tratamento consistiu na administração i.v. de análogo de GnRH (gonadorelina 100µg/48horas) em 3 aplicações. Termogramas escrotais foram registrados (T300 FLIRSystems®) em condição ambiental controlada, no período matutino, para avaliar a temperatura média da superfície escrotal (TES,°C), após 0 (T0), 120 (T120) e 180 (T180) minutos da administração hormonal. O volume testicular (V,cm³) foi calculado após mensuração do comprimento e largura testiculares (Bailey et al., Theriog 49:581-94,1998) e o sêmen foi colhido por eletroejaculação. Foram realizadas duas avaliações de dados biométricos e de qualidade seminal antes do tratamento hormonal e seis avaliações das mesmas variáveis após o tratamento. As variáveis consideradas foram: integridade de membrana espermática (IMP, %) e defeitos morfológicos totais (DEF, %). Os dados oriundos de delineamento inteiramente casualizado foram submetidos à análise de variância com o MIXED do SAS e as médias comparadas com teste de Tukey (P<0,05). A TES não apresentou diferença entre tempos (T0: 34,1±0,17; T120: 34,2±0,11 e T180: 34,6±0,14°C, P>0,05). Também não houve influência do tratamento no volume dos testículos (V=273,4±20,64 vs 321,3±37,34 cm³, P>0,05) e nos parâmetros de qualidade seminal (IMP=54,9±7,2 vs 44,1±8,1%; DEF=18,0±4,4 vs 17,7±4,7%, P>0,05), considerando as médias antes e após o tratamento. A fertilidade de touros é influenciada pela termorregulação testicular, a qual não foi alterada pela administração hormonal, uma vez que a temperatura escrotal se manteve dentro da faixa adequada à espermatogênese em bovinos (2 a 6 °C abaixo da temperatura corporal). O aumento da temperatura escrotal pode levar à degeneração testicular, que apresenta em estágio inicial redução do volume testicular, associado a incremento no número de células com membrana plasmática lesada e com defeitos morfológicos. Conclui-se que a aplicação do análogo de GnRH manteve o sistema termorregulatório escrotal funcional, mas não alterou os padrões de biometria testicular e espermáticos de touros com baixa qualidade seminal.

Apoio: Embrapa (BIOTEC #01.13.06.001.05.04 e Adapt+ #02.12.02.008.00.03), CAPES e CNPq.

Influência da temperatura de transporte sobre a produção de espécies reativas de oxigênio de ovários bovinos

Camila Bizarro da Silva ¹, Larissa Zamparone Bergamo ¹, Camila Bortoliero Costa ¹, Miriam Sayuri Nagashima Hohmann ¹, Waldiceu Aparecido Verri Junior ¹, Marcelo Marcondes Seneda ¹

¹ UEL - Universidade Estadual de Londrina (Rodovia Celso Garcia Cid, PR 445, Km 380)

O oxigênio é essencial para a oxidação de compostos orgânicos e produção de energia para o metabolismo celular. No entanto, parte desse oxigênio é reduzido, produzindo diversas substâncias químicas altamente reativas. Estas substâncias são denominadas espécies reativas de oxigênio (ERO), que podem provocar injúria tecidual e, em altas concentrações, danificar organelas celulares, ácidos nucleicos, lipídeos e proteínas. O objetivo do presente estudo foi determinar o efeito da temperatura de transporte de ovários de fêmeas *Bos taurus indicus* sobre a

produção de ERO. A partir de ovários (n = 12) coletados em abatedouro local, foram obtidos fragmentos do córtex ovariano (n = 18) com auxílio de *punch* estéril (5 mm) e transportados (40 min) individualmente em solução de Meio Essencial Mínimo (MEM) em uma de três temperaturas: i) -196°C; ii) 4°C; e iii) 27°C. Para avaliação das ERO utilizou-se a medição da produção de ânions superóxido em homogenatos de tecidos (10 mg/mL em 1,15% KCl) com ensaio de nitroazul de tetrazólio modificado (NBT) para quantificar a produção de oxigênio livre no homogenato de tecido. A redução do NBT foi medida em 600 nm (Multiskan GO, Thermo Scientific) e a massa do tecido foi utilizada para normalização dos dados. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Observou-se que as amostras transportadas à temperatura -196°C apresentou valores semelhantes de redução do ânion superóxido (16,2 DO/mg proteína $\pm 1,29$) com as amostras transportadas à temperatura de 4°C (15,8 DO/mg proteína $\pm 1,03$; $p \leq 0,91$; $P > 0,05$). Nossos resultados mostraram um efeito da temperatura de transporte por 40 minutos sobre a produção de ERO em ovários bovinos. Desta maneira, concluímos que as temperaturas de transporte mais elevadas afetam diferencialmente a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) de ovários de fêmeas *Bos taurus indicus*.

Perfil bioquímico do plasma seminal de catetos obtido durante o período seco em clima semiárido

Alexandre Rodrigues Silva¹, Samara Sandy Jerônimo Moreira¹, Ana Liza Paz Souza¹, Andreia Maria Silva¹, Lívia Batista Campos¹, Erica Camila Gurgel Praxedes¹, Alexsandra Fernandes Pereira¹, Moacir Franco Oliveira¹

¹ UFERSA - Universidade Federal Rural do Semi-Árido (BR 110, Km 47, s/n, Bairro Presidente Costa e Silva, Mossoró, RN)

Os catetos (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758) são amplamente distribuídos e bem adaptados ao cativeiro. Estes têm sido criados para fins comerciais e usados como modelos experimentais para espécies próximas, como o *Tayassu pecari* e *Catagonus wagneri*. Nesse sentido, o conhecimento sobre seus aspectos reprodutivos é de extrema importância para o desenvolvimento de técnicas de reprodução assistida visando sua conservação e multiplicação. Portanto, objetivou-se caracterizar o perfil bioquímico do plasma seminal e verificar a existência de relações entre os componentes bioquímicos e as características seminais de catetos criados em condições semiáridas. Dezesesseis machos adultos foram contidos com rede e anestesiados com Propofol (5 mg/kg) em bolus endovenoso. Um ejaculado por indivíduo foi obtido por eletroejaculação e avaliado quanto ao volume, pH, motilidade, vigor, concentração, integridade e funcionalidade da membrana, morfologia e condensação da cromatina. As amostras foram centrifugadas a 385 xg por 10 minutos e o sobrenadante armazenado a -20° C. Subsequentemente, as amostras foram aquecidas a 25° C durante 2 minutos e avaliadas quanto a bioquímica a partir de kits comerciais. As absorvâncias foram mensuradas em espectrofotômetro de acordo com os comprimentos de ondas indicados para cada análise. Os resultados foram expressos em média e erro e a existência de relações entre os constituintes bioquímicos e as características seminais foram verificadas através do teste de correlação de Spearman ($P < 0,05$). Os ejaculados apresentaram volume de $2 \pm 0,3$ mL, pH $7,8 \pm 0,2$ e $208,8 \pm 41,7 \times 10^6$ espermatozoides por mL, sendo $84,1 \pm 5,3\%$

espermatozoides móveis, 84,3±1,9% de integridade de membrana, 78,25±4,37% de membrana funcional, 76,6±4,7% de espermatozoides morfológicamente normais e 93,7±5,9% de cromatina condensada. Pela análise bioquímica foram encontrados: ácido cítrico (170,5±43,4 mg/dL), frutose (97,2±31,8mg/dL), frutossamina (519,9±122,5µmol/L), cálcio (16,1±3,7 mg/dL), colesterol (137,4±27,9 mg/dL), proteínas totais (6,5±1,8 g/dL), triglicérides (1427±782,3 mg/dL), magnésio (5,8±0,4 mg/dL), cloretos (415,1±153,9 mEq/L), albumina (34,2±23,3 g/dL) e fósforo (249,2±237,1 mg/dL). Uma correlação positiva foi identificada entre a integridade da membrana espermática e as proteínas totais ($r = 0,66$; $P < 0,01$); por outro lado, a integridade da membrana espermática foi correlacionada negativamente com os níveis de magnésio ($r = -0,59$; $P < 0,028$). Em conclusão, esta é a primeira descrição do perfil bioquímico do plasma seminal de catetos e foi claramente demonstrado que alguns componentes bioquímicos (proteínas totais e magnésio) podem influenciar a integridade de sua membrana espermática.

Influência da centrifugação em camada única de sílica coloidal equina na congelação do sêmen canino

Amarildo Marciano Rosa ¹, Hugo Darcádia ¹, Marilu Gioso ², Pedro Ivo Sodré ¹, Tatiana Saito ¹, Ana Augusta Pagnano Derussi ¹

¹ UNIFENAS - Universidade José do Rosário Vellano (Alfenas-MG), ² Universidade Cruzeiro do Sul - Universidade Cruzeiro do Sul (São Paulo)

A congelação de sêmen canino é utilizada para facilitar o manejo de colônias de cães e também para preservar o material genético de machos com alto valor zootécnico e/ou afetivo. Nosso objetivo foi avaliar a influência do uso da camada única de sílica coloidal equina-Androcoll-E® (Minitube, Germany) na congelação do sêmen canino. Para isso, 5 cães, de raças distintas, com características seminais satisfatórias (CBRA, Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal, 104, 2013) foram utilizados. Sete ejaculados/animal foram coletados e subdivididos, formando: Grupo A- amostras centrifugadas a 300g, por 10 minutos, utilizando Androcoll-E® e Grupo E- amostras centrifugadas a 700g, por 10 minutos, utilizando o meio CaniPlus Enhance® (Minitube; Germany). Foi realizado o descarte do sobrenadante, a ressuspensão do pellet em CaniPlus Enhance® (1mL de meio/100x10⁶espermatozóides), o envase (25x10⁶ espermatozoides móveis/palheta), a refrigeração (2 a 6°C por 2 horas), a congelação (20 minutos em N₂, a -196°C) e a descongelação (a 37°C por 60 segundos). Após isso, as amostras foram centrifugadas originando 4 subgrupos (16 palhetas/animal/subgrupo): AA (Androcoll-E® na etapa de pré- e pós-descongelação), AE (Androcoll-E® na etapa pré congelação e CaniPlus Enhance® na pós descongelação), EA (CaniPlus Enhance® na pré congelação e Androcoll-E® na pós descongelação) e EE (CaniPlus Enhance® na pré- e pós-descongelação). A análise da concentração, morfologia, vigor, integridade de membrana, motilidade subjetiva e computadorizada foi realizada. Teste de variância, Tukey e Kruskal Wallis foram usados, considerando $P < 0,05$. Não houve diferença entre os grupos em relação à: recuperação espermática, motilidade subjetiva, vigor e integridade de membrana. Na análise da motilidade computadorizada, os melhores resultados em relação a velocidade média da trajetória (VAP) e curvilínea (VCL) ocorreram no grupo EE, enquanto o batimento flagelar cruzado (BCF)

e a retilinearidade (STR) ocorreram no grupo EA e a linearidade (LIN) no grupo AA. Em relação as patologias espermáticas o grupo EA foi o que apresentou maior porcentagem de células normais (95%) enquanto no grupo AE, os defeitos menores (23%) e maiores foram superiores aos aceitáveis (12%). Não houve melhora evidente de todos os parâmetros seminais, assim como relatado por Morrel et al. (Animal Reproduction, 3: 340-345, 2016) quando utilizada a sílica específica para cães, no entanto, o uso da sílica coloidal equina demonstrou ser uma boa alternativa no processo de congelamento seminal canina, já que sua utilização após descongelamento (grupo EA) foi eficaz em selecionar uma maior porcentagem de espermatozoides morfológicamente normais.

Expressão gênica do fator de crescimento semelhante à insulina em testículos de ratos Wistar sob diferentes modalidades de treinamento físico

Patrik Junior de Lima Paz¹, Tatiane dos Santos Bruno¹, Andressa Fernanda de Oliveira Magalhães¹, Gabriela da Silva Pinho¹, Vanessa da Silva Alves Gossler¹, Francislaine Anelize Garcia Santos², Aline de Oliveira Santos¹, Robson Chacon Castoldi¹, Guilherme Akio Tamura Ozaki³, Caliê Castilho¹, Mayara de Oliveira Vidotto-Figueiredo¹, Ines Cristina Giometti¹

¹ UNOESTE - Universidade do Oeste Paulista (Rodovia Raposo Tavares, Km 572, Bairro Limoeiro, Presidente Prudente (SP), Brasil.), ² USP - Universidade de São Paulo (Av. Prof. Dr. Orlando Marques Paiva, 87, São Paulo (SP), Brasil.), ³ UNICAMP - Universidade Estadual de Campinas (Rua Tesália Vieira de Camargo, 126, Campinas (SP), Brasil.)

O exercício físico de forma geral provoca alterações anabólicas nos tecidos corporais. Tal efeito é resultante do estresse provocado pelo exercício que apresenta variações de acordo com a modalidade utilizada, nesse contexto, o presente estudo (CEUA número 3400) avaliou as alterações promovidas pelo exercício, aeróbio e anaeróbio, na expressão gênica de *Igf1* nos testículos. Para tanto, os testículos foram colhidos de ratos, divididos em 5 grupos (n=7): Controle (CT); Treinamento Aeróbio em Natação (TAN); Treinamento Aeróbio em Esteira Rolante (TAE); Treinamento Resistido em Escalada (TRE) e Treinamento Resistido em meio aquático (TRA). Os animais dos grupos TAN e TAE foram avaliados quanto a sua capacidade aeróbia por meio do teste de lactato mínimo (Lan), para determinação da carga de treinamento, os grupos TRE e TRA realizaram teste de força máxima para o mesmo fim. Após 4 semanas de treinamento os animais foram eutanasiados e os testículos foram colhidos e armazenados no freezer a -80°C. Os testículos armazenados foram analisados por RT-qPCR quanto à expressão gênica quantitativa do *Igf1*. A análise estatística dos dados relativos de expressão gênica foi ANOVA seguida de Tukey, diferenças foram consideradas para P<0,05. Houve diferença significativa entre os grupos na expressão gênica relativa de *Igf1* nos testículos, sendo menor no CT (0,44±0,16) que no TAE (2,16±0,44, P<0,05) ou no TRA (3,04±0,28, P<0,001). Os grupos TAN (1,23±0,36) e TRE (1,45±0,40) também exibiram menor expressão gênica de *Igf1* que o TRA (P<0,05). Conclui-se que a modalidade de treinamento físico interfere na expressão gênica de *Igf1* testicular, sendo que o treinamento resistido em meio aquático induz a uma maior abundância relativa de RNAm para *Igf1*.

Apoio: UNOESTE.

5) *Embriologia, biologia do desenvolvimento e fisiologia da reprodução*

Avaliação da eficiência do dispositivo Ovalert como preditor de cio em vacas Holandesas

Mariana Dulce Delle Vedove Ortolan Sayeg¹, Marcos Henrique Ancantara Colli¹, Laisa Garcia da Silva¹, Bárbara Piffero Mello¹, Mariana Pallu Viziack¹, Diego Marcondes Guerra¹, Alexandre Henrily Souza¹, Fábio De Carvalho Lahr¹, Rodolfo Daniel Mingoti¹, Pietro Sampaio Baruselli¹

¹ USP - FMVZ (São Paulo)

A observação de cio é um dos principais desafios encontrados nas propriedades de leite em todo o Brasil. Sistemas de monitoramento de cio eletrônico como o Ovalert (CRV Lagoa, Brasil) podem ser aplicados ao manejo reprodutivo, identificando quais animais estão em cio, aumentando a taxa de serviço e taxa de prenhez e melhorando a performance econômica da fazenda. Os objetivos deste trabalho foram avaliar a eficiência do dispositivo Ovalert como preditor de cio em vacas holandesas, verificar se há correlação entre a intensidade de cio determinada pelo aparelho com o tamanho do folículo pré-ovulatório e determinar se vacas em stress térmico tem menor expressão de cio. Para isso 45 vacas da raça Holandesa receberam um colar identificador de cio Ovalert. Posteriormente, elas foram sincronizadas com dispositivo de 750mg de progesterona (Proclivar®, Hertape Calier) associado a 2mg de Benzoato de Estradiol (BE, Sincrodiol®, Ourofino Saúde Animal) no dia 0. No dia 8 o dispositivo de progesterona foi retirado, todos os animais receberam um bottom intravaginal que afere a temperatura a cada 10 minutos, um adesivo identificador de monta Estrotec™, além de 0,5mg i.m, de Cloprostenol Sódico (Sincrocio®, Ouro Fino Saúde Animal). Exames ultrassonográficos foram realizados duas vezes ao dia entre os dias 8 e 14 para avaliar o tamanho do folículo ovulatórios e no dia 20 para confirmar a presença de corpo lúteo (taxa de ovulação). A partir do dia 9 até o dia 14 do protocolo foi observado cio por 1 hora duas vezes ao dia. As análises estatísticas foram realizadas pelo procedimento GLIMMIX do SAS®. O dispositivo Ovalert mostrou-se eficaz tanto quanto o Estrotec™ na detecção de cio e ambos se mostraram melhor do que a detecção de cio por observação visual (55,5%^a x 57,7%^a x 35,5%^b). Nenhuma correlação foi encontrada entre a intensidade de cio determinada pelo Ovalert e o tamanho do folículo ovulatório (P=0,91). Para analisar a influência da temperatura na eficiência detecção de cio pelo Ovalert os animais foram divididos em 3 grupos. Grupo 1: vacas que ficaram até 24,9% do tempo com a temperatura vaginal acima de 39,1°C; Grupo 2: 25% a 49,9% do tempo com a temperatura vaginal acima de 39,1°C; Grupo 3: Vacas que possuíam temperatura vaginal acima de 39,1°C por 50% tempo ou mais. A temperatura média dos grupos foi de 38,75±0.03^a, 39,02±0.02^b e 39,31±0.04^c respectivamente. Não foi verificada, em nenhum dos grupos, diferenças na taxa de detecção de cio pelo Ovalert (55,56%; 61,54% e 55% P=0.35); Estrotec (66,67%; 76,92%; 50% P=0.35) e observação de cio (55,56%; 38,46%; 30% P=0.45). O presente trabalho pôde concluir que o dispositivo Ovalert é eficiente na detecção de cio de vacas holandesas, porém que a intensidade de cio determinada pelo aparelho não pode ser utilizada como preditor do tamanho

do folículo ovulatórios verificou-se também que vacas com temperatura $\geq 39,1^{\circ}\text{C}$ em 50% do tempo ou mais não alteraram seu comportamento de cio em nenhum dos métodos de detecção.

Efeitos de um cultivo pré-MIV com esteroides e NPPC por 12 e 24 horas sobre a configuração da cromatina em oócitos bovinos

Isabela Lima Gama ¹, Ana Caroline Silva Soares ¹, Jhessica Naomi Sakoda ¹, José Buratini ¹

¹UNESP - Universidade Estadual Paulista (Distrito de Rubião Junior-Botucatu/SP)

A qualidade dos oócitos é crucial para as tecnologias de reprodução assistida aplicada em animais e seres humanos. Os oócitos maturados *in vitro* são menos competentes para se tornarem fertilizados e avançarem para o estágio de blastocisto em relação ao oócito maturado *in vivo*. Recentemente, propusemos um sistema de cultivo em duas etapas para MIV, capaz de conter a quebra da vesícula germinativa (GVBD) por 9 horas durante a primeira etapa de cultivo e melhorar a qualidade embrionária após MIV/FIV. Neste estudo, com o objetivo de testar a eficácia desse sistema de cultivo para manter a maturação nuclear do oócito, avaliamos a configuração da cromatina e as taxas de GVBD após 0, 12 e 24 horas da etapa de cultivo pré-MIV. Ovários bovinos (predominantemente Nelore, *Bos indicus*) foram obtidos de abatedouro local, os COCs foram aspirados de folículos de 3-8 mm e 20-30 oócitos foram divididos em três grupos para serem cultivados por 0h (controle), 12h e 24h. A pré-MIV foi cultivada em meio básico (TCM199 suplementado com BSA, amicacina, peptídeo natriurético tipo C (NPPC), estradiol, progesterona, androstenediona e r-hFSH (PCT No. 201690005). Após o cultivo, os oócitos foram desnudados mecanicamente, fixados e corados com Hoechst 33342 para avaliação da configuração da cromatina com microscopia de fluorescência. A vesícula germinativa (GV) foi classificada como GV0, GV1, GV2, GV3, GVBD, MI (metáfase I), MII (metáfase II) e DEG (degenerado). Os dados foram transformados em arco-seno e os grupos comparados pelo teste de Tukey ou teste de Wilcoxon quando os dados não foram paramétricos. Diferenças foram consideradas significativas quando $P < 0,05$. O padrão de classificação de GV a 0h (grupo controle; n=110 oócitos de 4 réplicas), foi de 2,5% em GV1, 40,1% em GV2, 54,5% em GV3, 1,0% em GVBD e 1,9% DEG. Após pré-MIV por 12h (n=107 oócitos de 4 réplicas), 0,9% oócitos estavam em GV1, 27,1% em GV2, 49,5% em GV3, 20,7% em GVBD e 1,8% DEG. Após pré-MIV por 24h (n=92 oócitos de 4 réplicas), encontrou-se 2,8% oócitos em GV1, 17,4% em GV2, 6,4% em GV3, 32,3% em GVBD e 41,1% DEG. Portanto, o tempo de cultivo não alterou a porcentagem de oócitos em GV1, mas diminuiu a porcentagem de oócitos no estágio de GV2, que foi significativamente maior em 0h em comparação com 24h. Após a pré-MIV por 24h, houve diminuição na porcentagem de oócitos em GV3, enquanto a taxa de GVBD aumentou gradualmente com o tempo. Em conclusão, a etapa de cultivo pré-MIV testada não é capaz de prevenir inteiramente a GVBD por 12h em oócitos bovinos de abatedouro. Além disso, o cultivo pré-MIV durante 24h leva à degeneração da cromatina e não é adequada para MIV/FIV.

Agradecimentos: CAPES, FAPESP.

