



# Anais do VII Congresso Norte Nordeste de Reprodução Animal

28 a 30 de Maio de 2014  
Mossoró - RN

**Anais do VII Congresso Norte Nordeste de Reprodução Animal (CONERA)**

**Novos Rumos para a Reprodução Animal no Norte e  
Nordeste do Brasil**

Publicado na Revista Acta Veterinaria Brasilica, 2014

Volume 8, Suplemento 2

ISSN 1981-5484

Mossoró, RN, Brasil

28 a 30 de Maio de 2014

## **CORPO EDITORIAL**

### **COMITÊ EXECUTIVO**

**Presidente:** Alexandre Rodrigues Silva (UFERSA)

**Vice-Presidente:** José Adalmir Torres de Souza (UFPI)

**1ª secretária:** Aracely Rafaelle Fernandes Ricarte (UFERSA)

**2ª secretária:** Gislayne Christianne Xavier Peixoto (Doutoranda RENORBIO)

Keilla Moreira Maia (Doutoranda PPCA)

**1ª Tesoureira:** Alexsandra Fernandes Pereira (UFERSA)

**2ª Tesoureira:** Gabriela Liberalino Lima (Doutoranda RENORBIO)

**Presidente do Comitê Científico:** Marcelo Barbosa Bezerra (UFERSA)

**Assistente do comitê científico:** Fernanda Araujo dos Santos (Mestranda PPGCA)

**Editoração de Anais:** Michelly Fernandes de Macedo (UFERSA)

**Assistente de editoração:** Muriel Magda Lustosa Pimentel (Mestranda PPGCA)

**Coordenadora de Comunicação:** Kátia Regina Freire Lopes (Universidade Potiguar – UNP)

**Assistente de Comunicação:** Andréia Maria da Silva (Mestranda PPGCA)

**Diretora de Informática e hot site:** Ana Liza Paz Souza (Doutoranda PPGCA)

**Assistente de informática:** Jonathan

**Coordenadora:** Lívia Batista Campos (Mestranda PPGCA)

**Comissão de apoio:**

Artur Emanuel de A. Lago

Artur Carreiro

Bruna Swell Freire de Medeiros

Carlos Alexandre de Carvalho Apolinário

Dayse Ariane Soares Medeiros

Érika Camila Gurgel Praxedes

Felipe Camara

Alana Azevedo Borges

Luiza Bento de Queiroz Neta

Magda Lorena Turbano dos Santos

Maria Stefanne Gomes Ferreira

Joelma Martins P. de Lima

Mikael Almeida Lima

Roberta Gonçalves Izzo

Rizya Valéria da Silva Oliveira

### **COMITÊ CIENTÍFICO**

Marcelo Barbosa Bezerra (Presidente)

#### **Coordenadores de Sessão**

**Aurino Alves Simplicio**

Reprodução de Ovinos

**Carminda Sandra Salmito Wanderley**

Reprodução de Organismos Aquáticos

**Faviano Ricelli da Costa e Moreira**

Reprodução de Suínos

**José Carlos Moura**

Reprodução de Equinos

**Lúcia Daniel Machado da Silva**

Reprodução de Gatos

**Luiz Augusto Vieira Cordeiro**

Reprodução de Bovinos

**Marciane da Silva Maia**

Reprodução de Caprinos

**Michelly Fernandes de Macedo**

Biotécnicas Fundamentais

**Rita de Cássia Soares Cardoso**

Reprodução de Cães

**Sheyla Farahyldes Souza Domingues**

Reprodução de Animais Silvestres

## **Revisores**

Alberto Neves Costa	Júlia Trugílio Lopes
Alexandre Rodrigues Silva	Julio de Mesquita Filho
Andreia Fernandes de Souza	Leandro Rodello
Barbara Sucupira Pereira	Liliane Veras Leite
Benito Soto Blanco	Luís Henrique Fernandes Borba
Carlos Eduardo Bezerra de Moura	Mabel Freitas Cordeiro
Carmen Cecilia Sicherle	Marcelo Barbosa Bezerra
Cristiane Scavuzzi Moura	Marcos Aurélio Delmondes Bonfim
Cynthia Levi Baratta Monteiro	Marcos Cláudio Pinheiro Rogério
Diones Oliveira Santos	Maria Audália Marques de Carvalho
Edilson Soares Lopes Júnior	Michelly Fernandes de Macedo
Fátima de Cassia Evangelista de Oliveira	Mírley Barbosa de Souza
Faviano Ricelli da Costa e Moreira	Pedro Paulo Maia Teixeira
Francisco Renan Aragão Linhares	Ricardo Toniolli
Hymerson Costa Azevedo	Rita de Cássia Soares Cardoso
José Carlos de Andrade Moura	Sheyla Farahyldes Souza Domingues
José Nicodemos Pinto	Tânia Maria Leal

## **REALIZAÇÃO**

Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal  
Universidade Federal Rural do Semi-Árido

## **APOIO**

Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA)  
Conselho Regional de Medicina Veterinária – Rio Grande do Norte (CRMV-RN)  
Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)  
Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO)

## **EMPRESAS PARCEIRAS**

IVP Brasil  
Raça Distribuidora  
Solab  
Royal Canin  
Equalis  
RN Labo

## **Palavra do Presidente**

Caros colegas,

Temos a honra e o privilégio de receber cada um de vós participantes do VII Congresso Norte Nordeste de Reprodução Animal, que ocorrerá nas dependências do Hotel Vila Oeste, na cidade de Mossoró, Rio Grande do Norte, de 28 a 30 de maio de 2014. O evento ocorre sobre realização do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA, contando com apoio do Colégio Brasileiro de Reprodução Animal – CBRA, Conselho Regional de Medicina Veterinária e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES. O evento marca os 40 anos de fundação do CBRA, principal órgão a fomentar o estudo da Reprodução Animal no país. O tema central será “Novos Rumos para o Estudo da Reprodução Animal no Norte e Nordeste do Brasil”, o que vem ao encontro dos interesses dos profissionais e estudantes, da graduação e pós-graduação, de diferentes áreas do conhecimento relacionadas às Ciências Animais. Em função disso, a Comissão Organizadora vem empreendendo um constante esforço para contemplar os interesses de todos com uma programação diversificada e rica, visando contribuir para o desenvolvimento e disseminação da área de Reprodução Animal no Brasil. Esperamos que o Congresso cumpra o objetivo almejado por todos, a quem desejamos uma excelente estada em nossa cidade.

Sejam bem vindos!

**Alexandre Rodrigues Silva**  
Presidente – Gestão 2014

## **Palavra da Comissão Científica**

Caros colegas, sejam todos bem vindos!

É notório que nos últimos anos houve o incremento de atividades científicas no norte e nordeste do país, muitas das quais resultantes de estímulos de órgãos de fomento à pesquisa nacionais e regionais que apostaram na descentralização científica brasileira, na imigração de recursos humanos e na formação de novos laboratórios nessas regiões do país. Além disso, apostou-se na produção de pesquisas básicas e naquelas aplicadas à resolução de problemas científicos de interesse regional, contudo, sem esquecer o caráter e a importância das pesquisas de interesse universal que surgem destas regiões, demonstrando que as ciências voltadas para a reprodução animal não apenas trabalham questões pontuais, mas também produzem resultados de alta qualidade emergidos de locais nunca antes pensados.

Partindo desse princípio, nos foi estimulada a busca de palestrantes que pudessem ressaltar as novidades e desafios da reprodução animal no Norte e Nordeste do Brasil que convivem com situações distintas de chuva e estiagem respectivamente e que aprenderam a viabilizar suas atividades científicas independente de intempéries. Aproveitamos o momento para aqui agradecer publicamente aos nossos palestrantes que se dispuseram prontamente a abrilhantar o evento com suas participações. A tarefa de cobrança de material escrito, que a princípio pôde parecer árdua e delicada, passou distante de tais sensações. O que encontramos foram palestrantes extremamente cooperativos que nos entregaram suas apresentações em tempo hábil para que tudo transcorresse de modo profícuo.

Agradecemos também aos revisores de seção e à todos os revisores *ad hoc* que se dispuseram a avaliar os trabalhos enviados, foi essa descentralização que tornou a comunidade que compõe este VII CONERA muita mais coesa. Ademais, não poderíamos esquecer-nos dos jovens pesquisadores que se dispuseram a submeter os 118 trabalhos constantes neste evento, um número expressivo, uma vez que a partir desta edição passamos a adotar um trabalho por autoria principal.

Agradecemos a todos os estudantes de graduação e pós-graduação envolvidos com o evento, sem os quais a tarefa de planejar a programação, contactar palestrantes e preparar a logística necessária para esse crescente evento se tornariam uma tarefa cansativa e pouco eficiente. Não obstante, devemos recordar que a organização deste VII CONERA foi atividade fundamental para a formação destes mesmos membros como futuros pesquisadores e agregadores de conhecimento, a grande escola deste evento (e que não se acha em salas de aula) é que estes devem desde já inteirarem-se do que é produzido nas suas proximidades, dialogar com seus pares, conhecer as dificuldades e saborear as conquistas da organização de um evento de tal magnitude.

Finalizamos essas palavras, desejosos que todos os presentes sintam-se agraciados com palestras do mais alto nível, que suas estadias em Mossoró lhes sejam frutíferas profissionalmente e, pessoalmente desejamo-lhes que ocorram experiências agradáveis para que retornem sempre a esta cidade rica em história, cultura popular e pessoal acolhedor.