Antecipação da primeira ovulação do ano em éguas

Mariana Fernandes de Souza ¹, Gabriel Almeida Dutra ¹, Rita de Cássia Lima Morais ¹, Thadeu de Castro ¹, Giselle Stefani ¹, Marcus André Ferreira Sá ¹, Diego Rodrigues Gomes ¹, Natália de Figueiredo ¹, Julio César Ferraz Jacob ¹

¹UFRRJ - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (Seropédica - RJ)

Pesquisas vêm buscando compreender os mecanismos que determinam a sazonalidade reprodutiva. Protocolos bem-sucedidos que estimulam a ciclicidade ovariana em éguas para superar o anestro de inverno e/ou prolongada fase de transição são de interesse para a indústria equina. Várias estratégias terapêuticas têm sido testadas a fim de adiantar a primeira ovulação (OV) e antecipar a fase reprodutiva das éguas. O presente estudo teve como objetivo avaliar se a técnica de aspiração folicular transvaginal guiada por ultrassom, associada à administração de PGF2 α durante o período de transição primaveril, foi capaz de induzir a ciclicidade em éguas. O experimento foi realizado na área de Reprodução Animal do DRAA/IZ/UFRRJ, durante o período de transição primaveril (agosto e setembro) de 2015. Foram selecionadas 18 éguas da raça Mangalarga Marchador, entre 5-12 anos, pesando entre 350-450 kg e com histórico de atividade reprodutiva normal. As éguas selecionadas foram distribuídas aleatoriamente em dois grupos: Grupo 1- Controle (GI; n=9), sem tratamento hormonal; Grupo 2- Aspiração folicular transvaginal + PGF2 α (Lutalyse®, Zoetis, Campinas, Brasil) (GII; n=9), tendo o seu maior folículo aspirado (>25mm) e sete dias após, administração de 7,5 mg de PGF2 α , IM. Previamente ao início do experimento, todas as éguas foram avaliadas por meio da ultrassonografia, sendo critério para o estudo a ausência de corpo lúteo, bem como a presença de folículos ovarianos >25mm. A média do diâmetro folicular no início do tratamento, foi de 29,1 \pm 0,7mm e 28,9 \pm 1,1mm, para o GI e GII, respectivamente. A avaliação da atividade reprodutiva foi monitorada a cada 48h até o momento da segunda ovulação de cada égua subsequente ao tratamento. O grupo GII foi mais eficiente (P<0,05) em acelerar a primeira OV da estação reprodutiva, em relação ao grupo GI. No GII 66,7% (6/9) das éguas ovularam entre 14 e 16 dias após o início do tratamento, enquanto que no GI, nenhum animal ovulou. Todas as éguas (9/9) do GII ovularam até 18 dias após o tratamento, enquanto que no GI 22,2% (2/9) no décimo oitavo dia; 66,7% (6/9) até 24 dias; 88,9% (8/9) até 30 dias e 100% (9/9) até 42 dias. O tempo médio até a primeira OV foi de 24,9 \pm 7,5 e 16 \pm 1,2 dias para o GI e GII respectivamente, e o GII apresentou uma antecipação da primeira OV em relação ao GI de 8,9 dias. Todas ovularam normalmente, demonstrando que nenhuma delas retornou ao período de transição e que a média de dias entre a primeira e a segunda OV não diferiu entre os grupos (P>0,05). Os resultados do presente estudo nos permitem concluir que a técnica de aspiração folicular durante o período de transição primaveril, associado à administração de 7,5 mg de PGF2 α sete dias mais tarde, foi capaz de induzir a ciclicidade em éguas.

Avaliação da toxicidade para o desenvolvimento e do carregamento do ensaio Morfolino para o interior do blastômero pelo Endo-Porter durante a produção *in vitro* de embriões

Franciele Lanzarini ¹, Fernanda Alves Pereira ¹, Janine de Camargo ¹, Diego Borba Müller ¹,
Andressa Minozzo de Oliveira ¹, Mario Celso Sperotto Brum ¹, Mateus José Sudano ¹

¹Unipampa - Universidade Federal do Pampa (Uruguaiiana, RS)

Tratamentos com oligonucleotídeos curtos de DNA ou RNA complementares a um fragmento de um gene ou mRNA reduzem a expressão gênica. Os oligonucleotídeos de Morfolino (Mo) desenhados para gene específico realizam knockdown gênico após serem carregados pelo peptídeo Endo-Porter (EP) via endocitose para o citoplasma celular. Contudo, a eficácia e a toxicidade do ensaio Mo em embriões bovinos ainda é desconhecida e o impacto do BSA sobre o carregamento do Mo realizado pelo EP ainda não foi estudado. A fim de utilizar o Knockdown gênico como uma ferramenta investigativa funcional durante o desenvolvimento embrionário inicial, o presente estudo teve por objetivo testar o carregamento exercido pelo EP, do ensaio Mo acoplado a uma sonda fluorescente-FITC (MoF) para o interior das células embrionárias sob diferentes concentrações de BSA (Albumina Sérica Bovina). Oócitos imaturos (n=347) recuperados de ovários bovinos de abatedouro foram maturados e fertilizados *in vitro*. Em um arranjo fatorial 3 (Ensaio MoF: Controle, MoF+EP e MoF-EP) x 2 ([BSA]: 100µg/mL vs 5mg/mL), os possíveis zigotos foram cultivados *in vitro* em meio SOFaaci aleatoriamente distribuídos: 1) Controle+5mg/mL BSA, 2) Controle+100µg/mL BSA; 3) MoF-EP+5mg/mL BSA; 4) MoF-EP+100µg/mL BSA; 5) MoF+EP+5mg/mL BSA; e 6) MoF+EP+100µg/mL BSA. Nos dias 3, 7 e 8 após a fertilização, a clivagem (dia 3) e a produção de blastocistos (dia 7 e 8) foram registradas. Blastocistos expandidos foram coletados aleatoriamente ao longo das réplicas, fixados em formol 4% e os núcleos foram corados com Hoechst e avaliados em microscopia de fluorescência (n= 17-52). A fluorescência emitida nos filtros Fitc e Hoechst foi quantificada pelo programa Image J. O procedimento GLIMMIX (SAS) foi utilizado para análise de variância (ANOVA). O ensaio Morfolino não afetou (P>0,05) as taxas de clivagem (77,7±5,0, 75,6±4,2 e 76,7±3,7) e produção de blastocistos por oócitos (21,3±4,3, 21,5±3,3 e 30,8±2,9) e por estruturas clivadas (27,1±6,8, 30,4±5,2 e 40,9±4,6), respectivamente para Controle, MoF-EP e MoF+EP. Da mesma forma, as taxas de clivagem (73,4±3,2 vs. 79,9±3,8) e de produção de blastocistos por oócito (25,3±2,8 vs. 23,8±3,0) e por clivados (35,4±4,4 vs. 30,2±4,7) não diferiram (P>0,05) entre as doses 100µg/mL e 5mg/mL BSA, respectivamente. A intensidade de fluorescência (UA) foi superior (P<0,05) nos blastocistos MoF+EP (0,25±0,02) comparados aos dos grupos MoF-EP (0,15±0,02) e Controle (0,09±0,03). A dose de BSA (100µg/mL vs 5mg/mL) não afetou a intensidade de fluorescência (0,17±0,01 vs. 0,16±0,01, P>0,05; respectivamente). Conclui-se que a concentração do BSA não interfere na efetividade do carregamento do ensaio Mo, e ainda o EP mostrou-se efetivo em carrear o MoF para o interior da célula embrionária sem nenhum efeito tóxico. Portanto, trata-se de uma ferramenta molecular muito poderosa para realização de estudos gênicos funcionais durante o desenvolvimento embrionário inicial.

Efeito do tempo após o abate na configuração em larga escala da cromatina em bovinos

Jhessica Naomi Sakoda ¹, Ana Caroline Silva Soares ¹, Isabela Lima Gama ¹, José Buratini ¹

¹UNESP - Universidade Estadual Paulista 'Júlio de Mesquita Filho' (Distrito de Rubião Júnior, Botucatu - São Paulo)

O complexo cumulus oócitos (COC), quando removido do seu ambiente folicular, sofre retomada espontânea e precoce da meiose (Zhang *et al.*, Molecular Human Reproduction, 15: 399-409, 2009), uma das razões pelas quais oócitos maturados *in vitro* apresentarem menor competência ao desenvolvimento quando comparados com oócitos maturados *in vivo*. No entanto, não existem estudos prévios descrevendo a dinâmica da configuração da cromatina após o abate, o que é particularmente relevante para estudos que objetivam avaliar o status da cromatina em oócitos recuperados de ovários obtidos em abatedouros. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do tempo após o abate na configuração da cromatina de oócitos bovinos. Os COCs foram aspirados dos ovários de abatedouro em 2 (n = 384) e 4 horas (n = 314) após o abate. Para controle do efeito do tempo, as médias do tempo de espera do abate, transporte e manipulação dos oócitos foram de 40min, 15min e 1h, respectivamente, para o grupo de 2hs; e 2h20min, 40min e 1h, respectivamente, para o grupo de 4hrs. Os ovários foram transportados em garrafa térmica contendo solução salina estéril (0,9% NaCl) aquecida a 35-37°C. No laboratório, os ovários foram lavados em solução salina aquecida, esterilizados com álcool a 70% e os folículos de 3-8mm de diâmetro foram aspirados para recuperação do oócito. Os oócitos foram desnudos, fixados em metanol 60%, lavados em solução PBS, corados com 1µg/ml Hoechst 33342 e a configuração da cromatina foi avaliada em microscópio de fluorescência (Nikon Eclipse 80i) para classificação em 4 estágios da vesícula germinativa (GV) conforme a condensação progressiva da cromatina (GV0, GV1, GV2 e GV3) ou como quebra da vesícula germinativa (GVBD) e degenerados (DEG). Os dados foram transformados em arco seno e os grupos foram comparados pelo teste de Wilcoxon, considerando valores de P <0,05 como diferenças significativas. Duas horas após o abate as porcentagens dos ovócitos GV0, GV1, GV2, GV3, GVBD e DEG foram, respectivamente, 0%, 7,4%, 46,4%, 35,4%, 0,9% e 9,9%. Os percentuais correspondentes após 4h post mortem foram de 0,7%, 1%, 43%, 43,7%, 0,1% e 11,5%. O padrão de distribuição das classes de oócitos não diferiu entre 2 e 4 horas após o abate. Esses dados sugerem que enquanto o oócito permanecer em seu microambiente fisiológico, a configuração da cromatina não mudará significativamente até 4 horas após o abate.

Agradecimentos: FAPESP, CAPES, LaMEm, Professor Marcelo Nogueira, Professor Anthony C. Castilho.

Morfometria pós implantação de embriões bovinos submetidos a estresse térmico durante a PIV

Pedro Henrique Evangelista Guedes ¹, Paola Maria Da Silva Rosa ², Hugo Da Rocha Sabeça Dias ³, Raquel Varella Serapião ⁴, Agostinho Jorge Dos Reis Camargo ⁴, Célio De Freitas ⁵, Luiz Altamiro Garcia Nogueira ¹, Aline Emerim Pinna ¹, João Victor Gonçalves Da Silva ⁶, Sheila Costa De Souza Marques ⁷, Clara Slade Oliveira ⁵

¹ UFF - Universidade Federal Fluminense (Niterói, RJ, Brasil), ² Unesp - Universidade Estadual Paulista Júlio De Mesquita Filho (Jaboticabal, SP, Brasil), ³ USS - Universidade Severino Sombra (Vassouras, RJ, Brasil), ⁴ PESAGRO - Empresa De Pesquisa Agropecuária Do Estado Do Rio De Janeiro (Niterói, RJ, Brasil), ⁵ EGL - Embrapa Gado De Leite (Juiz De Fora, M, Brasil), ⁶ UGB - Centro Universitário Geraldo Di Biase (Barra Do Piraí, RJ, Brasil), ⁷ UBM - Centro Universitário De Barra Mansa (Barra Mansa, RJ, Brasil)

A termotolerância induzida é um fenômeno biológico que consiste na resistência celular, após tratamento térmico, e nossa hipótese é que este fenômeno possa ser usado em benefício dos embriões em períodos de estresse térmico. O objetivo deste trabalho foi induzir a termotolerância em embriões bovinos e analisar seu desenvolvimento após implantação nas receptoras. Para tanto, vacas F1 Holandês-Gir foram aspiradas para obtenção de oócitos e embriões foram produzidos por fertilização *in vitro* utilizando protocolos convencionais. Os embriões do grupo TT foram submetidos à curva de aumento de temperatura variando de 39 a 40,5°C, por 6h, 144hpi. Blastocistos 168hpi (n=133; 56 TT e 77 C) foram transferidos para receptoras mestiças Holandês-Gir, entre os meses de novembro/2017 e fevereiro/2018, em quatro repetições. As gestações foram acompanhadas dos dias 31 a 55, a cada 6 dias, através de ultrassonografia, realizando-se medidas de área da vesícula embrionária (VES); comprimento crânio caudal (CCC); diâmetro biparietal (DBP); e frequência cardíaca fetal (FC). CEUA nº 3956180316. As médias das mensurações foram analisadas estatisticamente através do Teste T de Student. Não houve diferença entre as taxas de gestação dos grupos (C=22, TT=18; P=0,70, teste exato de Fisher). Aos 31 dias de gestação (D31) não houve diferença entre as áreas de VES entre os grupos (C=9,71 ± 1,61mm², TT=9,68 ± 1,14mm²; P=0,9495). No D37 a área de VES foi maior no grupo TT (C=13,71 ± 1,67mm², TT=15,81 ± 2,41mm²; P=0,0062). Em D43, D49 e D55, não houve diferenças entre área de VES entre os grupos (D43, C=20,98 ± 2,37mm²; TT=21,87 ± 2,47mm²; P=0,2781; D49, C=28,8 ± 2,35mm²; TT=30,04 ± 2,50mm²; P=0,1377; D55, C=36,43 ± 3,77mm², TT=37,87 ± 3,58mm²; P=0,2580). O CCC não diferiu nos dias D31, D37, D43, D49 e D55 entre os grupos (D31, C=9,38 ± 1,43mm; TT= 9,50 ± 0,96mm; P=0,7976; D37, C=15,62 ± 2,02mm; TT=16,05 ± 1,87mm; P=0,5073; D43=23,03 ± 1,72mm; TT=23,06 ± 1,97mm; P=0,9628; D49, C=31,95 ± 1,78mm; TT=31,85 ± 1,65mm; P=0,8649; D55, C=45,76 ± 3,79mm; TT=45,38 ± 2,72mm; P=0,7321). O DBP não diferiu nos dias D43, D49 e D55 entre os grupos (D43, C=8,06 ± 0,70mm; TT=8,37 ± 0,47mm; P=0,1198; D49, C=10,59 ± 0,83mm; TT=10,62 ± 0,55mm; P=0,9155; D55, C=12,50 ± 0,87mm; TT=12,43 ± 1,20mm; P=0,8530). A FC não diferiu nos dias D43, D49 e D55 entre os grupos (D43, C=183,23 ± 6,94bpm; TT=185,53 ± 6,39bpm; P=0,3547; D49, C=181,05 ± 3,76bpm; TT=182 ± 4,74bpm; P=0,5626; D55, C=173,93 ± 11,06bpm; TT=178,07 ± 6,35bpm, P=0,2188). Apesar de não terem sido observados efeitos diretos sobre as taxas de prenhez e crescimento fetal, o tratamento térmico realizado mostrou-se seguro, não afetando a implantação e desenvolvimento fetal. O aumento em tamanho da vesícula germinativa no grupo TT sugere benefício aos embriões tratados nas etapas iniciais de formação dos anexos fetais, possivelmente através de resposta adaptativa. Desdobramentos deste estudo estão em andamento.

Agradecimentos à FAPEMIG.

Indução de mecanismos de sobrevivência ao estresse térmico em embriões bovinos

Clara Slade Oliveira ¹, Pedro H E Guedes ¹, Sheila C S Marques ¹, João Victor Gonçalves da Silva ¹, Agostinho J R Camargo ², Célio Freitas ¹, Raquel V Serapião ², Naiara Z Saraiva ¹, Luiz Sergio A Camargo ¹

¹CNPGL - Embrapa Gado de Leite (Juiz de Fora, MG), ²PESAGRO-RIO (Niterói, RJ), ³UFF (Niterói, RJ)

O estresse térmico durante o desenvolvimento embrionário está associado ao aumento das perdas gestacionais em bovinos. Uma alternativa para evitar os efeitos negativos do estresse térmico é induzir a termotolerância, fenômeno que envolve a expressão de proteínas HSP e torna as células resistentes a estresses subsequentes. O objetivo deste trabalho foi desenvolver protocolo para tratamento térmico de embriões FIV Girolando (3/4), que induzisse a termotolerância sem provocar efeitos negativos sob o desenvolvimento. Para tanto, foram utilizados embriões produzidos in vitro a partir de oócitos de fêmeas F1 Gir-Holandês (CEUA-EGL 3956180316). Após alguns testes, padronizamos curva de aumento de temperatura variando de 39 a 40,5°C por 6 horas, aplicada em mórulas (144hpi) – grupo TT, que não alterou a produção de blastocistos sobre mórulas no d7 (C 70,20%, TT 71,67%; P=0,82, teste exato de Fisher, n=371 mórulas, 173-198 por grupo). Análises de imunofluorescência mostraram que o tratamento induziu o aumento da expressão nuclear da proteína HSP70 após 12h (C 43,27±9,22, TT 62,80±18,10; P=0,01, Teste T, n=19 blastocistos, 9-10 por grupo), mensurada pela intensidade de fluorescência no programa Photoshop (pixels 0-255). Não houve efeito sobre o número de células dos embriões (C 70,53±20,06, TT 78,00±14,87; Teste T, n=27 blastocistos, 12 a 15 por grupo). No segundo experimento, os embriões TT foram expostos a choque térmico de 40,5°C por 2 horas, no d7, e sobreviveram 15% a mais do que os embriões controle (C 71,42%, TT 86,66%; P=0,004, teste Exato de Fisher, n= 263 blastocistos, 124-139 por grupo). As perspectivas futuras do estudo incluem avaliação da transferência desses embriões em vacas em lactação, em ocasiões de estresse térmico, para validar a termotolerância dos embriões, e acompanhar o nascimento dos animais para comprovar a segurança deste tratamento. Conclui-se que a indução de mecanismos de sobrevivência possa ser uma importante estratégia para mitigar os efeitos do estresse térmico. Agradecimentos: Fapemig CVZ APQ 00972/16 e CNPq (PIBIC).

Efeito do nível sérico de cálcio e suplementação com cálcio oral no pós-parto precoce sobre a qualidade uterina em vacas leiteiras

Rogério Ferreira ¹, Clério Hoefle ¹, Alexandro Fritzen ¹, Giovanna Fiordalisi ¹, Raquel Pereira ¹

¹UDESC - Universidade do Estado de Santa Catarina (Departamento de Zootecnia, Rua Beloni Trombeta Zanin - E 680, Bairro Santo Antônio)

Os objetivos do estudo foram 1) correlacionar os níveis plasmáticos de cálcio no pós-parto precoce com a incidência de endometrite subclínica no pós-parto tardio e; 2) avaliar o efeito da suplementação com formiato de cálcio sobre a saúde uterina. O estudo foi conduzido em duas fases utilizando 73 vacas multíparas e primíparas das raças Jersey e Holandês. O primeiro experimento foi conduzido para avaliar o efeito da concentração sérica de cálcio no pós-parto imediato sobre a porcentagem de neutrófilos e incidência de endometrite subclínica. Amostras de sangue foram coletas logo após o parto para determinar a concentração sérica de cálcio e as coletas de material para determinação de endometrite subclínica foram realizadas de 34 a 40 dias após o parto pelo método Citobruich. A porcentagem de neutrófilos foi afetada pela concentração de cálcio nas primeiras 24 horas do pós-parto ($P \leq 0,01$). O segundo experimento foi conduzido para avaliar o efeito da suplementação com formiato de cálcio em animais com diferentes níveis plasmáticos de cálcio sobre a porcentagem de neutrófilos e a incidência de endometrite subclínica. Os animais foram classificados de acordo com a concentração de cálcio (normocalcêmicas: $Ca \geq 8,5\text{mg/dL}$ ou hipocalcêmicas: $Ca < 8,5\text{mg/dL}$) e foram aleatoriamente distribuídos para receber (Grupo Tratado) ou não (Grupo Controle) cálcio oral na forma de formiato de cálcio em 6 e 30 horas após o parto. O tratamento com formiato de cálcio reduziu a contagem de neutrófilos apenas em vacas normocalcêmicas ($P \leq 0,05$). Além disso, o tratamento com formiato de cálcio diminuiu a frequência de animais com endometrite subclínica entre os dias 34 e 40 pós-parto ($P < 0,05$). Pelo teste de ROC (receiver operating characteristic) obtivemos o valor mínimo de 8mg/dL de cálcio sérico para reduzir a probabilidade de o animal desenvolver endometrite subclínica. Cada aumento de 1mg/dL de cálcio no sangue reduz a probabilidade de 27% de desenvolver endometrite. Demonstramos no presente estudo que a concentração de cálcio nas primeiras 24 horas após o parto determina a porcentagem de neutrófilos endometriais 34 a 40 dias após. Além disso, conclui-se que a suplementação de duas doses de formiato de cálcio em 6 e 30 horas pós-parto reduz a incidência de endometrite subclínica em vacas normocalcêmicas. Vacas que nas primeiras horas após o parto a concentração de cálcio é superior a 8mg/dl de sangue têm uma menor incidência de endometrite subclínica.

Efeito de moduladores epigenéticos no desenvolvimento de embriões bovinos derivados de oócitos submetidos a choque térmico

Alex Cabral Vieira ², Carolina Capobiango Romano Quintao ¹, Eduardo Paulino Costa ², Luiz Gustavo Bruno Siqueira ¹, Clara Slade Oliveira ¹, Tayná de Andrade Silva ¹, Carolina David Vieira ¹, Luiz Sergio Almeida Camargo ¹

¹ Embrapa - Embrapa Gado de Leite (Rua Eugenio do Nascimento, 610, Juiz de Fora, MG), ² UFV - Universidade Federal de Viçosa (Avenida Peter Henry Rolfs, s/n - Campus Universitário, Viçosa - MG)

Altas temperaturas na maturação do oócito bovino tem sido associado a alterações na expressão de genes e na organização da cromatina embrionária. Este estudo objetivou analisar o efeito de dois moduladores epigenéticos no desenvolvimento de embriões derivados de oócitos submetidos ao choque térmico: 1) Scriptaid, com ação inibidora da histona deacetilase e 2) 5-Aza-2'-deoxycytidine (AZA): inibidor de metilação de DNA. Oócitos bovinos obtidos de ovários

de abatedouro foram maturados in vitro em temperatura convencional (38°C) por 24h (grupo sem choque térmico: SCT) ou em 41,5°C por 12h seguida de 38°C por mais 12h (grupo choque térmico: CT) nas mesmas condições do grupo SCT. Em seguida, os oócitos de ambos os grupos foram fertilizados in vitro por 20h e após final da fertilização os possíveis zigotos foram desnudados e aleatoriamente expostos a 500 nM Scriptaid ou 10 nM de AZA por 0h ou 24h, formando seis tratamentos: SCT-0h (n=258), SCT+24hScriptaid (n=242), SCT+24hAZA (n=255), CT-0h (n=263), CT+24hScriptaid (n=261) e CT+24hAZA (n=276). Embriões foram cultivados em meio CR2aa suplementado com 2,5% SFB a 38,5°C com 5% CO₂, 5% O₂, 90% N₂. Foram realizadas cinco repetições e os dados (média±EPM) analisados por regressão logística (Pro Logistic, SAS). Taxas de clivagem no dia 3 e de blastocistos no dia 8 após início da fertilização foram comparadas entre os tratamentos. Observou-se maiores (P<0,05) taxas de clivagem em todos os grupos SCT (SCT-0h: 67,4±3,8%; SCT+24hAZA: 60,5±5,7%; SCT+24hScriptaid: 76,2±3,3%) quando comparados aos grupos submetidos ao choque térmico (CT-0h: 53,0±10,6%; CT+24hAZA: 45,3±9,3%; CT+24hScriptaid: 53,2±13,8%). O uso de ambos moduladores epigenéticos em embriões derivados de oócitos não submetidos ao choque térmico (SCT+24hAZA: 22,8±2,6%, SCT+24hScriptaid: 24,8±4,9%) reduziu (P<0,05) a taxa de blastocistos quando comparados com SCT-0h (38,1±5,2%). Contudo, o mesmo efeito não foi observado quando a comparação foi realizada entre embriões derivados de oócitos submetidos ao choque térmico. Não houve diferença (P>0,05) entre os tratamentos CT+24hAZA (16,4±3,1%), CT+24hScriptaid (15,2±3,8%) e CT-0h (17,1±4,5%). Conclui-se que AZA e Scriptaid possuem um efeito negativo no desenvolvimento de embriões derivados de oócitos maturados in vitro sob temperatura convencional, porém este mesmo efeito não é observado quando os embriões são derivados de oócitos maturados em condições de choque térmico. Sugere-se que o efeito do choque térmico durante a maturação in vitro sobrepõem aos efeitos do AZA ou do Scriptaid no desenvolvimento embrionário. Posteriores análises deverão ser realizadas a fim de identificar possíveis diferenças na organização da cromatina entre os tratamentos. Apoio financeiro: CNPq e Fapemig.

Os hormônios esteróides e as prostaglandinas (cloprostenol sódico) são eficazes na prevenção de endometrites pós-parto de vacas Girolandas

Thales Discini Vasconcelos ¹, Miller Pereira Palhão ¹, Carlos Antonio De Carvalho Fernandes ¹,
Jairo Pereira Neves ¹

¹UNIFENAS - Unifenas (Alfenas MG)

Objetivou-se avaliar a ocorrência de endometrite subclínica e o intervalo parto concepção (IPC) de vacas leiteiras tratadas, no pós-parto, com hormônios esteróides (cipionato de estradiol - ECP - ou progesterona - P4) ou prostaglandina (D-Cloprostenol - PGF). Duzentas e sete (n=207) matrizes leiteiras da raça Girolando foram divididas em 3 tratamentos: (T1, n=54) 0,5 mg de ECP (ECP, Zoetis, SP); (T2, n=53) 70 mg de P4 (Afisterone®, CEVA, SP) IM; (T3, n=50) 0,5 mg de PGF; e (T4, n=50) controle, 2 ml de solução salina. Os tratamentos foram realizados aproximadamente 10 dias após o parto (10,6±7,6). Excluíram-se, vacas com parto distócico, retenção de placenta ou alterações em outros sistemas e com baixo escore de condição corporal

($\leq 2,5$, escala de 1 a 5). No período entre a 4ª e a 6ª semana pós-parto, um pool (20 a 25 animais) de cada tratamento, todos na fase de diestro e sem evidências de sinais clínicos de endometrite, foram amostrados para o diagnóstico de endometrite subclínica, por citologia endometrial. Foi considerado positivo a presença de mais de 5% de neutrófilos. Após um período de espera voluntária de 30 dias, os animais foram submetidos a um protocolo para IATF e avaliados quanto ao percentual prenhez ao primeiro serviço e o intervalo do parto à concepção (IPC). O experimento foi conduzido até 120 dias após a inclusão do último lote de animais paridos. A variável IPC foi analisada no quadro da ANOVA, considerando o efeito de tratamento e as variáveis qualitativas analisadas pelo teste de Qui-quadrado. O IPC não diferiu significativamente ($P > 0,05$) entre os tratamentos ($104,7 \pm 72,6$; $93,5 \pm 63,0$; $98,2 \pm 77,8$; $112,8 \pm 67,8$, respectivamente, T1, T2, T3 e T4). Apesar da diferença não significativa do IPC, o percentual de animais vazios (10%, 5/50) ao final do estudo foi menor ($P < 0,01$) no tratamento com PGF quando comparado ao controle (26%, 13/50). A citologia avaliada neste período não pareceu um bom parâmetro de avaliação da resposta ao tratamento e da capacidade reprodutiva dos animais. Não houve diferença ($P < 0,09$) na incidência de animais positivos na citologia (40,0, 56,0, 42,9 e 20,9%, tratamentos de 1 a 4), e a taxa de prenhez após o primeiro serviço não diferiu ($P > 0,05$) entre os negativos (55,4%, 31/56) ou positivos (55,3%, 21/38) para endometrite subclínica. Pode-se concluir que a utilização de hormônios esteroides neste período pós-parto não se mostrou eficiente na prevenção de endometrites, não tendo afetado também o intervalo parto/concepção. A PGF administrada neste período, apesar de não reduzir o IPC calculado reduziu o número de animais vazios ao final do estudo. A avaliação de endometrite subclínica realizada através da pesquisa de polimorfonucleares pode não ser um bom parâmetro para correlação com eficiência reprodutiva do rebanho, podendo a concentração uterina desta célula ser afetada por outros fatores.

Apoio: Fapemig.

Associação de dois moduladores epigenéticos no desenvolvimento inicial de embriões bovinos fêmeas

Paola Maria Da Silva Rosa ^{1,4}, Clara Ana Dos Santos Monteiro ^{2,4}, Gabriela Ramos Leal ^{2,1}, Pedro Henrique Evagelista Guedes ^{2,4}, Agostinho Jorge Dos Reis Camargo ³, Raquel Varella Serapião ³, Marina Ragagnin De Lima ¹, Joaquim Mansano Garcia ¹, Clara Slade Oliveira ⁴

¹ UNESP - Universidade Estadual Paulista Campus Jaboticabal (Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane s/n 14884-900 - Jaboticabal, SP PABX: (16) 3209-7100), ² UFF - Universidade Federal Fluminense (Rua Miguel de Frias, 9 Icaraí Niterói - RJ 24220-900), ³ PESAGRO-RIO - Empresa Brasileira De Pesquisa Agropecuária (Alameda São Boaventura, 770 Fonseca - Niterói, Niterói RJ, Brasil 24.120-191), ⁴ EMBRAPA Gado De Leite - Empresa Brasileira De Pesquisa Agropecuária (Av. Eugênio do Nascimento, 610 - Aeroporto, Juiz de Fora - MG, 36038-330)

Embriões fêmeas apresentam-se mais sensíveis ao cultivo embrionário *in vitro*, e a inativação do cromossomo X parece ser um dos eventos epigenéticos relacionados a esta fragilidade. A suplementação do meio de cultivo com agentes que visam alinhar esse processo, se apresenta

como uma alternativa para impulsionar o desenvolvimento embrionário. O presente estudo teve como objetivo identificar a influência da associação de dois moduladores epigenéticos (Tricostatina A e Ácido Fólico - TSA+AF, nas concentrações de 10 μ M e 5 nM, respectivamente) no desenvolvimento inicial de embriões bovinos fêmeas atrasados, uma vez que a utilização destes separadamente não demonstrou influência no desenvolvimento embrionário e taxa de blastocisto (resultados não publicados). Foram utilizados oócitos oriundos de ovários de abatedouro, maturados, fertilizados *in vitro* (d0) com sêmen sexado (cromossomo X) e cultivados (d1) em sistema de cultivo embrionário em pools, que permite o acompanhamento individual das estruturas durante o desenvolvimento (placa de desenvolvimento homemade). Dois grupos de acordo com o tempo de desenvolvimento (4 dias -Gd4 e 5 dias- Gd5), foram utilizados para o momento de suplementação. Os percentuais de clivagem e blastocistos encontrados foram comparados utilizando o Teste Exato de Fisher, e as análises de desenvolvimento embrionário foram submetidos ao teste de normalidade e avaliadas utilizando o Teste U de Mann-Whitney (5%, Graphpad InStat Demo). O número de células estimado para análises foi estabelecido com base em resultados anteriores produzidos em nosso laboratório, no qual embriões menores que 16 células foram categorizados contendo 14,3 células, mórulas 30 e blastocistos d7 101,1. No Gd4, a taxa de clivagem não diferiu (TSA+AF: 74%-n=47; C:63%-n=48) entre os grupos. A Taxa de blastocisto foi significativamente maior (P=0,048) no grupo controle (TSA+AF: 17%-n=13; C:31%-n=20**), e os moduladores não influenciaram, no número de células de blastocistos recuperados no d7 (TSA + AF: 21,14 \pm 4,69; C:41,22 \pm 6,70). No momento d5, a taxa de clivagem não diferiu (TSA+AF: 59%-n=82; C:59%-n=66). A Taxa de blastocisto foi significativamente maior (P=0,0125) no grupo controle (TSA+AF: 18%-n=26; C:33%-n=37**), e o suplemento demonstrou (P=0,0496) uma influência negativa no número de células dos blastocistos recuperados no d7 (TSA + AF: 18,61 \pm 5,77; C: 29,99 \pm 8,617**). Dessa forma, concluímos que nas concentrações empregadas, a associação entre Ácido Fólico e Tricostatina A não se mostrou benéfica para embriões fêmeas atrasados, e o momento do tratamento, parece não influenciar os efeitos causados pela suplementação no meio. Agradecimentos: FAPEMIG, EMBRAPA, CAPES, CNPq.

Prevalência bacteriana em éguas com endometrite subclínica

Julio Cesar Ferraz Jacob ¹, Rita De Cassia Lima De Moraes ¹, Giselli Stefani ¹, Vera Lucia Teixeira De Jesus ¹, Diego Rodrigues Gomes ¹, Gabriel Almeida Dutra ¹, Mariana Fernandes Souza ¹, Carla Fernanda Paranhos De Moura Carvalho ¹

¹ UFRRJ - Universidade Federal Rural Do Rio De Janeiro (Br 465 Km 7 - Seropédica RJ)

O estudo teve como objetivo observar a prevalência de bactérias isoladas do útero de éguas e associa-la aos resultados de citologia. Este foi realizado em um criatório de equinos situado no município de Seropédica-RJ, durante a estação de monta de 2017/2018. Foram utilizadas 16 éguas cíclicas receptoras de embrião da raça Mangalarga Marchador, durante o estro, com ausência de anormalidades aparentes do trato reprodutivo constatadas por meio de ultrassonografia (US) e histórico recente de um ou mais diagnóstico (s) de gestação negativo. Os ciclos estrais das éguas foram acompanhados através de US no modo-B utilizando o

equipamento Mindray Medical International Limited, modelo Z5 VET, com transdutor linear retal 7,5 Mhz. A US foi realizada em dias intercalados até a observação de um folículo com diâmetro ≥ 35 mm e ecotextura uterina ≥ 3 , quando foram realizados a coleta de material para cultura microbiológica e citologia endometrial. Para a cultura microbiológica, os métodos de coleta de material, armazenamento e inoculação do material em placa de petri se basearam na descrição de Oliveira et al., (Veterinária e Zootecnia, 17(1):43-46, 2010) e para coletas dos materiais, confecção e leitura de lâmina citológica endometrial seguiram os métodos descritos por Alvarenga, et al. (Revista Médica de Minas Gerais, 5:132, 1995). As citologias foram classificadas quanto ao grau de inflamação: ausente (0-2 neutrófilos por campo), inflamação moderada (3-5 neutrófilos por campo) ou inflamação severa (>5 neutrófilos por campo) (Leblanc&Causey, Reproduction of Domestic Animals, 44:10-22, 2009). Das 16 citologias realizadas, 43,75% (7/16) foram negativas e 56,25% (9/16) foram positivas, sendo 50% (8/16) com inflamação moderada e 6,25% (1/16) com inflamação severa. Das 16 culturas microbiológicas, 12,5% (2/16) foram negativas e 87,5% (14/16) foram positivas para uma ou duas bactérias, apresentando a seguinte prevalência: 37,5% (6/16) para *Escherichia coli*; 6,25% (1/16) *Streptococcus spp.* e 6,25% (1/16) *Proteus spp.*, para éguas com uma bactéria e 12,5% (2/16) *E. coli/Klesibiella pneumoniae*; 12,5% (2/16) *E. coli/Staphylococcus spp.*, 6,25% (1/16) *Proteus spp./Klesibiella pneumoniae* e 6,25% (1/16) *E. coli/Streptococcus spp* para éguas com presença de duas bactérias. Um valor de 11,11% (1/9) das éguas com citologia positiva apresentou cultura negativa e 85,71% (6/7) das éguas com citologia negativa apresentaram cultura positiva. Das 16 éguas, 87,5% (14/16) apresentaram presença bacteriana no endométrio e 56,25% (9/16) citologia positiva, confirmando possivelmente uma endometrite bacteriana. A bactéria mais isolada foi a *E. coli* com 68,75% (11/16) de frequência. Tendo em vista que houve éguas de citologia positiva e cultura negativa e vice-versa, e dos altos números de citologia e cultura positivos, conclui-se então, indispensáveis para um diagnóstico mais eficaz da endometrite subclínica a utilização da citologia uterina associada a cultura bacteriana em éguas.

Efeito do estresse calórico no início da gestação de vacas produtoras de leite sobre índices reprodutivos das filhas

Eduardo Alves Lima ¹, Raphael Evangelista Orlandi ¹, Luiz Manoel Souza Simões ¹, Miguel Pizzolante Bottino ¹, Ana Paula Castro Santos ¹, Fernando de Oliveira Scarpa ², José Nélio de Sousa Sales ¹

¹ UFLA - Universidade Federal de Lavras (Lavras-MG), ² FBR - Fazenda Bom Retiro (Pouso Alto-MG)

O objetivo desse estudo foi avaliar o efeito do estresse calórico no início da gestação de vacas produtoras de leite sobre índices reprodutivos da prole. Dados retrospectivos de índices reprodutivos de filhas de vacas holandesas que conceberam durante o verão (dezembro a fevereiro) ou inverno (junho a agosto) foram analisados (n=318 e n=642 respectivamente). As datas de concepção para inclusão dos animais nos grupos Verão ou Inverno foram estimadas subtraindo 280 dias da data de nascimento das filhas. Em um subgrupo de animais foi realizado exame ultrassonográfico para contagem de folículos antrais (Verão - n=36 e Inverno - n=39). O

estudo foi realizado em três fazendas comerciais produtoras de leite localizadas na região sul do estado de Minas Gerais, com vacas nascidas entre os anos de 2007 e 2015, mantidas em sistema free-stall, com período voluntário de espera de 42 dias e inseminadas após protocolo de sincronização da ovulação. Com base em dados climáticos da estação meteorológica mais próxima disponível no site do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), verificou-se que o índice de temperatura e umidade (ITU) médio de 2010 a 2017 calculado pela fórmula: $[ITU = \text{temperatura do bulbo seco} + (0,36 * \text{temperatura do ponto de orvalho}) + 41,2]$ no grupo Verão foi 70,1 e no grupo Inverno foi 60,6. A análise estatística foi realizada pelo procedimento GLIMMIX do SAS e as variáveis contínuas foram apresentadas por média \pm erro padrão. Foram incluídos no modelo estatístico fatores de variação referentes as filhas e utilizou-se análise multivariada para verificar efeito do estresse calórico sobre as variáveis estudadas. Não houve interação entre fazendas e estresse calórico para as variáveis estudadas. Verificou-se que filhas de vacas que conceberam no inverno apresentaram maior idade à primeira inseminação (Inverno - 475,3 \pm 4,1 dias e Verão - 469,3 \pm 8,1 dias; P=0,01) e ao primeiro parto (Inverno - 798,8 \pm 5,1 dias e Verão - 789,1 \pm 8,8 dias; P=0,02). No entanto, as filhas de vacas que conceberam durante o período de inverno apresentaram menor intervalo parto/1ª inseminação (Inverno - 66,7 \pm 1,3 dias e Verão - 75,5 \pm 2,8 dias; P=0,01). Não houve diferença entre os grupos para a taxa de prenhez a primeira inseminação [Inverno - 50,3% (323/642) e Verão - 54,4% (173/318); P=0,15], número de serviços por concepção para o primeiro (Inverno - 1,9 \pm 0,1 serviços e Verão - 1,9 \pm 0,1 serviços; P=0,41) e segundo parto (Inverno - 3,2 \pm 0,1 serviços e Verão - 3,0 \pm 0,2 serviços; P=0,82), intervalo entre primeiro e segundo parto (Inverno - 507,8 \pm 10,4 dias e Verão - 484,5 \pm 13,3 dias; P=0,13), número de partos (Inverno - 2,3 \pm 0,1 partos e Verão - 2,3 \pm 0,1 partos; P=0,43) e contagem de folículos antrais (Inverno - 31,5 \pm 2,8 folículos e Verão - 37,0 \pm 2,9 folículos; P=0,14). Conclui-se que filhas de vacas que concebem durante o inverno possuem maior idade à primeira inseminação e ao primeiro parto, porém, são inseminadas mais cedo após o primeiro parto.

Apoio: FAPEMIG.

Suplementação de progesterona/progestágeno a partir do 6º dia pós cobertura e a relação com a taxa de prenhez e perdas embrionárias de fêmeas suínas

Bruno Bracco Donatelli Muro ¹, Rafaella Fernandes Carnevale ¹, Mariana Andrade Torres ¹,
Diego Feitosa Leal ¹, Maite Mendonça Vidal ¹, Denis Hideki Nakasone ¹, Gisele Ravagnani
Mouro ¹, Cristian Hernando Garcia Martinez ¹, Mathes Saliba Monteiro ¹, Simone Maria
Massami Kitamura Martins ¹, André Furugen Cesar Andrade ¹

¹ USP - Universidade de São Paulo (Rua, Dr. Orlando Marques de Paiva)

Estudos com ruminantes mostraram que fêmeas suplementadas com progesterona na fase inicial da gestação podem gerar embriões até 4 vezes maiores que as fêmeas não suplementadas. Porém, estudos com a espécie suína ainda tem dificuldade em mostrar o efeito da suplementação de progesterona/progestágeno no crescimento embrionário uma vez que essa suplementação causou prejuízos à taxa de prenhez quando realizada previamente ao 6º dia de gestação. Neste contexto, o objetivo deste estudo foi verificar se a suplementação de progesterona/progestágeno a partir do

6° dia da gestação tem alguma interferência sobre a taxa de prenhez, perda embrionária precoce e perda embrionária tardia. Foram utilizadas 50 fêmeas suínas, sendo 32 multíparas e 18 nulíparas. As fêmeas foram divididas em blocos por ordem de parto e perda de peso durante o período lactacional prévio a inseminação (multíparas). O momento da ovulação foi considerado como ocorrido entre 70-90% do tempo total de estro. No 6° dia de gestação as fêmeas foram divididas em 3 grupos experimentais: RU - fêmeas suplementadas com 20 mg de progestágeno (Altrenogest), via oral, do 6° ao 12° dia de gestação (n = 16); PG - fêmeas suplementadas com 2.15 mg/kg de progesterona de longa ação (i.m) no 6° dia da gestação (n=17); CON - fêmeas não suplementadas (n=16). As fêmeas foram sacrificadas aos 28 dias de gestação. O número total de corpos lúteos foi considerado como a taxa de ovulação (TO). As vesículas embrionárias foram individualizadas para contagem do número total de embriões (TE) e os embriões foram classificados como viáveis (EV) ou inviáveis (EI). Embriões que apresentaram líquido amniótico hemolisado e/ou membranas embrionárias reabsorvidas, foram considerados como inviáveis. O número de EI foi considerado como perda embrionária tardia (Pet) e a diferença entre TO e TE foi considerado como perda embrionária precoce (Pep). Os dados foram analisados no programa SAS® Studio (SAS University Edition., 2018). As variáveis TO, TE, EV foram avaliadas pelo PROC MIXED - Tukey. As variáveis EI, TP e Pep foram avaliadas pelo PROC NPAR1WAY. Diferenças foram consideradas significativas quando $P < 0,05$. A taxa de ovulação foi semelhante para os 3 grupos ($P = 0,38$). Os tratamentos não influenciaram a taxa de prenhez (87,5%, 88,3% e 93,7% para RU, PG e CON, respectivamente; $P = 0,83$). TE não diferiu estatisticamente entre os grupos ($P = 0,37$) e consequentemente, também não houve diferença estatística entre os grupos para a variável Pep ($P = 0,99$). EV e EI também foi semelhante entre os grupos ($P = 0,11$ e $0,90$, respectivamente) e, portanto, não houve efeito do tratamento sobre a variável Pet. Portanto, a suplementação de progesterona/progestágeno a partir do 6° dia de gestação não interfere na taxa de prenhez de fêmeas suínas nem nas perdas embrionárias durante o período denominado de peri-implantação embrionária (10° - 30° dia da gestação).