**Marcelo Barbosa Bezerra**

Presidente da Comissão Científica – Gestão 2014



## PROGRAMAÇÃO CIENTÍFICA –VII CONERA



HORÁRIO	DESCRIÇÃO
28/05/2014 – Manhã	<p><b>Minicursos – 8h – 12h</b></p> <p>I. <b>Inseminação artificial em cães</b> – Dr. Daniel Couto Uchoa – ROYAL CANIN</p> <p>II. <b>Manejo reprodutivo de pequenos ruminantes</b> –M.Sc. Thibério de Souza Castelo – UFERSA</p> <p>III. <b>Inseminação artificial em Bovinos</b> – Prof. M.Sc. Leonardo Lelis de Macedo Costa – UFERSA</p> <p>IV. <b>Ultrassonografia Doppler na reprodução de gatos</b> –Dra. Bárbara Sucupira – UECE</p> <p>V. <b>Isolamento e caracterização de células como doadoras de núcleo para a transferência nuclear</b> – Profª. Dra. Alexandra Fernandes Pereira – UFERSA</p> <p>VI. <b>Tecnologia do sêmen de peixes</b> – Profª. Dra. Carmina Sandra Brito Salmito Wanderley – UECE</p>
28/05/2014 – Tarde	<p><b>Solenidade de abertura</b></p> <p>- <b>16h</b> – Entrega de material</p> <p>- <b>19h</b> – Solenidade de abertura oficial do Congresso</p> <p>✓ <b>Palavra do Presidente do CONERA</b> Prof. Dr. Alexandre Rodrigues da Silva</p> <p>✓ <b>Entrega do Prêmio Hans Merkt</b> Agraciado: Dr. Aurino Alves Simplício</p> <p>- <b>20h</b> - Mesa de Abertura</p> <p>✓ <b>40 Anos de Estudo da Reprodução Animal no Brasil</b></p> <p><b>Palestrantes:</b> Prof. Dr. Antônio de Pinho Marques Júnior, Presidente do Colégio Brasileiro de Reprodução Animal Prof. Dr. José Ferreira Nunes, Representante do Congresso Norte Nordeste de Reprodução Animal</p> <p>- <b>21:30h</b> - Coquetel de Abertura</p>
29/05/2014 – Manhã	<p><b>Mini-Simpósio I - Reprodução de Bovinos</b> - Coord: Prof. Dr. Luiz Augusto V Cordeiro - UFERSA</p> <p>- <b>8:00</b> – Manejo reprodutivo de bovinos – Prof. Dr. Antonio Pinho Marques Júnior – UFMG</p> <p>- <b>8:40</b> – <b>Obstetrícia em Bovinos: Da concepção ao puerpério</b> - Prof. Dr. Rômulo Vieira – UFPI</p> <p>- <b>9:20</b> – Coffee Break / Sessão de Poster</p> <p>- <b>9:50</b> – Espaço do Patrocinador – IVP Brasil</p> <p>- <b>10:10</b> – <b>Interações entre estresse térmico e desempenho reprodutivo de bovinos</b> – Prof. Dr. Luiz Augusto Vieira Cordeiro – UFERSA</p>

	<p>- <b>10:50</b> – Discussão</p> <p><i>Mini-Simpósio II – Reprodução de Cães</i> - Coord: Prof<sup>a</sup>. Dra. Rita de Cássia Soares Cardoso – UFRPE</p> <p>- <b>8:00</b> – <b>Terapêutica hormonal na cadela</b> - Prof<sup>a</sup>. Dra. Rita de Cássia S Cardoso UFRPE</p> <p>- <b>8:40</b> – <b>Monitoramento e controle do ciclo estral na cadela</b> – Prof<sup>a</sup>. Dra. Maria Denise Lopes – UNESP</p> <p>- <b>9:20</b> – <b>Coffee Break / Sessão de Pôsteres</b></p> <p>- <b>09:50</b> – <b>A melhor fonte de células tronco: âmnio do cão e do gato</b> – Prof. Dr. Carlos Eduardo Ambrósio – USP</p> <p>- <b>10:10</b> – <b>Aplicações da ultrassonografia Triplex Doppler na avaliação reprodutiva de pequenos animais</b> – Prof<sup>a</sup>. Dra. Lúcia Daniel Machado da Silva - UECE</p> <p>- <b>10:50</b> – Discussão</p> <p><i>Workshop I – Biotécnicas Aplicadas a Reprodução Animal</i> – Coord: Prof<sup>a</sup>. Dra. Michelly Fernandes de Macedo – UFERSA</p> <p>- <b>8:00</b> - <b>Células tronco de origem adulta e reprodução animal: aplicações em potencial</b> – Prof. Dr. Moysés dos Santos Miranda - UFPA</p> <p>- <b>8:40</b> - <b>Transgênese em caprinos</b> – Prof. Dr. Vicente José de Figueirêdo Freitas – UECE</p> <p>- <b>9:20</b> - <b>Coffee Break / Sessão de Pôsteres</b></p> <p>- <b>9:50</b> - <b>Avanços na criopreservação de tecido ovariano de cabras e ovelhas</b> – Prof<sup>a</sup>. Dra. Ana Paula Ribeiro Rodrigues – UECE</p> <p>- <b>10:30</b> - <b>Proteômica aplicada a reprodução animal</b> – Prof. Dr. Arlindo Alencar Araripe Moura – UFC</p>
<p>29/05/2014 – Tarde</p>	<p><i>Mini-Simpósio III – Reprodução de Ovinos</i> – Coord: Dr. Aurino Alves Simplício – UFRN/EMPARN</p> <p>- <b>14:00</b> – <b>Manejo reprodutivo: foco na taxa de reprodução</b> – Dr. Aurino Alves Simplício – UFRN/EMPARN</p> <p>- <b>14:40</b> – <b>Produção in vivo de embriões em ovinos</b> – Prof. Dr. Edilson Soares Lopes Júnior – UNIVASF</p> <p>- <b>15:20</b> – <b>Coffee Break / Sessão de Pôsteres</b></p> <p>- <b>15:50</b> – <b>Papel da nutrição sobre a reprodução ovina</b> – Dr. Marco Aurélio Bomfim – EMBRAPA</p> <p>- <b>16:10</b> – <b>Estratégias reprodutivas aplicadas à conservação de recursos genéticos</b> - Prof. Dr. Luis Alberto Bermejo Asencio – Universidad de La laguna, Tenerife – Espanha</p> <p>- <b>16:50</b> - Discussão</p> <p><i>Mini-Simpósio IV – Reprodução de Suínos</i> - Coord: Prof. MSc. Faviano Ricelli da Costa e Moreira- IFRN</p> <p>- <b>14:00</b> – <b>Impactos das demandas fisiológicas sobre desempenho reprodutivo e bem-estar de matrizes suínas mantidas em confinamento</b> – Prof. Dr. Alberto Neves Costa – CFMV</p>



	<p>- <b>14:40 – Avanços das biotécnicas reprodutivas em suínos</b> Prof. Dr. Ricardo Toniolli – UECE</p> <p>- <b>15:20 – Coffee Break / Sessão de Pôsteres</b></p> <p>- <b>15:50 – Espaço do Patrocinador</b> – IVP Brasil</p> <p>- <b>16:10 – Influência dos alimentos alternativos na reprodução de suínos</b> – Prof. M.Sc. Faviano Ricelli da Costa e Moreira– IFRN</p> <p>- <b>16:50</b> - Discussão</p> <p><i>Mini-Simpósio V – Reprodução de animais silvestres</i> – Coord: Prof<sup>ª</sup>. Dra. Sheyla F. Souza Domingues - UFPA</p> <p>- <b>14:00 - Placentação em espécies silvestres</b> – Prof. Dr. Moacir Franco de Oliveira – UFERSA</p> <p>- <b>14:40 - Reprodução de felinos selvagens</b> – Prof. Dr. Nei Moreira – UFPR</p> <p>- <b>15:20 - Coffee Break / Sessão de Posterres</b></p> <p>- <b>15:50 -Estratégias para a conservação do patrimônio genético faunístico no Brasil</b> – Prof<sup>ª</sup>. Dra. Sheyla Farahyldes Souza Domingues – UFPA</p> <p>- <b>16:30</b> - Discussão</p>
<p>30/05/2014 – Manhã</p>	<p><i>Mini-Simpósio VI– Reprodução de Caprinos</i> – Coord: Prof<sup>ª</sup>. Dra. Marciane da Silva Maia – EMPARN</p> <p>- <b>8:00 – Eficiência reprodutiva em caprinos</b> – Prof. Dr. José Ferreira Nunes - UECE</p> <p>- <b>8:40 – Aplicações da termografia no diagnóstico reprodutivo em caprinos</b> – Prof<sup>ª</sup>. Dra. Aracely Rafaelle Fernandes Ricarte – UFERSA</p> <p>- <b>9:20 – Coffee Break / Sessão de Pôsteres</b></p> <p>- <b>9:50 – Tecnologia de sêmen e inseminação artificial em caprinos</b> – Dra. Marciane da Silva Maia – EMPARN</p> <p>- <b>10:30</b> - Discussão</p> <p><i>Mini-Simpósio VII – Reprodução de Gatos</i> – Coord: Prof<sup>ª</sup>. Dra. Lúcia Daniel Machado da Silva - UECE</p> <p>- <b>8:00 - Comportamento reprodutivo de felinos</b> – Prof<sup>ª</sup>. Dra. Ticiania Franco Pereira da Silva - UECE</p> <p>- <b>8:40 - Castração Pediátrica em Felinos</b> – Prof<sup>ª</sup>. Dra. Nilza Dutra Alves</p> <p>- <b>9:20 - Coffee Break/ Sessão de Pôsteres</b></p> <p>- <b>9:50 - Manejo reprodutivo em gatos</b> – Prof<sup>ª</sup>. Dra. Maria Denise Lopes - UNESP</p> <p>- <b>10:30 – Castração: Alterações comportamentais e metabólicas</b> – Msc. Joyci Torres d’Paula</p> <p>- <b>11:10</b> - Discussão</p> <p><i>Workshop I - Biotécnicas Aplicadas a reprodução animal</i> - Coord: Prof. Dr. Marcelo Barbosa Bezerra - UFERSA</p> <p>- <b>8:00 – Xenotransplantes ovarianos e testiculares: estado da arte e perspectivas em mamíferos domésticos e silvestres</b> –</p>