Aspectos morfofuncionais e endócrinos relacionados à luteólise induzida por cloprostenol em fêmeas bovinas

Carlos Antonio De Fernandes ^{1,2}, Ana Cristina Silva Figueiredo ^{1,2}, Humberto Neri ¹, Jéssica Ruiz Pereira ¹, Gustavo Henrique de Souza Pereira ¹, Jairo Pereira Neves ², João Paulo Guimarães ², Maryana Furtado Sena ¹

¹Biotran - Biotran LTDA (Rua Tatuin, 447 - Alfenas, MG - Brasil), ² UNIFENAS - Universidade José do Rosário Velano (Rod. MG 179 - Km0 - Alfenas, MG - Brasil)

O objetivo deste estudo foi avaliar variáveis relacionadas à alterações morfológicas, funcionais e endocrinológicas relacionadas a luteólise induzida por Cloprostenol sódico em fêmeas bovinas. Foram utilizadas 25 fêmeas bovinas, novilhas (12) e vacas (13) mestiças (*Bos taurus* x *Bos indicus*), cíclicas, não lactantes, pesando entre 318 e 457kg, idades entre 26 e 54 meses, entre os dias 7 e 16 do ciclo estral. Após seleção, (0h) o sangue dos animais foi coletado utilizando tubos de coleta à vácuo sem anticoagulante. Neste mesmo dia foi feita avaliação ultrassonográfica dos ovários utilizando tecnologia modo B e Doppler colorido (Mindray M5). Foram gravados de

cada ovário que possuía o corpo lúteo (CL), uma sequência de 252 frames no modo B e 150 frames no modo Doppler. Imediatamente após as avaliações foi aplicado via IM em cada animal 0,5mg de Cloprostenol sódico (Estron®–Agener União). As colheitas de sangue e as mesmas avaliações ultrassonográficas foram feitas também as 24, 48 e 72 horas após a aplicação do luteolítico. As imagens modo B foram utilizadas para mensuração do perímetro e área do corpo lúteo. As imagens Doppler colorido foram utilizadas para determinação do escore de vascularização, numa escala de 1 a 4. O soro obtido das amostras de sangue foi utilizado para dosagem de progesterona (P4) via Eletroquimiluminescência (ECL) utilizando equipamento Cobas E411 e kits comerciais Elesys™ Progesterone III (Roche®). As mensurações modo B do CL e concentrações de P4 foram acessadas por Anova e comparadas entre os dias utilizando teste de Tukey. Os escores da vascularização entre os diferentes dias foram comparados pelo teste de Kruskal Wallis. Foram consideradas significantes probabilidades menores que 5%. O coeficiente intraensaio das dosagens de P4 foi de 1,67%. As concentrações médias de P4 foram de $7,65 \pm 2,8^a$; $4,12 \pm 1,49^b$; $0,53 \pm 0,29^c$ e $1,04 \pm 0,21^c$ ng/mL para os tempos 0, 24, 48 e 72 horas ($P < 0,05$). As médias de circunferência do CL foram de $5,78 \pm 1,23^a$; $5,24 \pm 1,09^a$; $3,98 \pm 0,94^b$ e $2,20 \pm 0,59^c$ cm e área $2,43 \pm 0,80^a$; $1,97 \pm 0,64^{ab}$; $1,29 \pm 0,44^b$ e $0,61 \pm 0,24^c$ cm² para os tempos 0, 24, 48 e 72 horas ($P < 0,05$). As médias de escore de vascularização do CL foram de $3,7^a$; $1,3^b$; $0,8^{bc}$ e $0,5^c$ para 0, 24, 48 e 72 horas, respectivamente ($P < 0,05$). A eficiência de luteólise foi de 100%. A redução de vascularização e concentração de P4 foi observada a 24 horas, ou seja, na 1ª avaliação após a aplicação do produto. Já a regressão morfológica do CL ocorreu apenas na 2ª avaliação, as 48 horas, um dia mais tarde que a regressão funcional e endocrinológica. Conclui-se que o produto utilizado é eficiente em provocar luteólise em fêmeas bovinas. A regressão funcional e a redução das concentrações de P4 precedem as alterações morfológicas no CL. Apoio: Agener União, Biotran, Fapemig, Capes e CNPq

Associação entre atividade sérica de paraoxonase-1, dinâmica ovariana e concentração de hormônios esteroides em bovinos

Bruna Mion¹, Natália Ávila de Castro¹, Joao Alveiro Alvarado Rincón¹, Patricia Carvalho Gindri¹, Jorgea Pradiee¹, Lígia Margareth Cantarelli Pegoraro², Augusto Schneider¹

¹UFPEL - Universidade Federal de Pelotas (Pelotas, RS, Brasil), ²EMBRAPA Clima Temperado - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Clima Temperado (Pelotas, RS, Brasil)

A paraoxonase-1 (PON1) é uma enzima produzida pelo fígado, encontrada no soro e fluido folicular de bovinos. A PON1 possui atividade antioxidante e está relacionada positivamente com a fertilidade. O objetivo desse estudo foi avaliar a associação da PON1 com o diâmetro folicular e a concentração sérica de estradiol, assim como com o volume luteínico e a concentração de progesterona em fêmeas bovinas submetidas a protocolo de IATF a base de E2/P4. Fêmeas bovinas (n=14; 48 meses, 450 kg, ECC: $2,9 \pm 0,2$, não lactantes e não gestantes) da raça Aberdeen Angus (*Bos taurus*) foram sincronizadas com dispositivo intravaginal de progesterona (1g, Primer®, Agener União, São Paulo) e 2 mg i.m. de benzoato de estradiol (RIC-BE®, Agener União) no dia 0. No dia 8, o dispositivo intravaginal foi removido e foram

administrados 0,150 mg i.m. de *d*-cloprostenol (Prolise®, Agener União) e 1 mg de ciproionato de estradiol i.m. (ECP®, Zoetis, NJ, USA). As fêmeas foram avaliadas por ultrassonografia a cada 12 horas a partir da retirada do dispositivo para mensuração do diâmetro folicular e detecção da ovulação e sete dias após a ovulação foi mensurado o volume luteínico. Amostras de sangue foram coletadas após a retirada do dispositivo intravaginal, ovulação e sete dias após a ovulação para a avaliação da concentração sérica de estradiol e progesterona e atividade de PON1. Os hormônios esteroides foram avaliados pelo método de quimiluminescência. A atividade de PON1 foi avaliada por espectrofotometria. As vacas foram classificadas em dois grupos de acordo com a atividade média de PON1 sérica: alta atividade (AA; >105,0 U/mL) ou baixa atividade (BA; <105,0 U/mL). Os resultados foram avaliados através do software GraphPad® 6.01 (GraphPad software, Inc., CA, USA). Os grupos foram comparados por teste T. Além disso, o nível de PON1 foi correlacionado por regressão linear simples com as variáveis analisadas. A atividade de PON1 foi mais alta no momento da ovulação do que 7 dias após a ovulação. A concentração de estradiol não foi diferente entre os grupos no dia 8 (BA: 32,8±4,9 pg/mL; AA: 35,8±6,0 pg/mL; R²=0,06) e no momento da ovulação (BA: 42,0±6,0 pg/mL; AA: 42,8±5,3 pg/mL; R²=0,02). A concentração de progesterona foi maior no grupo baixa atividade de PON1 (BA: 4,9±1,5 ng/mL; AA: 3,2±0,3 ng/mL, *P*=0,0022; Regressão linear: R²=0,3 e *P*=0,05) no dia 8, contudo não diferiu no momento da ovulação (BA: 0,37±0,05 ng/mL; AA: 0,41±0,06 ng/mL, R²=0,002) e 7 dias após a ovulação (BA: 7,7±0,8 ng/mL; AA: 8,2±0,4 ng/mL, R²=0,14). O diâmetro folicular no dia 8 (BA: 8,8±0,5 mm; AA: 9,4±0,4 mm; R²=0,07) e no momento da ovulação (BA: 12,2±0,5mm; AA: 12,9±0,3 mm, R²=0,001) e o volume luteínico (BA: 5,75±0,99 cm³; AA: 6,86±1,3 cm³, R²=0,0007) não diferiram entre os grupos. Podemos concluir que a atividade de PON1 foi associada com a concentração sérica de progesterona no momento da retirada do dispositivo intravaginal de progesterona, contudo mais estudos são necessários para esclarecer a interação entre esses fatores.

Citologia vaginal como ferramenta para prever o momento da ovulação em caprinos e ovinos

Viviane Lopes Brair ^{1,2}, Ana Paula Pereira Schmidt ², Lucas Machado Figueira ^{2,3}, Gabriel Brun Vergani ⁴, Yara Pereira Diógenes ⁵, Paulo Sergio Cerqueira Rangel ¹, Joanna Maria Gonçalves de Souza-Fabjan ², Jeferson Ferreira da Fonseca ⁶

¹UNIGRANRIO - Universidade do Grande Rio (Rua Prof. José de Souza Herdy, 1160, Duque de Caxias-RJ, Brasil), ²UFF - Universidade Federal Fluminense (Rua Vital Brasil, 64 - Santa Rosa, Niterói - RJ, Brasil), ³UFLA - Universidade Federal de Lavras (Lavras - MG, Brasil), ⁴UNESP - Universidade Estadual Paulista (Jaboticabal -SP, Brasil), ⁵UECE - Universidade Estadual do Ceará (Av. Dr. Silas Munguba, 1700, Fortaleza - CE, Brasil), ⁶Embrapa Caprinos e Ovinos - Embrapa Caprinos e Ovinos (Fazenda Três Lagoas, Estrada Sobral -Groaíras, km 04, Sobral - CE, Brasil)

A detecção do momento da ovulação é de grande importância para a utilização de diversas biotecnologias da reprodução em pequenos ruminantes. A ovulação é eficientemente detectada a partir do uso de ultrassonografia (US), ferramenta que nem sempre está disponível e de custo

relativamente elevado. Neste estudo, objetivou-se identificar a eficiência da citologia vaginal para detecção do momento de ovulação nestas espécies. O estudo foi conduzido durante a contra estação reprodutiva, em Coronel Pacheco, MG (21°35'S e 43°15'W). Nove cabras e 11 ovelhas pluríparas, com idade média de três anos, criadas em manejo intensivo foram utilizadas. As fêmeas receberam protocolo curto de indução de estro com 0,3 g de progesterona (CIDR[®], Pfizer Saúde Animal, SP, Brasil) por seis dias, e 24 h antes de sua retirada, 30 µg de d-cloprostenol (Prolise[®], Syntex, Buenos Aires, Argentina) e 200 UI de eCG (Novormon[®] 5000, Syntex) foram administradas por via i.m. Após a retirada do CIDR, a cada 12 h, até a ocorrência da ovulação foi realizada(o): 1) coleta da citologia vaginal com *swab* e posterior esfregaço, corado com kit Panótico rápido LB (Laborclin Ltda, São Paulo, Brasil), onde foram contadas 100 células em cada momento e 2) US transretal (probe de 7,5 MHz; Mindray[®], Modelo M5 Vet, Mainland, China). Dados não paramétricos foram analisados pelos testes de Mann Whitney, Kruskal Wallis e comparações múltiplas de Dunn. Dados paramétricos foram comparados por teste t de Student e ANOVA. Para comparação do padrão celular e US foi calculado o valor preditivo positivo e negativo, sensibilidade e especificidade. As análises foram realizadas no programa Bioestat 5.0 com nível de confiança de 5%. A taxa de ovulação nas cabras foi de 88% (8/9) e nas ovelhas de 100% (11/11). Para a escolha do padrão celular (parabasal, intermediária, superficial e anucleada) foi realizada uma análise de suas médias, a cada 12 h, para identificar qual padrão se diferenciava das próprias médias anteriores e das médias das demais células, no momento da ovulação. Assim, em caprinos, o padrão escolhido foi o superficial (P<0,05) e este apresentou baixo coeficiente de variação (CV) de 6%. A especificidade encontrada às 60 e 48 h antes da ovulação foi de 100%; de 36 e 24 h foi de 88%; e 12 h de 75%. Já a sensibilidade no momento da ovulação foi de 88%. O valor preditivo negativo (VPN) atingiu 97%, superior ao valor preditivo positivo (VPP) de 64%, resultando em acurácia de 89,6%. Já em ovinos, o padrão escolhido foi a célula anucleada. Este apresentou CV alto (23,7%) que levou a uma acurácia não elevada (66,7%). Portanto, os VPP e VPN foram 26% e 88% respectivamente; a especificidade foi 45% e 64% às 24 h e 12 h antes da ovulação respectivamente; e por fim, sensibilidade de 55% no momento da ovulação. Conclui-se que a citologia vaginal pode ser uma ferramenta eficiente a ser utilizada para detecção do momento da ovulação em caprinos, porém com menor acurácia em ovinos.

Suporte financeiro: CNPq e AGIR/UFF

Avaliação do tipo de morte celular das células lúteas caninas no diestro cíclico e gestacional

Ana Augusta Pagnano Derussi ², Ana Carolina Tancredo das Neves ¹, Mateus J.Sudano ³, Maria Denise Lopes ¹

¹UNESP - Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho (Botucatu), ² UNIFENAS - Universidade José do Rosário Vellano (Alfenas-MG), ³ UNIPAMPA - Universidade Federal do Pampa (Uruguaiiana- RS)

O ciclo estral das cadelas é diferente de outros animais domésticos, principalmente em relação a fase lútea, pois o corpo lúteo (CL) gestacional e cíclico atuam por longos períodos em ambos os casos e é a única estrutura responsável pela manutenção da gestação. O objetivo desse trabalho

foi investigar o mecanismo de morte celular (apoptose/necrose) em células lúteas cíclicas e gestacionais caninas, no terço final do diestro, após cultivo celular, sendo a proposta aprovada pela CEUA-UNESP: 168/2013. Foram usadas 20 cadelas, sem raça definida, com idade e pesos equivalentes, divididas em 02 grupos: Diestro cíclico (n=10), formado por fêmeas submetidas à OSH, 40 e 60 dias após a onda pré-ovulatória de LH e Gestantes (n=10), formado por fêmeas inseminadas artificialmente e submetidas à OSH, 40 e 60 dias após a onda pré-ovulatória de LH. As ovulações foram estimadas com base na concentração sérica de progesterona (4 a 5 ng/ml) e na citologia vagina (\geq a 90%) de células superficiais (Hase et al., *Theriogenology*, 62:243-48. 2000). Após a OSH, os ovários foram coletados e os CLs dissecados. O cultivo celular incluiu as etapas de processamento dos CLs, digestão enzimática com colagenase tipo 1 (1mg/ml, C0130, Sigma Aldrich, USA), centrifugação seriada (3x), 220G/10 minutos a 20°C para obtenção celular e plaqueamento. O meio de cultivo foi constituído por DMEN alta glicose (41965-039, Sigma, Aldrich USA), soro fetal bovino 5% (Gibco, USA), L-glutamina (G7513, Sigma), 10.000 UI de penicilina, 10 mg de estreptomicina, 25 µg de anfotericina B e 0,25 mg de amicacina, sendo trocado após 24 horas de cultivo. Após 60 horas de cultivo foi realizada a tripsinização (12604021, TrypLE™ Express Enzyme, Thermo Fisher, USA) para obtenção das células lúteas, as quais foram criopreservadas a -80°C. As células foram descongeladas e ressuspensas em nucleotídeo releasing buffer a 37°C (Biovision, CA) resultando em uma solução final contendo em média 6000 células/poço. A avaliação do tipo de morte celular foi realizada pela mensuração da relação ADP:ATP utilizando o Kit Aposensor ADP/ATP Ratio Bioluminescent Assay (K255-200, Biovision, CA), que classifica as células em fase de proliferação, parada de crescimento, necrose ou apoptose celular. Para a leitura foi utilizado o equipamento Biotek Synergy 4 (Biotec, USA), sensibilidade em 135. Para a análise estatística utilizou-se o programa GLM do SAS, teste ANOVA e t student, sendo significativa quando $P < 0,05$. A relação ADP/ATP não apresentou diferença significativa entre os grupos avaliados (cíclico x gestação, $P = 0,6670$) e nem entre os tempos analisados (40 x 60 dias, $P = 0,2316$). No grupo diestro cíclico, no tempo 40 dias, as células lúteas encontravam-se em parada de crescimento, apresentando apoptose apenas aos 60 dias, enquanto no grupo gestante tanto nos 40 dias como nos 60 dias as células lúteas apresentavam-se em apoptose, o que sugere que a morte celular por apoptose se inicie antes no diestro gestacional.

Efeito da restrição calórica e da rapamicina no ganho de peso, sensibilidade à insulina e estresse oxidativo ovariano em camundongos

Driele Garcia ¹, Tatiana Saccon ¹, Kelvin Andrade ¹, Elida Rattmann ¹, Larissa Saraiva ¹, Maiara Soares ¹, Francielli Stefanello ¹, Carlos Barros ¹, Augusto Schneider ¹

¹UFPEL - Universidade Federal de Pelotas (Rua Gomes Carneiro, 1 Pelotas - RS)

A restrição calórica (RC), método conhecido por aumentar a longevidade em diversas espécies também tem sido associada com a preservação da reserva ovariana (Xiang et al., *Gene*, 1:77-82, 2012). De maneira semelhante o fármaco rapamicina tem demonstrado ter efeitos semelhantes aos da RC, inclusive com relação a reserva ovariana (Li et al., *Reproduction Science*, 1:60-7,

2015). O objetivo do estudo foi avaliar o efeito da RC e da rapamicina no ganho de peso, consumo da ração, resistência à insulina e estresse oxidativo ovariano em camundongos fêmeas. Para isso, foram utilizados 36 camundongos fêmeas da linhagem C57BL/6 mantidos com dieta padrão e água *ad libitum*, mantidos sob condições controladas de luz e temperatura. Os camundongos foram divididos em 3 grupos de 12 animais cada (grupo controle; grupo tratado com rapamicina intraperitoneal a cada 2 dias na dose de 2mg/kg de peso e o grupo submetido à RC de 30% em relação ao grupo controle). Os dados de peso foram coletados semanalmente e os de consumo, diariamente. Aos 85 dias de tratamento, a sensibilidade periférica à insulina foi avaliada através do teste de tolerância à insulina (TTI) e a resistência à insulina através do teste de tolerância à glicose (TTG). Aos 93 dias de tratamento os camundongos foram anestesiados e eutanasiados, e os ovários foram coletados. A formação de espécies reativas de oxigênio (EROs) dos ovários foi feita através de método já descrito e adaptado (Ali, et al., Neurotoxicology, 13:637–648, 1992). As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software Graphpad Prism 7. Para o TTI e TTG foi utilizada o teste de ANOVA de medidas repetidas e para o estresse oxidativo o teste de one-way ANOVA. Valores de $P < 0,05$ foram considerados significativos. Foi observado um menor ganho de peso nas fêmeas da RC ($P < 0,05$), porém não houve diferença quanto ao peso entre o grupo controle e o rapamicina ($P > 0,05$). Quanto ao consumo alimentar, não houve diferença entre os grupos rapamicina e controle, porém houve menor consumo quando no grupo RC ($P < 0,05$). No TTI as fêmeas do grupo rapamicina foram mais resistentes à insulina enquanto que as da RC apresentaram maior sensibilidade à insulina ($P = 0,003$). No TTG as fêmeas da rapamicina foram mais intolerantes à glicose quando comparadas com as da RC e controle ($P = 0,04$). Na quantificação de EROs as fêmeas do grupo rapamicina (174 ± 50) tiveram maiores níveis de EROs quando comparadas aos do grupo RC (142 ± 20) e controle (110 ± 10 , $P < 0,05$). Portanto, as fêmeas tratadas com rapamicina são mais resistentes a insulina e tem maior estresse oxidativo em nível ovariano, enquanto que as fêmeas da RC tiveram menor ganho de peso e foram mais sensíveis à insulina, sem alterações no nível de ovário.

Presença do conceito bovino modula a expressão de genes estimulados por interferon-tau em células polimorfonucleares do sangue periférico no início da gestação

Gabriela Dalmaso de Melo ¹, Cecilia Constantino Rocha ¹, Igor Garcia Motta ¹, Gilmar Arantes Ataíde Junior ¹, Bruna Lafuente ¹, Camila Cupper Vieira ², Danilo Zago Bisinotto ¹, Juliano Coelho da Silveira ³, Manoel Francisco de Sá Filho ⁴, Angela Maria Gonella-Díaz ¹, Guilherme Pugliesi ¹

¹ FMVZ - Departamento de Reprodução Animal, Universidade de São Paulo (SP, Brasil), ² Unipampa - Departamento de Ciência Animal, Universidade Federal do Pampa (Uruguaiana - RS, Brasil), ³ FZEA - Departamento de Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo (Pirassununga - SP, Brasil), ⁴ Alta Genetics - Alta Genetics (Uberaba - MG, Brasil)

Objetivou-se com este estudo comparar a expressão de genes estimulados por interferons do tipo I (ISGs) em células polimorfonucleares do sangue periférico (PMNs) de novilhas gestantes e não-gestantes nos dias 14 e 18 após a IATF. Vinte e seis novilhas Nelore foram sincronizadas

por tratamento farmacológico à base de P4 e E2, e o dia da IATF foi designado como D0. O diagnóstico de gestação foi realizado por ultrassonografia nos dias 25 e 28 por meio da detecção da vesícula embrionária e batimento cardíaco. Nos dias 14 e 18 foram colhidos 25mL de sangue em tubos heparinizados por punção da veia jugular para o isolamento das PMNs. O isolamento foi realizado por meio do gradiente de Ficoll®Paque Plus (GE Healthcare, São Paulo, Brasil), em metodologia adaptada de Jiemtaweeboon et al. (Reproductive Biology and Endocrinology, 9:79-89; 2011). As amostras de PMNs de 5 novilhas gestantes e 6 não-gestantes foram submetidas à extração do RNA total, utilizando-se o kit Direct-Zol RNA Miniprep (Zymo Research, Irvine, EUA) conforme as instruções do fabricante. Cinco genes referência (GAPDH, PPIA, 18S, RPL30 e ACTB) foram quantificados pela reação em cadeia da polimerase em tempo real (qPCR), e por meio do software NormFinder, foram selecionados dois genes de expressão mais estável (GAPDH e ACTB). A expressão dos genes alvo (OAS-1, MX2 e ISG15) foi normalizada em relação aos dois genes referência pelo método comparativo Ct (Pfaffl, Nucleic Acids Research, 29:2001-2007, 2001). A abundância dos transcritos foi avaliada por análise de variância com medidas repetidas no tempo, considerando-se o efeito aleatório da novilha e os efeitos fixos do grupo (gestante ou não-gestante), dia e interação grupo e dia utilizando-se o PROC MIXED do software SAS (Versão 9.2; SAS Institute). Para o gene OAS-1 foi detectado efeito de tempo ($P=0.03$), grupo ($P=0.03$) e interação entre tempo e grupo ($P=0.0002$). A abundância desse transcrito não diferiu ($P=0.88$) entre fêmeas gestantes (1.43 ± 0.76) e não-gestantes (1.43 ± 0.76) no D14, mas foi maior nas novilhas gestantes no D18 ($P=0.0003$; 7.11 ± 3.24 vs. 0.30 ± 0.07). Houve um aumento ($P=0.02$) de 7 vezes na expressão desse transcrito entre o D14 e D18 nas novilhas gestantes, enquanto nas não-gestantes, houve uma redução ($P=0.05$) de 0.57 vezes. Um efeito de grupo ($P=0.02$) foi observado nos genes MX2 e ISG15, indicando um aumento de 3 e 7 vezes, respectivamente, na abundância desses transcritos em fêmeas gestantes. Conclui-se que um conceito bovino viável estimula a maior abundância de transcritos para os ISGs avaliados em PMNs circulantes, sendo esse efeito mais evidente no D18 para o gene OAS-1. Estudos são necessários para elucidar o perfil de expressão de ISGs em PMNs visando o uso desses genes como possíveis marcadores da gestação e como forma de diagnóstico precoce da gestação.