	<p>Prof. Dr. Marcelo Barbosa Bezerra – UFERSA</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- <b>8:40</b> – <b>Ações da Rede Nordeste de Biotecnologia para o desenvolvimento da reprodução animal</b> – Prof<sup>ª</sup>. Dra. Áurea Wischral – UFRPE</li> <li>- <b>9:20</b> – <b>Coffee Break / Sessão de Pôsteres</b></li> <li>- <b>9:50</b> – <b>Reprodução animal e (sub/in) fertilidade – Quando toxinas podem atuar como substâncias endócrinas</b> – Dra. Regiane Rodrigues dos Santos – Utrecht University</li> <li>- <b>10:30</b> – Discussão</li> </ul>
<p>30/05/2014 – Tarde</p>	<p><b>Mini-Simpósio VIII - Reprodução de Equídeos</b> – Coord.: Prof. Dr. José Carlos Moura – UFBA</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- <b>14:00</b> – <b>Ovulação na égua: confiabilidade nos indicadores ultrassonográficos</b> – Prof. Dr. José Carlos Moura – UFBA</li> <li>- <b>14:40</b> – <b>Cuidados com os neonatos equinos</b> – Prof<sup>ª</sup>. Dra. Regina Valéria Dias – UFERSA</li> <li>- <b>15:20</b> – <b>Coffee Break / Sessão de Pôsteres</b></li> <li>- <b>15:50</b> – <b>Reprodução de Asininos</b> – Prof. Dr. Carlos Peña Alfaro – UFCG</li> <li>- <b>16:30</b> – Discussão</li> </ul> <p><b>Mini-Simpósio IX - Reprodução de Organismos Aquáticos</b> – Coord: Prof<sup>ª</sup>. Dra. Carminda Sandra Salmito Wanderley – UECE</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- <b>14:00</b> – <b>Manejo reprodutivo de peixes ornamentais</b> – Prof. Dr. Felipe Azevedo Ribeiro – UFERSA</li> <li>- <b>14:40</b> – <b>Reprodução e genética de Camarões Marinhos em Cativeiro</b> – Prof. Dr. Manuel Antônio de Andrade Furtado Neto – UFC/LABOMAR</li> <li>- <b>15:20</b> – <b>Coffee Break / Sessão de Pôsteres</b></li> <li>- <b>15:50</b> – <b>Tecnologia de conservação de sêmen de peixes</b> – Prof<sup>ª</sup>. Dra. Carminda Sandra Salmito Wanderley – UECE</li> <li>- <b>16:30</b> – Discussão</li> </ul> <p><b>Competição de estudantes</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- <b>14:00</b> – Oócitos bovinos selecionados <i>in vitro</i> com uso do azul cresil brilhante (BCB) submetidos a diferentes períodos de exposição.</li> <li>- <b>14:20</b> – Criopreservação de espermatozoides epididimários caninos utilizando ACP-106c e TRIS.</li> <li>- <b>14:40</b> – Efeitos do farelo de castanha de caju sobre as proteínas espermáticas de ovinos.</li> <li>- <b>15:00</b> – Poder conservante do cálcio no sêmen suíno.</li> <li>- <b>15:20</b> – <b>Coffee Break / Sessão de Pôsteres</b></li> <li>- <b>15:50</b> – Efeito da Lipoproteína de Baixa Densidade (LDL) na congelação de sêmen de catetos (<i>Pecari tajacu</i>).</li> <li>- <b>16:00</b> – Efeito da adição de proteína anticongelante na maturação <i>in vitro</i> de complexos cumulus-oócito caprino vitrificados e posteriormente aquecidos.</li> </ul>

	<p><b>-16:20</b> – Influência da mudança das fases da lua na ocorrência de partos naturais em gatas da raça Persa: mito ou verdade?</p> <p><b>-16:40</b> – Pesquisa de Anticorpos para <i>Leptospira</i> spp. em soro de equinos da cidade de Bom Jesus – Piauí.</p> <p><b>-17:00</b> – Efeito do resfriamento sobre embriões de Tambaqui.</p> <p><b>-17:20</b> – Retorno à ciclicidade após autotransplante ovariano em camundongas Balb-c.</p>
30/05/2014 - Noite	<b>18h – Assembleia e Encerramento</b>