Agradecimentos: FAPESP (processos nº 2015/10606-9 e 2017/13472-9), Ourofino Saúde Animal e Alta Genetics.

Indução da ciclicidade em receptoras de embriões equinos

Ana Carolina Fanhani de Arruda Botelho ¹, Maria Fernanda Zamai Zamai ¹, Danieli Aparecida Bobbo Moreski ¹, Antonio Hugo Bezerra Colombo ¹, Isabele Picada Emanuelli ¹, Marcia Aparecida Andreazzi ¹, Fabio Luiz Bim Cavalieri ¹

¹UNICESUMAR - Centro Universitário de Maringá (Avenida Guedner, 1610, Jardim Aclimação, Maringá - Paraná)

O objetivo deste estudo foi investigar a utilização de implantes intravaginais de progesterona em éguas em anestro sazonal, visando antecipar a primeira ovulação da estação de monta. O experimento foi realizado na Fazenda Escola/BIOTEC, da Unicesumar, Maringá, Paraná, no

período de 20/08/2017 a 20/10/2017. Foram utilizadas dezenove éguas mestiças, avaliadas por exame ultrassonográfico (Aloka SSD-500™) duas vezes, com intervalo de 10 dias, objetivando verificar as condições do útero e ovários, bem como observar a presença ou ausência de corpo lúteo, caracterizando ou não o anestro. Mensurou-se o diâmetro dos folículos, através da média de suas medidas horizontal e vertical, o que permitiu classificar os animais nos dois tratamentos estudados: o grupo 1 (T1), composto por 11 animais, com a presença de folículo menor ou igual a 20 mm, e o grupo 2 (T2), com 8 animais que apresentaram folículo maior ou igual a 20 mm de diâmetro. Todos os animais receberam dispositivo intravaginal bovino (DIB® - Zoetis, São Paulo – SP, Brasil), contendo 1g de progesterona. Após sete dias, os dois grupos foram submetidos a exames ultrassonográficos diários para verificação do crescimento folicular. Os implantes foram retirados quando os animais apresentaram um folículo maior ou igual a 35 mm. Sendo assim, os animais permaneceram com o implante por tempos diferentes de acordo com o crescimento folicular e, um dia após a retirada do implante, todos os animais tiveram sua ovulação induzida por uma associação de 1500 U.I de hCG (Vetecor®, Hertape, Juatuba – MG, Brasil) aplicado pela via intravenosa, com 750 µg de deslorelina (GnRH – Sincrorrelin®, Ourofino, Cravinhos – SP, Brasil), aplicado pela via intramuscular. Os dados foram tabulados e as análises estatísticas das variáveis foram feitas empregando o procedimento PROC GENMOD do programa estatístico SAS (2000), versão 8.01, e mostraram que a porcentagem de animais que responderam ao tratamento e apresentaram folículo dominante maior do que 35 mm foi significativamente maior ($P < 0.05$) nos animais do grupo T2, totalizando 62.5% (5/8) do que no T1, que apresentou 36.3% de animais com folículo dominante (4/11). A média de tempo, em dias, para o aparecimento deste folículo também foi superior ($P < 0,05$) para o grupo T2 quando comparado ao T1 ($8,0 \pm 2,23$ e $9,50 \pm 0,57$, respectivamente). A taxa de ovulação das fêmeas neste estudo foi calculada em relação ao número de éguas que apresentaram um folículo de 35 mm de diâmetro e não foi alterada ($P > 0,05$) pelo emprego do implante de P4, uma vez que no T1 obteve-se 80,0% (4/5) de ovulação e no T2, 100,0% (5/5). De acordo com os resultados da pesquisa, conclui-se que o uso de dispositivos de progesterona não contribuiu para a antecipação da primeira ovulação nos animais estudados, porém auxiliaram na indução da ciclicidade das receptoras, mostrando que esta técnica pode tornar o manejo de fêmeas equinas mais eficiente, produtivo e sustentável sob o ponto de vista econômico e ambiental.

Avaliação transcricional de embriões bovinos submetidos a tratamento com moduladores da Acil-CoA sintetase de cadeia longa

Roniele Santana Valente¹, Tamie Guibu Almeida⁵, Mayra Fernanda Alves², Patricia Kubo Fontes⁴, Fernanda da Cruz Landim e Alvarenga⁴, Andrea Cristina Basso², Marcelo Fábio Gouveia Nogueira³, Mateus José Sudano¹

¹Unipampa - Universidade Federal do Pampa (Uruguaiana RS), ²IVB - In Vitro Brasil (Mogi Mirim SP), ³UNESP - Universidade Estadual Paulista (Assis SP), ⁴UNESP - Universidade Estadual Paulista (Botucatu SP), ⁵USP - Universidade de São Paulo (São Paulo SP)

A Acil-Coa sintetase de cadeia longa (ACSL) compõe uma família de enzimas que ativam ácidos graxos e participam de praticamente todas as vias de síntese de lipídica. O Triacsin C é um

regulador metabólico que atua como inibidor seletivo competitivo das ACLS 1, 3 e 4 inibindo quase completamente a síntese de triacilglicerol e fosfolípido. O GW3965 é um agonista capaz de induzir aumento na expressão de ACSL3. Avaliamos o efeito da suplementação do meio de cultivo com um estimulador (GW3965/ACS+) e um inibidor (Triacsin C/ACS-) da ACSL durante o desenvolvimento de embriões bovinos produzidos in vitro e o seu efeito na abundância de transcritos gênicos associados com metabolismo lipídico e com qualidade embrionária. Oócitos contendo citoplasma homogêneo e mais de três camadas de células do cumulus foram maturados e fecundados (dia 0). Os possíveis zigotos foram cultivados em SOFaaci contendo 2,5% de SFB. No dia 4 de cultivo, os embriões foram distribuídos aleatoriamente em quatro grupos: controle, ACS- (0,1 μ M), ACS+ (10 μ M), e associação de ambos moduladores (ACS \pm). As concentrações utilizadas foram pré-determinadas em estudo piloto. Blastocistos expandidos foram coletados em pools de 5 embriões para extração de RNA com o kit RNA PicoPure (Life Technologies). O preparo do cDNA foi realizado com Kit de High Capacity cDNA Reverse transcription (Applied Biosystems). Amostras foram pré-amplificadas e transferidas para uma placa de circuitos fluídicos integrados. Um painel de genes no chip 96.96 Dynamic Array™ Integrated Fluidic Circuits (Fluidigm) foi utilizado para a coleta de dados. As reações de qPCR foram realizadas no Sistema Biomark HD (Fluidigm) com protocolo TaqMan GE 96x96 Standard. Para análise da expressão relativa dos genes alvos foi usado o método de Pfaffl (Pfaffl, 2001), com a transformação logarítmica das frequências relativas da expressão gênica. O procedimento GLIMMIX do SAS foi utilizado para análise de variância (ANOVA) pelo método dos quadrados mínimos. A expressão de 36 genes foi significativamente afetada por pelo menos um dos tratamentos. Destes, 18 genes foram diferencialmente ($P < 0.05$) expressos apenas no grupo ACS \pm , motivo que ainda necessita ser melhor explorado. De modo geral, não foi encontrado número expressivo de genes diferencialmente expressos quando comparados o grupo controle com os tratamentos ACS+ (4 genes) e ACS- (1 gene). Destaca-se o aumento ($P < 0.05$) da abundância de transcritos de mRNA para ACSL3 em ACS+ e sua redução em ACS-, validando o efeito modulatório proposto. Adicionalmente, observou-se redução ($P < 0.05$) no nível de transcritos de ACSL6 no grupo ACS- e ACS \pm ; e aumento ($P < 0.05$) da abundância do HSP90AA1 no ACS+ quando comparados ao controle. Conclui-se que a utilização de Triacsin C e GW3965 como moduladores da ACSL nas células embrionárias demonstrou efetividade em seu propósito de modo que outros ensaios que investiguem demais efeitos fenotípicos são imprescindíveis.

O conteúdo de miRNAs de vesículas extracelulares pequenas é modificado de acordo com o nível de progesterona de folículos ovarianos em bovinos

Ana Clara Faquineli Cavalcante Mendes de Ávila¹, Gabriella Mamede Andrade¹, Alessandra Bridi¹, Maite del Collado¹, Felipe Perecin¹, Flávio Vieira Meirelles¹, Juliano Coelho da Silveira¹

¹ FZEA - USP - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo (Av. Duque de Caxias Norte, 225. Pirassununga-SP. Departamento de Medicina Veterinária.)

Vesículas extracelulares pequenas (VEs) são nanopartículas carreadoras de moléculas como microRNAs (miRNAs). As VEs participam da comunicação intercelular e são capazes de modular processos biológicos, como a comunicação entre células foliculares e o oócito no ambiente folicular. Durante o ciclo estral o ambiente folicular ovariano é influenciado pelo desenvolvimento do corpo lúteo (CL), havendo fases de baixos e altos níveis intrafoliculares de progesterona (P4). Estas mudanças em níveis hormonais impactam de maneira significativa a transcrição de diferentes genes no organismo e no ambiente folicular. A hipótese deste estudo é que o conteúdo de miRNAs das VEs presentes no fluido folicular (FF) ovariano é modulado pelos níveis intrafoliculares de progesterona. Para testar esta hipótese, ovários de abatedouro foram coletados em pares e classificados de acordo com aparência do CL e concentração de P4 do FF em grupos de baixa P4 (CL inicial; n=4 repetições) e alta P4 (CL tardio; n=5 repetições). Folículos entre 3-6 mm de diâmetro de cada grupo foram puncionados para obtenção do FF. A concentração de progesterona no FF foi de $63,62 \pm 6,79$ ng/mL no grupo baixa P4 e $158,8 \pm 17,47$ ng/mL no grupo alta P4 ($P=0,002$). Para o isolamento de VEs o FF foi centrifugado e filtrado ($0,22\mu\text{m}$) para eliminação de partículas maiores, seguido de duas ultracentrifugações ($120.000\times g$, 70 minutos). Então, foi realizada a extração de RNA total das VEs e análise da expressão relativa de 384 miRNAs precursores/maduros ou somente de miRNAs maduros por RT-PCR. Os dados foram submetidos ao teste T de Student considerando 5% de significância. Foi possível detectar 161 miRNAs precursores/maduros diferentes entre os grupos, sendo todos mais abundantes no grupo baixa P4 ($P<0,05$). Este resultado sugere uma maior modulação pós-transcricional por miRNAs encontrados nas VEs de folículos crescendo em baixos níveis de P4. A análise de miRNAs maduros demonstrou nove miRNAs diferentemente expressos entre os grupos sendo três elevados no grupo baixa P4 e seis elevados no grupo alta P4. O estudo comparativo entre miRNAs precursores/maduros e somente maduros dentro de um mesmo grupo demonstrou maiores níveis de miRNAs precursores/maduros nas VEs do grupo baixa P4: 98,59% assim como no grupo alta P4: 95,86% ($P<0,05$). Análises de bioinformática indicaram possível regulação por estes miRNAs de vias como transporte de RNA, PI3K-Akt, meiose oocitária e maturação oocitária mediada por progesterona. Em conclusão, o conteúdo de VEs é modificado de acordo com os diferentes níveis intrafoliculares de progesterona no fluido folicular ovariano, sendo que a maioria dos miRNAs estão na forma precursora. Portanto, este estudo sugere que VEs do FF contendo diferentes miRNAs podem modular o desenvolvimento folicular, possivelmente influenciado pelos diferentes ambientes endócrinos, podendo ser capaz de impactar a maturação e qualidade oocitária.

Financiamento: FAPESP (2014/22887-0; 2015/21829-9; 2017/02037-0).

Contagem de folículos antrais durante a gestação de vacas da raça Holandês

Ricardo Guella Dröher ^{1,2}, Fábio Morotti ^{1,2}, Amanda Fonseca Zangirolamo ^{1,2}, Marcelo Marcondes Seneda ^{1,2}

¹ INCT-LEITE - Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia para a Cadeia Produtiva do Leite (Universidade Estadual de Londrina, Rodovia Celso Garcia Cid-Campus Universitário, Cx. Postal 10.011, Londrina, Paraná), ² ReproA - Laboratório de Reprodução Animal (DCV-CCA, Universidade Estadual de Londrina, PR, Brasil.)

A população de folículos antrais ou contagem de folículos antrais (CFA) tem sido apontada como um dos principais fatores que influenciam na eficiência das técnicas reprodutivas. A CFA é descrita por ser uma característica variável entre diferentes vacas, mas com alta repetibilidade no mesmo animal. Entretanto, não há estudos relatando um acompanhamento da CFA ao longo da gestação. Desse modo, o presente estudo teve por objetivo comparar a CFA de vacas da raça Holandês no momento da IA e em dois momentos da gestação (30 e 60 dias) para investigar se o número de folículos antrais é alterado nesse período. Para isso, foram selecionadas 54 fêmeas Holandesas (*Bos taurus*), com idade média de 5 anos, confinadas em sistema *free stall*, submetidas às mesmas condições de manejo e alimentação. Um mesmo técnico realizou a IA das fêmeas, após detecção de cio natural ou induzido com 25 mg de Dinoprost (Lutalyse®, Zoetis, Brasil) por via intramuscular (IM). A CFA (folículos antrais ≥ 2 mm de diâmetro) destes animais foi estabelecida com utilização de um transdutor intravaginal convexo de 7,5 mHz (Aquila PRO, Pie Medical, Maastricht, Holanda), no momento da IA, aos 30 e 60 dias de prenhez. Sistemáticamente, as mesmas fêmeas foram avaliadas nos três momentos diferentes pelo mesmo técnico. Para análise estatística, o número de folículos antrais foi analisado por medidas repetidas empregando o modelo linear generalizado. Na presença de um efeito significativo, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey. Foi adotado $P \leq 0,05$ para indicar efeito significativo e suas interações. Como resultados, vimos que a CFA aumentou ao longo da gestação, passando de $55,1 \pm 3,1^c$ no momento da IA, para $82,6 \pm 4,2^b$, aos 30 dias e, $115,2 \pm 5,1^a$, aos 60 dias de prenhez ($P=0,0001$). Foi possível concluir que a CFA é maior durante a gestação do que no momento da IA. Desta forma, podemos sugerir o terço inicial da gestação como sendo uma alternativa para se produzir embriões devido ao aumento da CFA, talvez, para aumentar a eficiência da OPU/PIV em animais de baixa CFA, pois a população de folículos antrais está relacionada quantitativamente a produção de embriões.

Tratamento de progesterona intravaginal suprime o crescimento folicular em um protocolo hormonal para sincronização do estro e da ovulação em tempo fixo em éguas

Ana Paula Reway², Vinícius Maia Ribeiro de Godoy¹, João Vitor Cabianca Cabral de Vasconcellos¹, Marcela de Araújo Davoli Graciola¹, Ed Hoffmann Madureira², Luciano Andrade Silva¹

¹ FZEA USP - Universidade de São Paulo (Campus Fernando Costa, Universidade de São Paulo - Av. Duque de Caxias Norte, 225 - Zona Rural, Pirassununga/SP - Brasil 13635-900), ² FMVZ USP - Universidade de São Paulo (Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo Av. Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva, 87 - Cidade Universitária São Paulo/SP - Brasil 05508 270)

Estudos anteriores mostraram que os protocolos de sincronização do estro em éguas têm apresentado resultados satisfatórios, no entanto, um protocolo para a indução da ovulação em tempo fixo permanece um desafio. A hipótese sugeriu que o tratamento com a P4 causa supressão do crescimento folicular e a indução da ovulação ocorre às 42 ± 6 horas após o tratamento, em pelo menos 75% das éguas tratadas com uma combinação de GnRH e hCG. Este

estudo teve como objetivo desenvolver um protocolo hormonal para sincronizar o estro e induzir a ovulação em éguas. Quatro experimentos foram conduzidos utilizando 20 éguas cíclicas sem raça definida, com idade entre 6 e 14 anos. No experimento I os animais foram distribuídos em dois grupos e a remoção do dispositivo de progesterona no dia 7 e não no dia 9 justificou-se devido a maior supressão do crescimento folicular pela ação da P4. O experimento II testou se a eficiência do tratamento hormonal depende do estágio do ciclo de estral da égua e estabeleceu o melhor momento para a indução da ovulação. Foi realizada a detecção do dia da ovulação e os tratamentos hormonais foram iniciados nos dias 5, 10 ou 15 (G1, G2 e G3, respectivamente) após a ovulação, representando diferentes fases do ciclo estral. A diferença nas taxas de crescimento folicular entre os animais foi calculada durante a manutenção do dispositivo intravaginal e após a retirada até o dia anterior à ovulação. As diferenças nas taxas de crescimento folicular foram semelhantes ($P>0,05$) entre G1, G2 e G3 e os valores médios das mesmas foram respectivamente de 1,4; 1,02 e 1,3mm/dia. O maior número de ovulações ocorreu entre os dias 10 e 13 (62%; 36/58) com apenas duas ovulações espontâneas antes do previsto (3%; 2/58) e a indução da ovulação foi definida nos dias 10 e 12. Nos experimentos III e IV, o tratamento hormonal foi iniciado simulando uma condição de campo. No Dia 0, as éguas receberam 0,25mg IM de PGF2 α (Sincrocio, Animal Ouro Fino Saúde) e 1,44g P4 com o dispositivo intravaginal (Inovare Biotecnologia e Saúde Animal). Nos dias 6 e 8, as éguas receberam 0,25 mg IM PGF2 α . No dia 7, o dispositivo de P4 foi removido. No dia 10, a ovulação foi induzida com 1000UI de hCG (Chorulon,MSD Agroline) combinada com 0,75mg de GnRH (Sincrorrelin, Ouro Fino Saúde Animal) em éguas apresentando um folículo ≥ 35 mm de diâmetro. As éguas restantes tiveram o mesmo tratamento hormonal no dia 12, independente do tamanho folicular. Este protocolo mostrou-se eficaz para suprimir o crescimento folicular durante a estação reprodutiva; entretanto, a atresia folicular não ocorreu. A eficiência deste protocolo foi de 81,1%, considerando-se as 53 induções de ovulação, 43 (81,1%) ocorreram entre o D10 e D12 e apenas 10 (18,9%) não ovularam no período previsto. Novos estudos devem ser realizados em um número maior de animais para confirmar os nossos resultados. Em conclusão, 1,44g do dispositivo intravaginal P4 suprimiu o crescimento folicular durante a estação reprodutiva.

6) Clonagem, transgênese e células-tronco

Terapia com células tronco mesenquimais alogênicas em cão com cinomose em fase aguda

María Laura Lara Arias ¹, Fernanda da Cruz Landim ¹, Jean Guilherme Fernandes Joaquim ¹,
Joshua Benjamin Andrés Polanco Stuart ¹, Maira Belli ¹

¹UNESP - Botucatu - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Rua Prof.
Doutor Walter Mauricio Correa, s/n)

As células tronco mesenquimais (CTMs) derivadas de tecido adiposo tem despertado o interesse da comunidade científica para uso em pesquisas e terapias celulares devido ao seu reconhecido potencial proliferativo, imunomodulador, além da sua capacidade de regeneração tecidual. Devido a isto, elas são utilizadas no tratamento de inúmeras doenças, tanto sistêmicas quanto focais. A cinomose é uma doença viral que causa imunossupressão e comprometimento

multissistêmico, sem uma diretriz específica para seu tratamento. Dessa forma, é impossível garantir uma melhora clínica e em muitos casos a doença acaba evoluindo para o óbito do paciente. O objetivo do presente relato de caso foi avaliar o sucesso terapêutico do transplante de CTMs alogênicas por via intravenosa em paciente com cinomose em fase aguda e sinais clínicos de doença sistêmica. Foi atendido no serviço de acupuntura veterinária e dor crônica do hospital veterinário da FMVZ – UNESP Botucatu-SP, um cão, macho, sem raça definida, de 1 ano de idade, 12,4 Kg de peso diagnosticado por PCR positivo para cinomose. O animal apresentava sintomas de fase aguda, isto é, sinais respiratórios, digestórios, anorexia e sinais neuroclínicos, com evolução de 3 semanas. Ele recebeu o tratamento convencional de suporte que consistiu de fluidoterapia e antibiótico. No exame físico geral, encontrava-se apático e apresentando conjuntivite com secreções purulentas. No exame neurológico específico o animal apresentava tetraparesia não ambulatória com alterações dos nervos cranianos (reflexo de ameaça e oculomotor diminuído), dismetria, localizando-se a lesão em cerebelo e tronco encefálico, padrão multisistêmico encefálico típico da cinomose. No hemograma encontrou-se anemia moderada. Instituiu-se a aplicação intravenosa de CTMs, em volume de 1ml, com concentração de dez milhões de células alogênicas isoladas e produzidas pelo Laboratório de Terapia Celular e Reprodução Avançada do Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária. Após 5 dias do transplante, o paciente teve melhora dos sinais neurológicos e começou a recuperar os movimentos dos membros. Devido à evolução favorável do quadro infeccioso e neurológico do paciente, foi indicada a realização de reabilitação com sessões semanais até a melhora clínica completa. Após 1 mês do transplante, o exame neurológico revelou o reestabelecimento completo de todos os sinais neurológicos assim como a total funcionalidade dos membros, mostrando que a terapia com CTMs aplicadas por via endovenosa associada à reabilitação com acupuntura/ fisioterapia foi eficaz no tratamento do paciente. Os sinais neurológicos concorrentes da cinomose são de difícil manejo clínico na maioria dos casos, portanto, a utilização da terapia celular, associada a um manejo adequado foi fundamental na melhora clínica. É importante que estas novas estratégias de tratamento sejam avaliadas cientificamente para elucidar estas terapias no tratamento.