## SUMÁRIO

<b>Corpo editorial</b>	<b>3</b>
<b>Palavra do Presidente</b>	<b>5</b>
<b>Palavra da Comissão Científica</b>	<b>6</b>
<b>Programação Científica – VII CONERA</b>	<b>7</b>
<b>ANIMAIS SILVESTRES</b>	
<b>Alterações patológicas do sistema genital de cutias (<i>Dasyprocta aguti linnaeus</i>, 1758) fêmeas criados em cativeiro</b> <i>Rayr Cezar de Souza Gois, Geysa Almeida Viana, Roberio Gomes Olinda, Ivoncísio Garcia Rego, Jael Soares Batista</i>	<b>23</b>
<b>Análise ultraestrutural de espermatozoides criopreservados de tatus-peba (<i>Euphractus sexcinctus linnaeus</i>, 1758)</b> <i>Patrícia da Cunha Sousa, Erika Aparecida Araújo dos Santos, José Artur Brilhante Bezerra, Andreia Maria da Silva, Gabriela Liberalino Lima, Alexandre Rodrigues Silva</i>	<b>25</b>
<b>Aspectos reprodutivos em fêmeas de tatu-peba (<i>Euphractus sexcinctus</i>) mantidas em cativeiro</b> <i>Talita Otaviano da Costa, Werona de Oliveira Barbosa Fernandes, Carol Louize Carlos Costa, Rebeca Medeiros Maia, Alessandra Raisa da Silva Viana, Carlos Iberê Alves Freitas</i>	<b>27</b>
<b>Associação da citologia vaginal e da dosagem hormonal para a detecção de estro em tatus-peba (<i>Euphractus sexcinctus</i>, Linnaeus 1758)</b> <i>Lívia Batista Campos, Gislayne Christianne Xavier Peixoto, Gabriela Liberalino Lima, Ana Liza Paz Souza, Carlos Iberê Alves Freitas, Alexandre Rodrigues Silva</i>	<b>29</b>
<b>Avaliação da qualidade seminal em guaxinim (<i>Procyon cancrivorus</i>) – Relato de caso</b> <i>Lorena Araújo Martins Aguiar Rocha, Herlon Victor Rodrigues Silva, Antônio Cavalcante Mota Filho, Annice Aquino-Cortez, José Nicodemos Pinto, Lúcia Daniel Machado da Silva</i>	<b>31</b>
<b>Avaliação seminal de onça-parda (<i>Puma concolor</i>)</b> <i>Herlon Victor Rodrigues Silva, Antônio Cavalcante Mota Filho, Luana Azevedo de Freitas, José Nicodemos Pinto, Luma Morena Passos Freire, Lúcia Daniel Machado da Silva</i>	<b>33</b>
<b>Características espermáticas de cutia <i>Dasyprocta azarae</i> coletadas por eletroejaculação</b> <i>Clara Yanina Meira da Costa, Luana G. P. Bezerra, Thiberio de Souza Castelo, Ana Liza Paz Souza, Gislayne Cristiane Xavier Peixoto, Alexandre Rodrigues Silva</i>	<b>35</b>
<b>Comparação de diferentes métodos de coloração na avaliação morfológica de espermatozoides epididimários de preá (<i>Galea spixii</i>)</b> <i>Andréia Maria da Silva, José Artur Brilhante Bezerra, Lívia Batista Campos, Patrícia Cunha Souza, Alexandre Rodrigues Silva</i>	<b>37</b>
<b>Condutas de diferentes categorias comportamentais em <i>Euphractus sexcinctus</i> (tatu peba) em cativeiro associadas ao período reprodutivo</b> <i>Werona de Oliveira Barbosa Fernandes, Talita Otaviano da Costa, Sabrina de Sousa Mendonça, Simone Loiola Gomes, Thiago Galvão Coelho, Carlos Iberê Alves Freitas</i>	<b>39</b>
<b>Efeito da lipoproteína de baixa densidade (ldl) na congelação de sêmen de catetos (<i>Pecari tajacu</i>)</b> <i>Ana Liza Paz Souza, Gabriela Liberalino Lima, Gislayne Christianne Xavier Peixoto, Thibério Sousa Castelo, José Artur Brilhante Bezerra, Alexandre Rodrigues Silva</i>	<b>41</b>
<b>Efeito do FSH em meio a base de <math>\alpha</math> MEM para o cultivo <i>in vitro</i> de folículos ovarianos pré antrais de catetos (<i>Pecari tajacu</i>)</b> <i>Gabriela Liberalino Lima, Laritza Ferreira de Lima, Rebeca Magalhães Pedrosa Rocha, Ana Paula Ribeiro Rodrigues, Moacir Franco de Oliveira, Alexandre Rodrigues Silva</i>	<b>43</b>