Efeito de longos períodos de resfriamento da pele de orelha à 5°C sobre o isolamento e cultivo de fibroblastos bovinos

Jessica Maresch de Araujo ¹, Rodrigo Arruda de Oliveira ¹, Heidi Christina Bessler Cumpa ²,
Carlos Frederico Martins ²

¹UnB - Universidade de Brasília (Campus Darcy Ribeiro, Instituto Central de Ciências, Asa Norte, Brasília, Brasil, CEP: 70910-900), ² EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Rodovia BR-020, Km 18 Caixa Postal:08223 CEP:73310-970 - Planaltina - DF)

O armazenamento de células somáticas viáveis em botijões criogênicos é uma etapa fundamental para realização da clonagem de bovinos por transferência nuclear (TN). Muitos reprodutores com potencial genético têm morrido subitamente sem que seu germoplasma tenha sido conservado *in vitro*. Neste contexto, o objetivo do presente estudo foi verificar o período máximo para isolamento de células somáticas para serem utilizadas na TN após a morte de um animal.

Para isso, orelhas de 6 fêmeas da raça nelore com média de 48 meses de idade, obtidas logo após o abate em frigorífico local, foram conservadas em geladeira a 5°C em sacos limpos fechados do tipo *ziplock* durante 21 dias. Nos dias 2, 4, 7, 14 e 21 após o óbito dos animais, foram realizados isolamento e cultivo de fibroblastos em meio DMEM suplementado com 10% de soro fetal bovino. Quando foi detectada a fase de confluência, as células foram congeladas em DMEM com 10% de DMSO. Foram realizadas as análises de início de crescimento celular (tempo que as primeiras células levaram para começar a crescer em torno das biopsias), tempo de crescimento celular até a confluência (quantos dias as células de cada animal levaram até atingir confluência celular), taxa de contaminação, períodos de resfriamento que o isolamento celular foi possível e concentração de células ao congelamento. Teste de médias e teste de Tukey à 5% foram realizados comparando os dados entre os períodos de resfriamento. O período mais longo que permitiu o isolamento celular em todos os animais foi de 14 dias, a partir do óbito dos animais e resfriamento das amostras (orelhas). Porém, o aumento no tempo de resfriamento alterou significativamente ($P < 0.05$) o crescimento inicial celular, sendo que em D4 foram necessários 4.33 ± 1.03 dias para sugerirem as primeiras células e em D14 cerca de 19.60 ± 2.19 dias. O tempo para alcançar a fase de confluência foi menor em D2 (28.00 ± 3.10 dias) em relação aos outros períodos de resfriamento. A concentração de células no momento de congelamento sofreu uma diminuição significativa ($P < 0.05$) somente em D14 (698.125 ± 131.203) em relação aos outros períodos ($1.571.656 \pm 234.462$). Contaminações no cultivo celular foram mais prevalentes nos períodos de resfriamento correspondentes a D14 e D21. Desta forma, este estudo demonstrou que a 5°C foi possível o isolamento e cultivo celular até 14 dias após o óbito do animal. Porém, o aumento no tempo de resfriamento interfere no padrão de crescimento celular.
Suporte financeiro fornecido pela Embrapa, projeto n.º 01130600106.02.04

Viabilidade de células-tronco mesenquimais caninas mantidas em temperatura ambiente por 50 horas

Andrielle Cunha², Andrei Fidelis², Margot Dode³, Hilana Brunel¹, Patricia Malard¹

¹ *BIO - Bio Biotecnologia (SMPW QD 05 Conj. 05 LT 01 Casa C)*, ² *UNB - Universidade de Brasília (Campus Universitário Darcy Ribeiro)*, ³ *Embrapa - Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (STN - Brasília)*

O uso de células-tronco mesenquimais (CTM) no tratamento de enfermidades vem apresentando crescimento significativo dentro da medicina veterinária, visto que é uma terapia que pode ser utilizada para acelerar a cicatrização, diminuir a inflamação e modular o sistema imune, devido à liberação de citocinas e fatores de crescimento. As CTM podem ser obtidas de diversos tecidos adultos, porém, a fonte mais comumente utilizada tem sido o tecido adiposo. Devido ao caráter emergencial de algumas situações, bem como necessidade de envio de CTM para diversas regiões brasileiras, surgiu uma opção para uso imediato das células em terapia: a criação de bancos de criopreservação de células alogênicas. Nesse contexto, o objetivo deste estudo foi avaliar o período de tempo em que é possível manter CTM viáveis, em temperatura ambiente, armazenadas em meio de transporte específico produzido pelo laboratório comercial BioCell®. Para isso, utilizou-se CTM obtidas do tecido adiposo de quatro cães, sendo cada animal

considerado uma réplica biológica. A linhagem de células utilizada foi previamente testada, por meio de imunofenotipagem, quanto aos marcadores já descritos na literatura que asseguram ser uma linhagem de CTM e induzidas à diferenciação celular. Após o cultivo e confluência, as células foram criopreservadas e mantidas em N₂ até o momento das avaliações. Inicialmente, as amostras criopreservadas foram descongeladas e ajustadas a 1x10⁶ / mL, protegidas da luz e armazenadas à temperatura ambiente em seringas de insulina no volume total de 0,5 mL de meio de transporte BioCell®. As amostras foram coradas pelo kit Alexa Fluor® 488 Annexin V/Dead Cell Apoptosis Kit (Molecular Probes) e, após 15 min de incubação, as amostras foram avaliadas em citometria de fluxo FlowSight® image (AMNIS, Seattle, WA). As avaliações foram iniciadas 2 h após o descongelamento e realizadas a cada 2 h, por um período de 36 h, com uma última avaliação às 50 h pós-descongelamento. Aproximadamente 30.000 células foram adquiridas por amostra e os resultados foram analisados utilizando o software de análise IDEAS V6.0 (AMNIS). Os resultados foram analisados por GraphPad (Prism 6) através do teste de análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey. Foi possível observar que, apenas após 30 horas em armazenamento à temperatura ambiente, a qualidade das células passou a ser diferente da observada em 2 horas de armazenamento. Até o momento de 28 horas a média de células viáveis foi de 78,5 ± 9,2. Com base nos resultados, foi possível concluir que, quando mantidas em meio de transporte específico, na concentração de 1x10⁶/mL, CTM obtidas de cães podem ser mantidas por até 30 horas à temperatura ambiente sem comprometer a viabilidade.

Caracterização de células tronco mesenquimais do cordão umbilical de bubalinos (*Bubalus bubalis*) da baixada maranhense

Victória Torquato Fernandes Dos Santos ¹, Luís Roberto B. Pires ¹, Higor Da Silva Ferreira ³,
Renata M. De Oliveira ², Breno G. G. Fernandes De Souza ¹, Ricardo De Macedo Chaves ¹,
Adriana Raquel De Almeida Anunciação ⁴, Jéssica Borghes ⁴, Lara Carolina Mário ⁴, Maria
Ângelo Miglino ⁴, Ana Lúcia Abreu Silva ¹, Felipe De Jesus Moraes Junior ¹

¹ UEMA - Universidade Estadual Do Maranhão (Cidade Universitária Paulo VI, Av. Lourenço Vieira da Silva, n 1000, Jardim São Cristovão. SÃO LUIS-MA), ² UFMA - Universidade Federal Do Maranhão (Av. dos Portugueses, 1966 - Vila Bacanga, São Luís - MA), ³ UFRGS - Universidade Federal Do Rio Grande Do Sul (Av. Paulo Gama, 110 - Bairro Farroupilha - Porto Alegre - Rio Grande do Sul), ⁴ USP - Universidade De São PAULO (Avenida Professor Luciano Gualberto, 374 - Butantã - São Paulo - SP)

Diversos estudos comprovam a eficácia terapêutica de células-tronco do cordão umbilical de diversas espécies, porém, existem poucos estudos que caracterizam essas células em búfalos. Dessa forma, o objetivo desse estudo foi isolar e identificar populações de células tronco originárias do cordão umbilical de bubalinos pós-morte. As amostras foram obtidas a partir da coleta de úteros fechados de búfalas prenhes, abatidas em abatedouros da cidade de Viana, Maranhão. Para isolamento das células, os úteros foram incisionados no laboratório de Reprodução Animal da Universidade Estadual do Maranhão - UEMA, e cordão umbilical foi retirado e lavados com PBS e antibiótico (100 µg/mL de estreptomicina e 100 UI/mL de penicilina), picotados em placas de Petri, acondicionados em garrafas de cultura contendo meio

α -MEM e incubados em estufa a 37°C e 5% CO₂. Para análise morfológica, as células foram avaliadas a cada 48 horas, durante 2 semanas. Alíquotas das culturas foram congeladas para posterior extração de RNA, para análise de expressão gênica dos marcadores de pluripotência CD29, CD44, SOX-2 e NANOG, através de RT-PCR em tempo real. A análise estatística foi realizada através do programa GraphPad Prism 5. Quanto aos resultados obtidos, as células apresentaram confluência de 80% a partir do 15º dia de cultivo, com elevada capacidade de expansão após a primeira passagem. Quanto a análise morfológica, foi observado que as células variaram de formato fusiforme a arredondado, indo de encontro à definição morfológica de células-tronco estabelecida pela *International Society for Cellular Therapy*. Através da análise de expressão gênica das culturas de segunda e quarta passagem, foi observado que ambas expressaram transcritos dos genes avaliados, sendo mais significativos na cultura de quarta passagem, por apresentarem maior número de células e expressão mais homogênea dos marcadores. De acordo com os resultados obtidos, foi possível considerar que o isolamento *post-mortem* de células-tronco mesenquimais do cordão umbilical de bubalinos (*Bubalus bubalis*) é viável, pois não houve alterações de viabilidade celular, e a expressão gênica confirma que estas são células tronco mesenquimais.

Caracterização de células tronco mesenquimais da medula óssea de bubalinos (*Bubalus bubalis*)

Luís Roberto B. Pires¹, Victória Torquato F. Dos Santos¹, Higor Da Silva Ferreira³, Renata M. De Oliveira², Breno G. G. Fernandes De Souza¹, Ricardo De Macedo Chaves¹, Adriana Raquel De Almeida Anunciação⁴, Jéssica Borghes⁴, Lara Carolina Mário⁴, Maria Angélica Miglino⁴, Ana Lúcia Abreu Silva¹, Felipe De Jesus Moraes Junior¹

¹ UEMA - Universidade Estadual Do Maranhão (Cidade Universitária Paulo VI, Av. Lourenço Vieira da Silva, n 1000, Jardim São Cristovão. SÃO LUIS-MA), ² UFMA - Universidade Federal Do Maranhão (Av. dos Portugueses, 1966 - Vila Bacanga, São Luís - MA), ³ UFRGS - Universidade Federal Do Rio Grande Do Sul (Av. Paulo Gama, 110 - Bairro Farroupilha - Porto Alegre - Rio Grande do Sul), ⁴ USP - Universidade De São Paulo (Avenida Professor Luciano Gualberto, 374 - Butantã - São Paulo - SP), ⁵ UEMA - Universidade Estadual Do Maranhão (Cidade Universitária Paulo VI, Av. Lourenço Vieira da Silva, n 1000, Jardim São Cristovão, São Luis-MA)

Células-tronco mesenquimais (CTM) são células indiferenciadas com alta capacidade de proliferação e habilidade de se diferenciar em vários tipos celulares. Os estudos com células-tronco da medula óssea são geralmente realizados em humanos, roedores, felinos e suínos, sendo escassos os trabalhos com animais de produção, principalmente bubalinos, devido à dificuldade de obtenção das amostras nessa espécie. Desta forma, o uso de animais abatidos como fonte de células-tronco se torna uma alternativa viável, facilitando a obtenção das amostras quando comparado ao método tradicional. O objetivo deste estudo foi isolar populações de células-tronco mesenquimais da medula óssea de após o abate. A medula óssea foi coletada do esterno de cinco búfalos oriundos do matadouro de Boituva – SP, após a lavagem da medula, ela foi ressuspendida em meio de cultivo Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM), e depositado

sobre uma solução de Ficoll-paque em uma proporção 1:1, centrifugado a 1200xG por 20 minutos. Após a centrifugação, foi aspirado a porção de células brancas que corresponde à fração de células nucleadas da medula. Em seguida, as células foram lavadas em PBS, centrifugadas 1200xG por 10 minutos, ressuspensas e plaqueadas a uma densidade de $2.10^5/cm^2$. As células foram expandidas em cultura até 3ª passagem, congeladas em tubos de criopreservação e armazenadas em freezer $-180^\circ C$ para estudos de caracterização. Para análise da curva de crescimento, as células foram semeadas na quarta passagem em placas de 24 poços com densidade de 2×10^4 células, e contadas no intervalo de 24, 48, 72 e 98h (3 poços por tratamento), para determinar o número de células e o melhor momento para a duplicação da população. A expressão genica dos marcadores de célula tronco CD29, CD44, SOX-2, NANOG e GAPDH presentes nas células, foi avaliada por PCR em tempo real (RT-qPCR). Após 48 horas do isolamento, observou-se adesão das primeiras células ao fundo das garrafas, atingindo confluência de 80% após 10 dias de cultivo, apresentando elevada capacidade de expansão in vitro. Ao observar a morfologia pela microscopia de luz, observou-se células fusiformes e alongadas, semelhantes aos fibroblastos. O tempo de duplicação da população foi 72 horas. Não ocorreu expressão de nenhum dos genes analisados nas amostras da medula óssea de bubalinos. Embora as células derivadas da medula óssea de bubalinos abatidos não tenha interferido na capacidade de crescimento e proliferação celular e apresentarem origem mesenquimatosa, é necessária a realização de mais testes e padronização da técnica de coleta, principalmente pelo comprometimento da expressão dos marcadores de pluripotência das células.

Efeito da aplicação de células-tronco na produção oocitária e embrionária de fêmeas bovinas

Júlia Gleyci Soares ¹, Guilherme Fazan Rossi ², Bernardo Marcozzi Bayeux ³, Gabrielle Ferrante Alves Moraes ¹, Flávia Morag Elliff ³, Yeda Fumie Watanabe ⁴, Fabio Morato Monteiro ⁵, Naiara Nantes Rodrigues ⁵, Jose Nelio de Sousa Sales ⁶, Marcelo F. G. Nogueira ⁷, Pietro Sampaio Baruselli ³, Edson Guimarães Lo Turco ¹

¹UNIFESP - Centro de Pesquisa em Urologia, Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo (São Paulo-SP), ²UNESP - Universidade Estadual de São Paulo, campus Jaboticabal (Jaboticabal-SP), ³USP - Departamento de Reprodução Animal, Universidade de São Paulo (São Paulo-SP), ⁴YVF Biotech - Vitrogen (Cravinhos-SP), ⁵APTA/IZ - Centro APTA Bovinos de corte, Instituto de Zootecnia (Sertãozinho-SP), ⁶UFLA - Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Lavras (Lavras-MG), ⁷FCL, UNESP - Departamento de Ciências Biológicas (Assis-SP)

A injeção de células-tronco mesenquimais (MSCs) alogênicas nos ovários pode melhorar qualitativa e quantitativamente os folículos e oócitos, com impacto positivo direto na PIVE. O objetivo do presente trabalho foi de avaliar a taxa de recuperação de oócitos por OPU e produção de embriões após a injeção de MSCs na camada cortical ovariana. No estudo, 27 vacas Nelore (*Bos indicus*) foram submetidas às sincronizações da onda de crescimento folicular [D-65: inserção de um dispositivo intravaginal de P4 (1,0 g) e administrações de BE (2,0 mg im) e PGF_{2α} (0,53 mg im, cloprostenol sódico)]. Cinco dias após (D-60), o dispositivo de P4 foi removido e os animais

submetidos a avaliações ultrassonográficas e *ovum pick up* (OPU) seguida de produção *in vitro* de embriões (PIVE). Estes procedimentos foram repetidos em intervalos de 30 dias (D-30 e D0). No D1, as vacas foram distribuídas em três grupos experimentais: CONT (não houve aplicação de células-tronco; n=7), CT1 (aplicação de MSCs - 5×10^6 células por ovário - na camada cortical de um dos ovários; n=10) e CT2 (aplicação de MSCs - 5×10^6 células por ovário - na camada cortical de ambos ovários; n=10). As MSCs alogênicas de origem adipogênica foram isoladas e cultivadas em meio de cultivo IMDM com 20% de SFB e 1% de P/S, a 37 °C em 5% de CO₂ para expansão celular até terceira passagem. Posteriormente, foram congeladas em DMSO e mantidas em nitrogênio líquido até o dia da aplicação nos ovários. No dia da injeção, as células foram descongeladas e o DMSO removido. Em seguida, foram mantidas em meio de cultivo IMDM até o momento da aplicação. Após a aplicação das MSCs, as vacas de todos os grupos foram submetidas novamente a sincronizações da onda, avaliações ultrassonográficas e aos procedimentos de OPU-PIVE aos 30, 60, 90, 120, 150 e 180 dias. Os dados foram analisados como medida repetida no tempo, utilizando o procedimento GLIMMIX do SAS. Após o tratamento com MSCs observou-se interação entre tratamento e tempo para as variáveis numéricas: total de folículos aspirados (P=0,001) total de oócitos recuperados (P=0,01), viáveis (P=0,03) e clivados (P=0,02), total de embriões por sessão de OPU (P=0,01) e de blastocistos eclodidos (P=0,05). Nas vacas que receberam MSCs, a curva de produção das variáveis numéricas apresentou menor redução no tempo em relação ao grupo CONT. Não foi observada interação entre tratamento e tempo para as taxas avaliadas. Verificou-se que as vacas que receberam MSCs tiveram aumento na taxa de recuperação (CONT=62,6%^b, CT1=62,8%^b e CT2=67,8%^a; P=0,01), taxa de oócitos viáveis (CONT=63,0%^b, CT1=64,3%^{ab} e CT2=67,8%^a; P=0,01), taxa de clivagem (CONT=63,8%^b, CT1=67,9%^a e CT2=64,5%^{ab}; P=0,03), taxa de blastocisto (CONT=34,7%^b, CT1=39,0%^a e CT2=33,3%^b; P=0,001) e taxa de blastocisto eclodido (CONT=26,8%^b, CT1=31,5%^a e CT2=26,2%^b; P=0,0003). Conclui-se que a aplicação de MSCs aumentou a eficiência da OPU-PIVE em fêmeas bovinas.

Agradecimentos: Fapesp 2012/50533-2 (GIFT).

7) Biotecnologias de suporte: Criopreservação e criobiologia, diagnóstico por imagens, biologia molecular e “ômicas”

Características morfofuncionais do corpo lúteo e diagnóstico precoce de gestação em ovelhas

Jairo Pereira Neves ¹, Leandro Becalet Rizzoni ¹, Carlos Antônio de Carvalho Fernandes ¹, Miller Pereira Palhão ¹, José Antônio Dias Garcia ¹, Maria Auxiliadora da Silveira e Pereira Neves ¹

¹ UNIFENAS - Universidade José do Rosário Velano (Rodovia MG 179 Km 0, S/N, Bairro Campus Universitário - Trevo - CEP 37130-000)

O objetivo deste estudo foi avaliar características morfofuncionais do corpo lúteo (CL) ovino nos primeiros 17 dias após ovulação e determinar a confiabilidade do diagnóstico de gestação precoce aos 17 dias de gestação, baseado na vascularização do CL. No experimento 1, a

avaliação morfofuncional do CL foi realizada em 34 ovelhas cruzadas Dorper x Santa Inês, divididas aleatoriamente em G1 (rufiadas) e G2 (acasaladas). Esses animais tiveram o estro sincronizado através de esponjas intravaginais impregnadas com 60mg de acetato de medroxiprogesterona (Progespon® - Zoetis. São Paulo. Brasil), introduzidas no D0 e retiradas no D9, no D7 foi aplicado 400UI de eCG/animal (Novormon® - Zoetis. São Paulo, Brasil) e 0,133mg de cloprostenol sódico/animal (Ciosin® - MSD Saúde Animal. São Paulo, Brasil). Após a data prevista da ovulação, os CLs foram inspecionados diariamente e mensuradas as áreas do CL e de fluxo sanguíneo (FS) até o 17º dia do ciclo, através da ultrassonografia transretal (modos –B e –Doppler). Amostras de sangue foram coletadas para dosagem de P4. Os dados foram analisados pelo PROC MIXED, utilizando teste T para efeito de grupo e teste LSD para efeito de dia e interação de grupo x dia (SAS 9.3). O nível de significância foi considerado $P < 0,05$. No experimento 2, 17 dias após a cobertura, o diagnóstico precoce da gestação (DPG) foi realizado em 62 ovelhas, classificando como Gestante os animais que apresentaram área de FS em pelo menos um CL e, aqueles com CL sem vascularização aparente como Não-gestantes. No 30º dia do ciclo (D30), o diagnóstico de gestação (DG30) foi confirmado por ultrassonografia em modo-B e comparado retrospectivamente com o DPG. Considerando o DG30 como padrão ouro, foram calculados os índices de sensibilidade (SEN), especificidade (ESP), valor preditivo positivo (VPP), valor preditivo negativo (VPN) e acurácia (ACC) para o DPG. No experimento 1, a área do CL aumentou até o D5 ($P < 0,0001$) em ambos os grupos (G1 e G2), sem crescimento significativo nos dias subsequentes, havendo divergência entre os grupos no D13 ($P < 0,0001$) com uma redução acentuada na área do CL do G1. A área FS acompanhou um padrão similar ao observado para área do CL em ambos os grupos. As concentrações plasmáticas de P4 tiveram um aumento progressivo até o D6 ($P < 0,0001$) para o G1 e G2 seguido por queda em suas concentrações no D12 ($P < 0,0001$) para o G1. No experimento 2, o DGP apresentou uma SEN de 100,0%, ESP de 80,5%, VPN 100,0%, VPP de 73,3% e ACC de 87,1%. A proporção de falso positivo foi 12,9% (8/62), causado por ciclos longos e perdas embrionárias precoce, não sendo observado resultados falso negativos. A utilização da ultrassonografia Doppler demonstrou ser uma ferramenta confiável para a avaliação das características morfofuncionais do CL de ovinos e para o diagnóstico de gestação precoce.

Apoio: Fapemig, Capes e CNPq.

Efeito do estresse térmico na maturação de oócitos bovinos, na produção in vitro de embriões e expressão de genes relacionados à resposta ao estresse

Ana Caroline Bini de Lima ¹, Mirela Brochado Souza Cáceres ², Aldair Félix da Silva ¹, Janaina Menegazzo Gheller ¹, Geancarlos Carraro da Silva ¹, Christopher Junior Tavares Cardoso ³, Daniela Moraes Pereira ¹, Eriklis Nogueira ⁴, Wilian Aparecido Leite da Silva ³, Silvio da Silva Oliveira ¹, Giovanna de Lima Ortiz ¹, Fabiana de Andrade Melo Sterza ¹

¹ UEMS - Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul (Rodovia Aquidauana/UEMS - Km 12),

² UEL - Universidade Estadual de Londrina (Rodovia Celso Garcia Cid - PR 445 Km 380),

³ UFMS - Universidade Federal do Mato Grosso do Sul (Cidade Universitária Universitário - Av. Costa e Silva - Pioneiros, Campo Grande - MS), ⁴ EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Rua 21 de Setembro, 1880 - Aeroporto, Corumbá - MS)

As sirtuínas são da família de histonas desacetilase (HDAC) e estão envolvidas na regulação da ativação da transcrição e apoptose. Nesse sentido, o objetivo deste estudo foi investigar a influência de diferentes temperaturas durante a maturação *in vitro* sobre a competência do desenvolvimento de oócitos bovinos, bem como a expressão de mRNA das sirtuínas. Os complexos cumulus-oócito (COCs) de vacas Simental foram corados com Brilliant Cresilblue (BCB) e categorizados como BCB+ ou BCB-. Logo após, foram maturados *in vitro* em diferentes temperaturas (37°C, 38,5°C e 40°C). Após a MIV os oócitos foram desnudos e avaliados quanto à taxa de extrusão do corpúsculo polar, as células do cumulus foram armazenadas para análise. Com os oócitos foi realizada a PIVE. Foi realizada PCR em tempo real de oócitos e células do cumulus para determinar expressão do mRNA das sirtuínas. Para dados paramétricos, foi realizada ANOVA e quando uma diferença significativa foi encontrada, o teste de Tukey com 5% de probabilidade foi realizado. Para dados não paramétricos, foi realizado o teste estatístico de Kruskal Wallis com 5% de probabilidade (software R). As diferentes temperaturas de maturação não influenciaram significativamente a taxa de maturação e a taxa de clivagem de oócitos. No entanto, os COCs maturados em 38,5°C (controle) apresentaram maior taxa de blastocistos (37%), em contraste com os maturados à 37°C e 40°C (33,2% e 21,5%, respectivamente). Em todas as diferentes temperaturas, as taxas de blastocistos foram maiores para os oócitos BCB+ do que para os oócitos BCB-. Nos oócitos BCB+ a expressão de mRNA SIRT1, SIRT2, SIRT3 e SIRT5 foram maiores após a maturação do que em oócitos imaturos, para oócitos BCB- não foi observado. Além disso, a temperatura de maturação provou ter um efeito sobre a expressão do mRNA SIRT1, SIRT2, SIRT3 e SIRT5 em oócitos BCB+, sendo que o grupo controle se destacou em todos os casos. Quando as células do cumulus foram avaliadas, apenas a expressão de mRNA do gene SIRT2 não apresentou efeito diante das diferentes temperaturas nos oócitos BCB+, sendo que a expressão do mRNA do gene SIRT 1 apresentou maior expressão na temperatura de 38,5°C. Já a expressão do gene SIRT 3 e 5 apresentaram efeito na temperatura de 40°C. As células do cumulus de oócitos BCB- tiveram um efeito somente na expressão de mRNA do gene SIRT3, onde apresentaram maior expressão na temperatura de 40°C. Os oócitos classificados como BCB+ são mais resistentes as diferentes temperaturas em relação aos oócitos BCB-. Além disso, a temperatura de MIV também influencia a expressão gênica de SIRT 1, 2, 3 e 5 importantes na proteção celular. Sendo a temperatura mais quente (40°C) a que sofreu mais efeitos diante da temperatura. Logo, é possível afirmar que oócitos de baixa qualidade, de acordo com o corante BCB, submetidos a MIV fora da temperatura ideal provocam efeitos irreversíveis nos oócitos e diminuem a produção de blastocistos.

Eficácia da Ultrassonografia Doppler para detecção de não prenhez em vacas de corte receptoras submetidas a duas transferências de embriões em 24 dias

Gilmar Arantes Ataíde Junior ¹, Carlos Augusto Gontijo Pellegrino ², Izaias Claro Júnior ³, Mauro Meneghetti ³, João Gabriel de Grázia ⁴, Antônio Carlos Nogueira de Góis ⁴, Fabrício Gonçalves ³, Fabio Torres ³, José Luiz Moraes Vasconcelos ⁵, Guilherme Pugliesi ¹

¹USP - FMVZ - Universidade de São Paulo - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (Pirassununga, São Paulo, Brasil), ²PROLE - Prole - Reprodução Animal Assistida (Nova Lima, MG, Brasil), ³Zoetis - Zoetis (Campinas, SP, Brasil), ⁴Apoyar - Apayar Biotech (Belo Horizonte, MG, Brasil), ⁵UNESP - Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho" - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (Botucatu, SP, Brasil)

O objetivo do presente estudo foi avaliar o desempenho reprodutivo de vacas de corte receptoras avaliadas por ultrassonografia (US) nos modos B e Doppler colorido (DPC) para detecção de regressão do Corpo Lúteo (CL) para submissão a dois protocolos de Transferência de Embrião em Tempo Fixo (TETF) em 24 dias. Vacas Nelore lactantes (n=211) foram submetidas a um protocolo a base de P4/E2 para TETF. No D7 (D0=ovulação esperada) as vacas foram avaliadas por US transretal utilizando modo B e instrumento de US com DPC (Z5; Mindray, China), e receberam um embrião produzido in vitro. No D13 todas as vacas receberam um (n=138) ou dois (n=73) implantes intravaginais com P4 (CIDR, Zoetis, SP, Brasil). No D22, CIDRs foram retirados e as vacas reavaliadas por US. Como foi descrito por (Pugliesi et al., 2014), o CL foi avaliado nos modos B e DPC para mensuração da área e perfusão sanguínea, respectivamente. Vacas com sinais coloridos no CL indicando perfusão sanguínea $\leq 25\%$ eram diagnosticadas como não prenhes (NP) e recebiam 1mg de cipionato de estradiol (ECP, Zoetis), 25 mg de dinoprost trometamina (Lutalyse, Zoetis) e 300 UI de eCG (Novormon, Zoetis) para indução da ovulação. Na avaliação em modo B, as vacas que tinham CL $< 2\text{cm}^2$ foram consideradas NP. Diagnósticos de gestações (DG) no D22 dos modos B e DPC (padrão ouro) foram comparados e categorizados como corretos ou incorretos. No D31 as vacas NP foram avaliadas, as que tinham um novo CL receberam um novo embrião. Gestação foi confirmada 80 dias depois da primeira e 40 dias após a segunda TETF pela detecção do embrião ou batimento cardíaco fetal. Dados binomiais foram avaliados por teste Exato de Fisher pelo PROC FREQ do SAS. No D22, 48,3% (102/211) das vacas foram diagnosticadas como não NP pelo DPC e foram resincronizadas. DG foi igual entre os modos B e DPC em 95,3% (201/211). Sensibilidade, especificidade, valores preditivos negativos e positivos foram de 92,2%, 98,2%, 98% e 93,0%, respectivamente. Os valores incorretos foram 8 falsos negativos (NP para o modo B, mas prenhes (P) para o modo DPC) e 2 falsos positivos (P para o modo B, mas NP para o modo DPC). O valor calculado de Kappa (0.905) indica concordância entre os dois métodos. No D80, 67,8% (75/109) das vacas diagnosticadas como P no D22 permaneceram P. Perda de gestação foi maior (P=0,05) para as vacas resincronizadas com 2 CIDRs (45,3%, 19/42) do que com um CIDR (26,4%, 15/57). Na segunda TETF, a taxa de utilização das vacas foi de 81,4% (83/102) e a taxa de gestação para as vacas que receberam embrião foi 48,1% (38/102). Taxa de prenhez acumulada foi 53,6% (113/211). Em conclusão, o uso da detecção precoce das vacas NP no D22 por US DPC associada com a inserção do CIDR no D13 para a resincronização da ovulação, resulta em taxas de utilização e gestação adequadas e permitem o intervalo de 24 dias entre TETFs em vacas de corte.

Agradecimentos: FAPESP (2015/10606-9; 2016/23964-3), DPS (Adriane), PECSA, Zoetis, and Felipe and Miguel de Col.

Os valores Dopplervelocimétricos da artéria testicular de cães podem mudar de acordo com a região aferida?

Luiz Guilherme Corsi Trautwein ¹, Anne Kemmer Souza ¹, Ana Beatriz Marques de Almeida ¹,
Maria Isabel Mello Martins ¹

¹UEL - Universidade Estadual de Londrina (Laboratório Reproa, Departamento de Clínicas
Veterinárias, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Paraná, Brasil)

A manutenção tecidual dos testículos é realizada pela artéria testicular e sua hemodinâmica pode ser avaliada com a utilização da ultrassonografia Doppler. O objetivo do presente trabalho foi caracterizar e comparar a velocidade de pico sistólico (VPS), velocidade diastólica final (VDF) e os índices de pulsatilidade (IP) e resistividade (IR) entre cinco regiões da artéria testicular, três previamente descritas (suprtesticular distal, marginal e intratesticular) e duas regiões propostas (suprtesticular proximal e média). Utilizou-se 22 cães de porte médio, com peso médio de 11,6 ± 5,5 kg, foram mensurados o VPS, VDF, IP e IR da artéria testicular nas regiões suprtesticular proximal, média e distal, marginal e intratesticular. Para avaliação das regiões foi localizado o plexo pampiniforme e a probe foi movimentada cranialmente até a porção mais próxima do anel inguinal (região suprtesticular proximal). A porção entre a região suprtesticular proximal e caudal foi caracterizada como suprtesticular média. As variáveis foram comparadas entre as regiões utilizando o teste de Kruskal-Wallis. Para comparação das regiões entre o testículo esquerdo e direito utilizou-se o teste Mann-Whitney, com auxílio do software SigmaPlot 11.0 e nível de significância <5%. Não houve diferença na hemodinâmica mensurada pelo Doppler entre os testículos esquerdo e direito. As medianas para VPS (cm/s), VDF (cm/s), IP e RI nas cinco regiões foram respectivamente: região suprtesticular proximal (23,1; 3,7; 2,1 e 0,8); suprtesticular medial (17,2; 4,5; 1,5; 0,7); suprtesticular distal (12,2; 5,7; 0,8; 0,5); marginal (11,3; 6,5; 0,5; 0,4); e intratesticular (5,7; 3,5; 0,5; 0,4). Houve diferença entre o VPS das regiões suprtesticular média e distal. Houve diferença do VPS, VDF, PI e IR entre as regiões suprtesticular distal, marginal e intratesticular. A mensuração do VPS, VDF, IP e RI da artéria testicular de cães nas cinco regiões propostas evidenciou resultados diferentes, relacionados às diferenças hemodinâmicas e morfológicas da artéria durante o seu trajeto no cordão espermático e ao adentrar aos testículos. Ao conhecimento dos autores esta é a primeira descrição da Dopplervelocimetria da artéria testicular de cães nas regiões suprtesticular proximal e média. Por haver diferença nos valores Doppler de acordo com a região aferida, há a necessidade de identificação da região nas avaliações Dopplervelocimétricas da artéria testicular de cães.

Dodecil Sulfato de Sódio na criopreservação de sêmen ovino

Arnaldo Diniz Vieira ¹, Nathália Wacholz Knabah ¹, Rafael Mielke Barbosa ¹, Betina Capeletti ¹,
Jenniffer Hauschildt Dias ¹, Karina Lemos Goularte ¹, Thomaz Lucia Júnior ¹, Rafael Gianella
Mondadori ¹

¹UFPEL - Universidade Federal de Pelotas (Av. Gomes Carneiro, 01)

O uso de produtos comerciais contendo o detergente Lauril Sulfato de Sódio (SLS) como aditivo no diluente para congelamento de sêmen ovino, melhora a qualidade espermática pós-

descongelamento. Porém, pelo fato da concentração de SLS não ser divulgada, alguns trabalhos buscaram a alternativa de utilizar o detergente Dodecil Sulfato de Sódio (SDS) como substituto. Como ainda não existe a definição da quantidade ideal do detergente, este trabalho teve por objetivo determinar a melhor concentração de SDS para uso como aditivo no diluente Tris-Gema-Glicerol (TGG) para congelamento de sêmen ovino. Ejaculados de quatro carneiros adultos, com motilidade progressiva (MP) $\geq 70\%$ foram agrupados em um *pool* (n=5) contendo a mesma contribuição espermática de cada macho. O *pool* foi diluído em TGG (2×10^9 spz/mL), constituindo cinco grupos: controle sem detergente (CON-), controle com SLS (CON+; 0,5% de Equex[®]), e grupos com SDS nas concentrações de 0,017% (G1), 0,05% (G2) e 0,15% (G3). O sêmen foi envasado em palhetas de 0,25mL, que foram resfriadas a 0,5°C/min até 5°C. Após estabilização de 90min a 5°C, as amostras foram expostas por 10min ao vapor de nitrogênio líquido (4cm acima) antes de serem congeladas a -196°C. No momento da avaliação, amostras pareadas foram descongeladas e incubadas a 37°C. A MP pós-descongelamento foi determinada pelo sistema de análise computadorizada (CASA, Sperm Vision[®]), considerando quatro períodos de incubação: 10min (T0), 60min (T1), 180min (T2) e 300min (T3). As integridades de membrana e acrossoma foram determinadas no T0 por citometria de fluxo (Attune[®]). As variáveis foram analisadas por ANOVA e as médias comparadas teste de Tukey. No T0, a média de MP dos grupos com SDS (60,5%) foi superior ($P < 0,05$) à observada nos grupos CON- e CON+ (47,3%), que tiveram médias similares ($P > 0,05$). No T1, as médias de MP foram similares entre os grupos, embora a MP no grupo G3 seja maior do que no CON- ($P < 0,05$). No T2, o grupo G1 apresentou MP similar ao G2 (39,3%), porém superior ($P < 0,05$) a média observada nos demais grupos (30,6%). No T3, a MP do G2 (33,8%) foi maior ($P < 0,05$) do que a média do G1, CON- e CON+ (24%). No grupo CON+ os espermatozoides apresentaram maior integridade do acrossoma (73%) do que no CON- (54% - $P < 0,05$), sem outras diferenças entre grupos. Em geral, o sêmen ovino congelado com SDS apresentou maior viabilidade do que ambos os controles. Em virtude da menor perda de MP ao final das avaliações *in vitro*, concluímos que o SDS deve ser usado na concentração de 0,05%. Porém, estes resultados devem ser testados *in vivo* para confirmação da viabilidade do uso de 0,05% de SDS como aditivo no congelamento de sêmen ovino.

Análise de Hub Genes da criotolerância embrionária em *Bos taurus*

Fernanda A Pereira ¹, Diana P Caetano ¹, Franciele Lanzarini ¹, Sônia C.S. Andrade ², Mateus J Sudano ¹

¹UNIPAMPA - Universidade Federal Do Pampa (BR 472 Km 585 Uruguaiana RS), ² USP - Universidade de São Paulo (R. do Matão, 277 - Butantã SP)

A criopreservação de embriões amplia o uso da transferência de embriões no manejo reprodutivo de fazendas. No entanto, os embriões produzidos *in vitro* possuem elevada sensibilidade à criopreservação. O objetivo deste trabalho foi identificar e investigar a regulação dos Hub Genes de embriões com alta e baixa criotolerância. Oócitos bovinos imaturos (n=3926) foram maturados, fertilizados e cultivados *in vitro*. Blastocistos expandidos (n =894) grau I foram vitrificados pelo método *cryotop*. Os blastocistos vitrificados foram aquecidos, re-cultivados nas

mesmas condições do cultivo, e as taxas de re-expansão e eclosão dos embriões foram registradas em 6 e 12 h após o aquecimento. Uma rigorosa avaliação morfológica foi realizada por técnico experiente e os embriões foram classificados como: alta criotolerância (AC: blastocistos com o blastocele completamente re-expandida seguido de eclosão 12 h após o aquecimento e sem ou com leves sinais de degeneração); e baixa criotolerância (BC: blastocistos com blastocele pouco expandida não seguido de eclosão 12 h após o aquecimento e com sinais graves de degeneração) após criopreservação. Blastocistos AC e BC (123 blastocistos / grupo; pool de 41 blastocistos por réplica; n = 3) foram utilizados para extração do RNA (PicoPure®). Apenas amostras com integridade de RNA $\geq 7,7$ foram submetidas à preparação da biblioteca (New England-Biolabs®) e RNAseq (Illumina®). Os dados de sequenciamento foram filtrados por qualidade, mapeados contra o genoma de *Bos taurus* e os valores de FPKM foram obtidos para a análise de co-expressão using *Partial Correlation with Information Theory* e posterior identificação dos *Hub Genes* (HB). Para análise de conexões dos HB foi utilizado software Graphia Professional (Kajeka®) e análise de enriquecimento foi realizada nas plataformas DAVID e Panther. Foi identificado um total de 20 HB, 16 presentes em AC (12 modulação positiva/ 4 modulação negativa) que regulam 1129 genes, e 13 expressos em BC (11 modulação positiva/ 2 modulação negativa) que regulam 605 genes (p <0,05). Os principais processos biológicos enriquecidos para os HB de blastocistos com AC foram desenvolvimento de organismo multicelular, adesão célula a célula, migração celular; enquanto em BC foram regulação negativa do processo apoptótico, e ativação da via PI3K/AKT. Os genes regulados positivamente pelos HB de maior importância nos grupos AC e BC apresentaram as mesmas funções biológicas enriquecidas: processos metabólicos (transporte celular, moléculas e organelas), e regulação celular e biológica. Já os genes regulados negativamente pelos HB de ambos os fenótipos (AC e BC) enriqueceram funções de processos celulares do sistema imunológico. Este estudo apresenta os HB e processos/funções biológicos envolvidos na retomada do desenvolvimento embrionário após a criopreservação. Processos biológicos associados ao ciclo celular e junções celulares parecem ser cruciais para criotolerância embrionária.

Expressão de PTGS2 nas células do cumulus é um potencial biomarcador da qualidade oocitária independentemente das variáveis clínicas das pacientes

Luiza da Silva Rodrigues ¹, Lucia von Mengden Meirelles ¹, Marco Antonio De Bastiani ¹, Lucas Kich Grun ¹, Leticia Schmidt Arruda ², Carlos Alberto Link ², Milvo Antonio Pozzer ², Florencia Maria Barbé-Tuana ¹, Fabio Klamt ¹

¹UFRGS - Universidade Federal do Rio Grande do Sul (Av. Paulo Gama, 110 - Bairro Farroupilha - Porto Alegre - Rio Grande do Sul), ²ProSer - Clínica ProSer de Reprodução Assistida (R. Cel. Paulino Teixeira, 97 - Rio Branco, Porto Alegre)

A expressão gênica em células do Cumulus (CCs) já foi sugerida como ferramenta preditiva para a qualidade oocitária em vários estudos. Ainda assim, há pouco consenso sobre quais biomarcadores realmente seriam clinicamente eficientes e aplicáveis (Fragouli, Human Reproduction Update, 20: 1-11, 2014). Analisamos os dados de expressão gênica de CCs

considerando as características clínicas das pacientes e o potencial do oócito, com o objetivo de identificar possíveis biomarcadores de competência oocitária aplicáveis independentemente das características clínicas das pacientes. Foram obtidas amostras de CCs agrupadas de 29 pacientes submetidas ao procedimento de ICSI. Os oócitos correspondentes às amostras foram acompanhados até o dia 5 após ICSI, e as amostras foram divididas em grupo de Boa Qualidade (GQ) (n = 11) e grupo de má qualidade (PQ) (n = 18) de acordo com a formação de blastocistos. Cada amostra foi submetida a reação em cadeia de polimerase quantitativa de transcriptase reversa (RT-qPCR) em StepOnePlus™ (Applied Biosystems, EUA). Oligonucleotídeos foram selecionados para serem complementares à sequência humana de Anexina 1 (ANXA1), Prostaglandina-endoperóxido sintase 2 (PTGS2), Glutathione Peroxidase 4 (GPX4) e Glutathione-S-Transferase 1 (GST1). A expressão relativa foi calculada pelo método $2^{-\Delta\Delta CT}$ (Livak e Schmittgen, *Methods*, 25: 402-408, 2001). Os dados clínicos das pacientes (diagnóstico de infertilidade, IMC, idade e protocolos de estimulação) e dados experimentais foram combinados usando o pacote *mice* (Buuren e Groothuis-Oudshoorn, *Journal of Statistical Software*, 45, 2011) em um modelo de regressão múltipla construído usando a porcentagem de blastocistos como variáveis dependentes e dados clínicos como variáveis independentes. Modelos de teste compostos de variáveis clínicas e de cada dado dos ensaios foram comparados com o modelo de linha de base. Todos os procedimentos e cálculos foram realizados em ambiente estatístico R. As diferenças dentro dos grupos experimentais foram determinadas pelo teste Mann-Whitney (GraphPad® Software 5.0). Quando submetidos ao teste de Mann-Whitney, apenas a expressão de ANXA1 mostrou ser significativamente diferente entre os grupos GQ e PQ ($P < 0,05$), sendo elevado no grupo GQ. Os resultados da expressão gênica foram então submetidos à análise de regressão linear, indicando que os níveis de expressão de ANXA1 não eram um potencial preditor da qualidade oocitária quando consideramos informações clínicas. Contrariamente, os níveis de expressão de PTGS2 se mostraram superexpressos no grupo GQ ($P < 0,05$), e esta significância é independente das variáveis clínicas de cada paciente. Tanto quanto sabemos, este é o primeiro estudo sugerindo um biomarcador encontrado em CCs que prevê o potencial de formação de blastocisto independentemente da idade dos pacientes, diagnóstico de infertilidade, IMC e protocolo de estimulação.