<b>Inseminação artificial com sêmen de <i>Numida meleagris</i> diluído em meio à base de água de coco em pó</b>	
<i>Levi de Oliveira Frota, Luisa Cavalcante de Almeida Galdino, Ana Gláudia Vasconcelos Catunda, Cristiane Clemente de Mello Salgueiro, Márcia Helena Niza Ramalho Sobral, José Ferreira Nunes</i>	<b>45</b>
<b>Interações entre diferentes tipos de estímulos elétricos e aparelhos de eletroejaculação na coleta do sêmen de cutias <i>Dasyprocta azarae</i></b>	
<i>Thiberio de Souza Castelo, Ana Liza Paz Souza, Gabriela Liberalino Lima, Gislayne Cristiane Xavier Peixoto, Livia Batista Campos, Alexandre Rodrigues Silva</i>	<b>47</b>
<b>Monitoramento ultrassonográfico do estro em catetos (<i>Pecari tajacu</i>) após sincronização utilizando análogo da prostaglandina</b>	
<i>Keilla Moreira Maia, Gislayne Christianne Xavier Peixoto, Aracely Rafaelle Fernandes Ricarte, Moacir Oliveira Franco, Alexandre Rodrigues Silva</i>	<b>49</b>
<b>Recuperação oocitária em catetos (<i>Pecari tajacu</i> Linnaeus, 1758) utilizando o método de fatiamento ovariano – Resultados preliminares</b>	
<i>Dayse Ariane Soares Medeiros, Livia Batista Campos, Alexsandra Fernandes Pereira, Alexandre Rodrigues Silva</i>	<b>51</b>
<b>Sincronização de estro em catetos (<i>Pecari tajacu</i>) utilizando associação das gonadotrofinas coriônicas equina e humana</b>	
<i>Gislayne Christianne Xavier Peixoto, Livia Batista Campos, Erika Camila Gurgel Praxedes, Thiberio Souza Castelo, Ariana Lopes Correia de Paiva, Alexandre Rodrigues Silva</i>	<b>53</b>
<b>Teste de termorresistência na avaliação dos espermatozoides epididimários de catetos (<i>Pecari tajacu</i>) criopreservados com diferentes diluentes</b>	
<i>José Artur Brilhante Bezerra, Andréia Maria da Silva, Patrícia da Cunha Sousa, Thibério Souza Castelo, Gabriela Liberalino Lima, Alexandre Rodrigues Silva</i>	<b>55</b>
<b>Validação de sondas fluorescentes na avaliação da viabilidade de espermatozoides epididimários de cutias (<i>Dasyprocta azarae</i>)</b>	
<i>Luana G. P. Bezerra, Gabriela L. Lima, Clara Y. M. Costa, Thibério S. Castelo, Ana L. P. Souza, Alexandre R. Silva</i>	<b>57</b>
<b>Vitrificação de tecido ovariano de preá (<i>Galea spixii spixii</i>) – Resultados preliminares</b>	
<i>Érica Camila Gurgel Praxedes, Gabriela Liberalino Lima, José Artur Brilhante Bezerra, Ana Liza Paz Souza, Moacir Franco de Oliveira, Alexandre Rodrigues Silva</i>	<b>59</b>
<b>BIOTÉCNICAS FUNDAMENTAIS</b>	
<b>Análise morfométrica do testículo de ratos wistar tratados com <i>Ipomoea setifera</i></b>	
<i>Antonio Gomes Costa Neto de Sousa, Suellen Bezerra de Sousa, Ana Kelen Felipe Lima, Obede Rodrigues Ferreira, Viviane Mayumi Maruo</i>	<b>62</b>
<b>Avaliação da toxicidade reprodutiva e metabólica das sementes e folhas de <i>mimosa verrucosa</i> em ratas (<i>Rattus norvegicus albinus</i>)</b>	
<i>Alcir Martins Pereira, Francisco Humberto da Silva Ribeiro, Yuri Rodrigues Pinheiro, Sabrina Thabla Pereira Lopes, Silvana Maria Medeiros de Sousa Silva, Marcos Daniel de Sousa Ferreira</i>	<b>64</b>
<b>Avaliação macroscópica do autotransplante ovariano para a região subcapsular renal em camundongas Balb-c</b>	
<i>Mikael Almeida Lima, Muriel Magda Lustosa Pimentel, Fernanda Araujo dos Santos, Roberta Gonçalves Izzo, Ana Carolina Guimarães Teixeira, Marcelo Barbosa Bezerra</i>	<b>66</b>
<b>Efeito do gossipol sobre o desenvolvimento embrionário inicial em camundongos fêmeas</b>	
<i>Valesca Barreto Luz, Ivana Cristina Lelis Gadelha, Benito Soto-Blanco, Mikael Almeida Lima, Marcelo Barbosa Bezerra, Luiz Augusto Vieira Cordeiro</i>	<b>68</b>
<b>Efeito do gossipol sobre o desenvolvimento embrionário precoce em ratas</b>	
<i>Ivana Cristina Nunes Gadelha, Valesca Barreto Luz, Luiz Augusto Vieira Cordeiro, Nayanna Brunna da Silva Fonsêca, Michelly Fernandes de Macêdo, Benito Soto-Blanco</i>	<b>70</b>