Efeito do sexo na expressão gênica de embriões bovinos produzidos *in vitro* vitrificados por cryotop

Ligiane de Oliveira Leme^{1,2}, José Oliveira Carvalho Neto¹, Margot Alves Nunes Dode²

¹UFES - Universidade Federal do Espírito Santo (Alegre/ES), ² Embrapa RGB - Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (Brasília/DF)

Sabe-se que embriões machos e fêmeas são diferentes quanto velocidade de desenvolvimento, metabolismo, padrão de expressão de genes, padrões epigenéticos e resistência a várias condições de estresse. Desta forma, presume-se que a resposta à criopreservação também seja diferente entre embriões macho e fêmea, entretanto não existem relatos na literatura que avaliem o efeito do sexo na resposta dos embriões bovinos à vitrificação. Neste estudo avaliou-se a expressão de oito genes, relacionados a apoptose e danos celulares (FOSL1, HSPB1, CASP3 e

CASP8), ao estresse térmico (HSPA5 e HSPA1A) e vias do metabolismo da glicose (G6PD e PGK1) em embriões bovinos PIV, por qPCR, com o objetivo de averiguar diferença entre embriões bovinos macho e fêmea criopreservados. Para tanto, foram utilizados ovócitos obtidos de ovários de abatedouro, submetidos à MIV por 24 horas, inseminados com sêmen de touro previamente testado e os possíveis zigotos foram transferidos para meio de cultivo *in vitro* (CIV), onde permaneceram por 7 dias. Avaliou-se taxas de clivagem em D2, e de blastocistos em D6 e D7. Em D7, embriões em estágio de blastocisto expandido foram removidos do CIV e divididos em dois tratamentos: controle (C) e vitrificados (V) pelo método *Cryotop* (Cryo-Ingá: Ingamed®, Maringá, Brasil). Após o processo de desvitrificação, os embriões dos grupos C e V retornaram para as condições de CIV por mais 24 horas, e em seguida os embriões eclodidos foram armazenados individualmente em solução de DM-PBS à $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ para determinação do sexo. Cada embrião foi submetido ao processo de extração de DNA e RNA simultaneamente, utilizando o AllPrep DNA/RNA Mini Kit (Qiagen®, Hilden, Alemanha). O DNA extraído foi utilizado para determinação do sexo do embrião, que foi realizada por PCR e confirmado em gel de agarose 1,5%. Com os resultados da sexagem, foram formados 3 *pools* de embriões machos C e V e 3 *pools* de embriões fêmeas C e V, contendo 20 embriões cada um. Esses *pools* foram utilizados para quantificação da expressão de genes por qPCR, utilizando *Sybr Green FAST Master Mix*. Os genes ACTB e GAPDH foram utilizados como controles endógenos. Os dados foram analisados pelo teste t, considerando $P \leq 0,05$. Dentre os genes analisados, embriões fêmeas e machos diferiram entre si no tratamento V para os genes HSPA1A ($P = 0,0043$), CASP3 ($P = 0,0037$) e G6PD ($P = 0,0071$) e no grupo C, para o gene G6PD ($P = 0,0526$). Os resultados indicam que o sexo não afetou a resposta a criopreservação, pois não houve diferença entre tratamento nos embriões de mesmo gênero. Entretanto, ficou evidente que embriões bovinos machos e fêmeas são diferentes, independente de terem sido submetidos ou não a vitrificação, e que as diferenças encontradas se devem ao sexo pois embriões fêmeas apresentaram maior abundância relativa de RNA mensageiro em relação aos embriões machos.
Apoio financeiro: CAPES, FAPES, Embrapa.

Ultrassonografia Modo-B de corpo lúteo como ferramenta de diagnóstico precoce de gestação em cabras

Isabel Oliveira Cosentino ¹, Mario Felipe Alvarez Balara ¹, Felipe Seabra Cardoso Leal ²,
Vanessa Moreira Barbosa dos Santos ¹, Joanna Maria Gonçalves Souza-Fabjan ¹, Eduardo Kenji
Nunes Arashiro ¹, Felipe Zandonadi Brandão ¹

¹UFF - Universidade Federal Fluminense (Rua Vital Brasil Filho, 64 Santa Rosa - Niterói - Rio de Janeiro), ² Capril Vale das Amalthéias - Capril Vale das Amalthéias (Sapucaia, Rio de Janeiro, Brasil)

A avaliação de corpo lúteo (CL) através da ultrassonografia (US) já foi demonstrada em bovinos e ovinos como ferramenta para o diagnóstico precoce e preciso de gestação. O objetivo desse estudo foi determinar o melhor dia para o diagnóstico precoce de gestação em cabras leiteiras, através da avaliação da morfologia luteal usando US modo-B. Cabras Saanen (n=131) com idade em torno de 2.0 ± 0.5 anos foram usadas. No primeiro estudo, após um protocolo hormonal de

indução e sincronização de estro e inseminação artificial, 60 cabras foram acompanhadas do dia 15 ao dia 23 do ciclo estral (Dia 1 ou D1 = dia da ovulação), usando um equipamento portátil (Sonoscape S6, Shenzhen, China), com transdutor retal de 7,5 MHz adaptado para ser usado em pequenos ruminantes. Morfologia luteal de escore 1 (próximo ao anecóico) foi considerado como não gestante, enquanto escore 2 (heterogêneo e hipocóico) e escore 3 (homogêneo e hiperecóico) foram considerados como gestantes. No segundo estudo, 71 cabras passaram pelo mesmo protocolo, sendo o exame ultrassonográfico realizado no D23 (o melhor dia encontrado no primeiro estudo) para avaliação morfológica do CL. Em ambos os estudos, o diagnóstico de gestação foi confirmado com avaliação uterina no D30 com US modo-B (padrão-ouro). Os resultados da avaliação luteal foram comparados com o padrão ouro, em ambos os estudos, e classificados de acordo com Sensibilidade (SEN), Especificidade (ESP), Valor Preditivo Positivo (VPP), Valor Preditivo Negativo (VPN), e índice Kappa (κ). No primeiro estudo, o diagnóstico não foi possível nos dias 15 e 16 (SEN 100%; ESP 0%; VPP 49%; VPN não calculável, e $\kappa = 0$), já que todos os CL's foram considerados viáveis (escore acima de 2), e assim, todos os animais foram considerados gestantes. Do dia 17 ao 23, os resultados melhoraram progressivamente. D17: SEN 100%; ESP 4%; VPP 50%; e $\kappa = 0.04$; D18: SEN 100%; ESP 8%; VPP 51%; e $\kappa = 0.08$; D19: SEN 100%; ESP 27%; VPP 56%; e $\kappa = 0.27$; D20: SEN 100%; ESP 50%; VPP 66%; e $\kappa = 0.50$; D21: SEN 100%; ESP 73%; VPP 78%; e $\kappa = 0.73$; D22: SEN 100%; ESP 81%; VPP 83%; e $\kappa = 0.80$; D23: SEN 100%; ESP 92%; VPP 93%; e $\kappa = 0.92$, e VPN 100% do D17 ao D23. Além disso, dois animais diagnosticados como não gestantes no D30, tiveram escore 2 até o D23. No segundo estudo, a avaliação apresentou resultados semelhantes (SEN 100%; ESP 95%; VPP 94%; VPN 100%, e $\kappa = 0,94$). Os resultados mostram que a avaliação subjetiva da morfologia luteal pela modo-B, é uma ferramenta confiável para o diagnóstico precoce de gestação em cabras, quando usada no 23º dia do ciclo.

Agradecimentos: Universidade Federal Fluminense, Infra-LabPesq/PROPPI, FAPERJ e Capril Vale das Amaltheias.

Impacto da implementação de tecnologias de criopreservação sobre o destino dos embriões bovinos ao longo do tempo em uma empresa comercial

Gabriela Sabine Lamberti Escobar ¹, Samantha Bielert do Nascimento ¹, Fernanda Said Aidar ¹,
Luísa Anastácia Santos de Oliveira ¹, Bruno Dorneles Carrijo da Cunha ¹, Ivamarío Nahas
Duarte ¹, Rodrigo Camponogara Bohrer ¹, Andrea Cristina Basso ¹

¹IVB - In Vitro Brasil Ltda. (Rodovia 050, KM 196. Uberaba/MG)

A In Vitro Brasil Ltda. (IVB), uma companhia brasileira que lidera o mercado mundial de produção *in vitro* de embriões bovinos, introduziu na rotina comercial técnicas de criopreservação de embriões (vitrificação e o *slow freezing*, comercializado como *Direct Transfer - DT*) em meados de 2014. Ainda assim, ambas foram aplicadas em larga escala somente a partir de 2015. O objetivo deste estudo foi avaliar o impacto da introdução dessas tecnologias sobre o destino comercial dos embriões bovinos bem como sobre as taxas de prenhez obtidas. Os dados foram coletados a partir de laboratórios próprios da empresa no Brasil. O volume de embriões destinados a ambas as técnicas de criopreservação representou 22,94%

(21.483/93.660), 45,18% (68.475/151.577), 50,97% (60.399/118.503) e 58,10% (83.654/143.986) do volume total de embriões produzidos em 2014, 2015, 2016 e 2017, respectivamente. Observando-se que, com o passar do tempo e o aprimoramento das técnicas, houve inversão no destino dos embriões, ou seja, mais de 50% do volume total passou a ser criopreservado. Devido a essa inversão, resolvemos verificar o possível impacto das técnicas sobre as taxas de prenhez para embriões transferidos a fresco (TE), congelados (DT) ou vitrificados (VIT). Os dados passaram no teste de normalidade *Lilliefors test* ($P=0.87$) e foram analisados pelo *two-way unbalanced ANOVA with interactions*. Nenhuma das técnicas, transferência a fresco 46,39% (17.705/38.163), congelamento lento 35,60% (1.006/2.826) ou vitrificação 44,95% (9.054/20.143), apresentou diferença significativa na taxa média de prenhez ($P=0.083$, $SD=0.069$). Se levarmos em consideração as raças utilizadas neste levantamento: gir leiteiro [45,63% (1.734/3801), 33,10% (48/145), 36,75% (61/166)], girolando [41,76% (2.586/6.192), 39,39% (156/396), 43,60% (825/1.892)], holandês [42,16% (1.081/2.564), 40% (2/5), 36,65% (188/513)], nelore [49,32% (6.168/12.506), 33,95% (721/2.124), 41,21% (1.669/4.050)] e senepol [46,84% (6.136/13.100), 50,99% (77/151), 46,67% (6.311/13.522)] e compararmos as três técnicas TE, DT e VIT, respectivamente, também não encontramos variação estatisticamente significativa ($P=0.37$). Em conclusão, nossos resultados demonstram que a utilização de tecnologias de criopreservação bem consolidadas não afeta as taxas médias de prenhez quando comparadas às de embriões transferidos a fresco. Esse resultado pode ser explicado pelo aprimoramento dos meios e técnicas utilizados pela companhia para criopreservação, ambos confidenciais e patenteados pela mesma.

Influência do peptídeo natriurético tipo B (NPPB) no conteúdo lipídico de oócitos bovinos maturados in vitro.

Letícia Schefer¹, Daniela Martins Paschoal¹, Hugo Fernandes¹, Fernanda Cavallari de Castro¹,
Kátia Regina Lancellotti Schwarz¹, Cláudia Lima Verde Leal¹

¹FZEA - USP - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo (Rua Duque de Caxias Norte, 225 - Campus Fernando Costa, Pirassununga - SP, 13635-900)

Embora a obtenção de embriões produzidos in vitro (PIV) seja amplamente utilizada em pesquisa e para fins comerciais no Brasil e no mundo, tais embriões ainda são de qualidade inferior aos produzidos in vivo. Um dos fatores que contribuem para essa qualidade inferior é o maior acúmulo lipídico, que torna esses embriões mais sensíveis à criopreservação. Técnicas que possam causar modificações na célula oocitária para que elas se tornem blastocistos com maior capacidade de criopreservação são bastante requeridas por profissionais que aplicam essa biotecnologia no campo. Em estudos anteriores observou-se que a via do GMPc pode estar envolvida no metabolismo lipídico de complexos cumulus-oócitos (CCOs). A síntese de GMPc pode ocorrer pela ativação da guanilato ciclase de membrana (GCm) ou solúvel (GCs). As GCm, também chamadas de receptores de peptídeos natriuréticos (NPR1 e 2), são ativadas pelos peptídeos natriuréticos (NPs) dos tipos A, B e C (NPPA, NPPB e NPPC). O objetivo deste estudo foi de verificar a influência do NPPB, para estimular a síntese de GMPc via NPR1

(GCm), no conteúdo lipídico de CCOs bovinos maturados *in vitro*. Pools de 25 CCOs foram submetidos à maturação *in vitro* (MIV) em TCM199 com 0,2 mM de piruvato de sódio, 10 µg/ml de gentamicina, 0,5 µg/ml de FSH, 10% de soro fetal bovino e NPPB (10^{-6} , 10^{-7} e 10^{-8} M). O grupo controle foi maturado sem NPPB. Após 24h de MIV, as células do cumulus foram removidas e os oócitos desnudos (OD) foram fixados e permeabilizados em 4% paraformaldeído + 0,5% Triton por 20 minutos, corados com 10µg/ml de Hoechst 33342 por 15 min e 1µg/ml de Nile Red por 30 min. Em seguida, os OD foram transferidos para lâminas contendo 13µl Pro Long, cobertos com lamínula e submetidos à microscopia de epifluorescência para avaliar a maturação nuclear (emissão 445-450nm e excitação 475-490nm) e o teor de lipídios (emissão 590nm e excitação 516-560nm). As imagens obtidas tiveram suas intensidades de fluorescência (IF) mensuradas pelo programa ImageJ. Os dados referentes a 4 replicatas/grupo, foram testados para normalidade de resultados e homogeneidade de variância, e em seguida, submetidos à análise estatística por ANOVA, seguida pelo teste Tukey pelo software GraphPad Prism, com nível de significância de 5%. A maturação nuclear (MII) não foi influenciada por nenhuma das concentrações de NPPB, variando de 82 a 87% MII para todos os grupos ($P>0,05$). Os grupos tratados com NPPB apresentaram menor conteúdo lipídico em relação ao controle ($0,64 \text{ IF}/\mu\text{m}^2$, $P<0,05$), mas não diferiram entre si ($P>0,05$). Os grupos tratados apresentaram $\text{IF}/\mu\text{m}^2$ de 0,29; 0,28 e 0,34; respectivamente, nas concentrações de 10^{-8} , 10^{-7} , e 10^{-6} M de NPPB. Com isso, conclui-se que a estimulação de síntese de GMPc pelo NPPB durante a maturação *in vitro* de oócitos bovinos, diminui o conteúdo lipídico mostrando a relação dessa via com o metabolismo lipídico de CCOs e que a concentração mais baixa (10^{-8}M) foi suficiente para ocasionar tal efeito.

Como a hemodinâmica uterina responde ao protocolo de sincronização de curta duração em ovelhas?

Renato Travassos Beltrame¹, Nilson Nunes Morais Junior², Joao Vitor Pagoto Careta¹, Thalles Alves Dutra Lima², Ariadna Patricia Ribeiro², Ricardo Lopes Dias da Costa³

¹ UNESC - Centro Universitário Do Espírito Santo (Av. Fioravante Rossi, 2930 - Colatina - ES),
² IFES ITAPINA - Instituto Federal Do Espírito Santo - Campus Itapina (Rodovia BR-259, s/n - Zona Rural, Colatina - ES, 29717-000), ³ IZ - Instituto De Zootecnia (R. Heitor Penteado, 56 - Centro, Nova Odessa - SP, 13460-000)

Os efeitos de momento e lado de estimativas da hemodinâmica uterina em ovelhas foram investigados durante um protocolo de sincronização de curta duração. Vinte e oito ovelhas Santa Inês alimentadas com capim Panicum maximum cv. Aruana e suplementadas com concentrado 280g / ovelha / dia (farelo de soja e milho moído, proteína bruta de 14,3%) foram sincronizadas com um protocolo vaginal impregnado com 60mg de medroxiprogesterona (MAP Progespon®, Intervet / Schering-Plough) e injeção intramuscular (IM) de 37,5 µg de cloprostenol (Prolise®, Tecnopec, Brasil) em um dia aleatório do ciclo estral, considerado como dia zero (D0). No dia 6 (D6) do protocolo, pela manhã, os dispositivos vaginais foram retirados e após 24 h (D7), as ovelhas receberam 25 µg de lecirelina (análogo de GnRH) (Gestran Plus®-Tecnopec). Dopplervelocimetria das duas artérias uterinas foram realizadas por ultrassonografia transretal no

D0, D2, D4 e manhã no D6 (a cada 48 h) e do D6 ao D8 a cada 12 h (7:00 e 19:00). O mesmo operador fez todas as avaliações de ultrassom. Analisamos o pico de velocidade da sístole (PVS) (cm/s), a velocidade final da diástole (VFD) (cm/s), o tempo médio da velocidade máxima e média (TAMAX, TAMEAN cm/s), o índice de pulsatilidade (IP), o índice de resistência (IR), a relação sístole/diástole (S/D), volume de fluxo sanguíneo (VFS) (ml/min) e o diâmetro arterial (DA) (mm). As análises estatísticas foram realizadas utilizando o procedimento MIXED do software SAS e a diferença significativa foi considerada quando $P < 0,05$. Com exceção de TAMAX e PVS, houve diferença entre o tempo de inserção de P4 e o tempo estimado de ovulação ($P < 0,05$). Houveram aumentos no VFD (11,29 x 13,25 cm / s) e no TAMEAN (7,93 x 9,87 cm / s) ($P < 0,05$). IP e IR foram diferentes quando comparados o momento de inserção e retirada do dispositivo de progesterona (IP: 2,53 - 1,54 e IR: 0,76 - 0,68) ($P < 0,05$). O DA e o VFS inicialmente diminuíram e depois aumentaram nas estimativas (mínimo de 2,26 mm e 25,60 ml/min e máximo de 3,04 mm e 53,38 ml/min, respectivamente) ($P < 0,05$). O TAMAX tendeu a aumentar durante o protocolo ($P = 0,11$). O DA foi maior no lado esquerdo (2,82 mm) enquanto PS, ED, TAMAX, TAMEAN foram maiores no lado direito. A situação analisada no estudo exibe importantes contrastes em relação à prevalência hormonal no útero, especificamente acerca da evidência de padrões hemodinâmicos associados com respostas e resultados pós-inseminação. Da mesma forma, se os valores de referência forem estabelecidos, os descartes podem ser realizados com base em anormalidades hemodinâmicas.

Agradecimentos: Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo – FAPES.

Associações de polimorfismos na região promotora do gene da paraoxonase 1 (PON1) com o desempenho reprodutivo, saúde e produção de leite de vacas da raça Holandês

Pedro Augusto Silva Silveira¹, Walter Ronald Butler², Sara LaCount², Thomas R. Overton²,
Carlos Castilho Barros¹, Augusto Schneider¹

¹UFPEL - Universidade Federal de Pelotas (Pelotas, RS, Brasil), ² Cornell - Universidade de Cornell (Ithaca, NY, EUA)

O objetivo deste estudo foi avaliar as associações de polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) na região promotora da paraoxonase 1 (PON1) com a atividade plasmática da PON1, fertilidade, metabolismo energético, ingestão alimentar, ocorrência de doenças no periparto e produção de leite de vacas da raça Holandês. Oitenta e quatro vacas foram utilizadas neste estudo. As vacas foram pré-sincronizadas com duas aplicações de prostaglandina F2a, seguida por IA em tempo fixo após um protocolo Ovsynch. A prenhez foi confirmada após a palpação retal e os dados de desempenho reprodutivo foram registrados até 210 DEL. Amostras de sangue foram coletadas semanalmente antes do parto, duas vezes por semana nas duas primeiras semanas de lactação e uma vez por semana após a terceira semana de lactação para análises de b-hidroxibutirato (BHBA), ácidos graxos não-esterificados (NEFA) e atividade plasmática da PON1. A ingestão alimentar diária de cada vaca foi medida a partir de 40 dias antes do parto até 60 dias em lactação (DEL) e foi avaliada a ocorrência de doenças e a produção de leite até 60 DEL. Foi realizada extração de DNA de amostras de sangue total para a reação de PCR e obtenção de um fragmento de 828 pb do promotor do gene da PON1, que foi enviado para sequenciamento. Além

disso, a genotipagem do SNP na posição -221 foi validada pelo sistema de amplificação por mutação refratária (ARMS-PCR) e pelo sistema de restrição enzimática (RFLP) utilizando a enzima *Bs*II. Análises envolvendo medidas repetidas ao longo do tempo (atividade plasmática da PON1, NEFA, BHBA e produção de leite) foram comparadas pela análise de variância para medidas repetidas usando o procedimento MIXED do SAS 9.2 (SAS Institute Inc., Cary, NC, EUA). Além disso, calculou-se a atividade da PON1, o IPC e ingestão alimentar através de modelos polinomiais para os efeitos lineares ou quadráticos. As taxas de prenhez foram avaliadas por análise de sobrevivência de Kaplan-Meier. Sete SNPs foram identificados na região promotora do gene da PON1, localizados nas posições -22, -105, -176, -221, -392, -611 e -676, considerando-se 1 como o primeiro nucleotídeo do primeiro exon do gene da PON1, e seis deles foram associados à atividade plasmática da PON1. Os SNPs -221 e -392 foram associados ao intervalo parto-concepção (IPC, $P < 0,05$), sendo os genótipos associados à maior atividade sérica da PON1 também associados a IPC mais curto. Não houve efeito dos SNPs sobre balanço energético, ingestão, doenças e produção leiteira ($P > 0,05$). Foi possível identificar os três genótipos do SNP-221 por ARMS-PCR e por RFLP. Assim, os SNPs -105, -176, -221, -392, -611 e -676 foram associados à atividade plasmática da PON1. Além disso, para os SNPs -221 e -392, o genótipo associado a maior atividade sérica da PON1, também foi associado com menor IPC, possibilitando a utilização destes SNPs como marcadores genéticos associados a melhora na fertilidade pós-parto de vacas leiteiras.