<b>Espermatogênese em camundongos portadores da Distrofia Muscular de Duchenne</b>	
<i>Janine Karla França da Silva Braz, Vilessa Lilian de Araújo Gomes, Naianne Kelly Clebis, Moacir Franco de Oliveira, Carlos Eduardo Bezerra de Moura, Danielle Barbosa Moraes</i>	<b>72</b>
<b>Histologia testicular de camundongos portadores da Distrofia Muscular de Duchenne</b>	
<i>Janine Karla França da Silva Braz, Vilessa Lilian de Araújo Gomes, Naianne Kelly Clebis, Moacir Franco de Oliveira, Carlos Eduardo Bezerra de Moura, Danielle Barbosa Moraes</i>	<b>74</b>
<b>Macroscopia de tecido cortical ovariano autotransplantado para perímetro e região subcutânea abdominal em camundongas Balb-c</b>	
<i>Fernanda Araujo dos Santos, Muriel Magda Lustosa Pimentel, Nayara Almeida do Carmo, Roberta Gonçalves Izzo, Michelly Fernandes de Macedo, Marcelo Barbosa Bezerra</i>	<b>76</b>
<b>Opinião de alunos do curso de biologia UECE/FAFIDAM sobre a reprodução <i>in vitro</i> como alternativa para a conservação de espécies</b>	
<i>Andresa Pereira da Silva, Nayara de Castro Chaves, Carlos Antônio Sombra Junior, Wendell Saldanha Paulino, Katiane Queiroz da Silva, Maria Vanessa da Costa de Deus</i>	<b>78</b>
<b>Retorno à ciclicidade em camundongas Balb-c após autotransplante ovariano</b>	
<i>Fernanda Araujo dos Santos, Muriel Magda Lustosa Pimentel, Parmênedes Dias de Brito, Roberta Gonçalves Izzo, Michelly Fernandes de Macedo, Marcelo Barbosa Bezerra</i>	<b>80</b>
<b>Retorno do estro em camundongas Balb-c submetidas ao autotransplante ovariano sob a cápsula renal</b>	
<i>Roberta Gonçalves Izzo, Fernanda Araujo dos Santos, Ana Carolina Guimarães Teixeira, Nyanne de Oliveira dos Santos, Parmênedes Dias de Brito, Marcelo Barbosa Bezerra</i>	<b>82</b>
<b>BOVINOS</b>	
<b>Aspiração folicular em ovários bovinos da região semiárida: Tempo de transporte x Qualidade oocitária</b>	
<i>Érika Almeida Praxedes, Joelma Martins Pereira de Lima, Laysa Ohana Alves de Oliveira, Fernanda Araujo dos Santos, Alessandra Fernandes Pereira, Marcelo Barbosa Bezerra</i>	<b>85</b>
<b>Atuação das células do <i>cumulus</i> na fertilização <i>in vitro</i> de oócitos bovinos</b>	
<i>Pábola Santos Nascimento, Maiana Silva Chaves, Elizabete Teixeira, Antonio Santana dos Santos Filho<sup>2</sup>, Cláudio Coutinho Bartolomeu</i>	<b>87</b>
<b>Avaliação de protocolos de IATF em vacas mestiças sob efeito do estresse térmico criadas no semiárido nordestino</b>	
<i>José Maria Freire de Medeiros, Leonardo Lelis de Macedo Costa, Valesca Barreto Luz, Priscila Silvana Bertevello, Luiz Augusto Vieira Cordeiro<sup>3</sup></i>	<b>89</b>
<b>Avaliação do efeito da melatonina sobre o grau de qualidade de embriões bovinos produzidos <i>in vitro</i></b>	
<i>Luiz Harlilton Cavalcante Monteiro Mota, Felipe Pereira da Silva Barçante, Ícaro Oliveira Torres de Souza, Yndyra Nayan Teixeira Carvalho, Savio Ruan Sampaio de Sousa, José Adalmir Torres de Souza</i>	<b>91</b>
<b>Avaliação do efeito do estresse térmico sobre a expressão do estro induzido em novilhas puras holandesas</b>	
<i>Irani Passos Fontenele, Airamita Karla Lucas Ferreira, Valesca Barreto Luz, Leonardo Lelis de Macedo Costa, Francisco Alexandre de Araújo Almeida, Luiz Augusto Vieira Cordeiro</i>	<b>93</b>
<b>Caracterização do manejo reprodutivo de vacas leiteiras no município de Quixeramobim-ce, Brasil</b>	
<i>Wendell Fellype de Souza Alves, Deygnon Cavalcanti Clementino, Fabrício Brandão Pereira, Ícaro Coutinho Cosmo, Wagner Dias Coelho de Oliveira, Leilson Rocha Bezerra</i>	<b>95</b>
<b>Comparação entre os métodos Gradiente de Percoll e lavagem na produção de embriões utilizando sêmen de touros da raça 5/8 Girolando</b>	
<i>Elizabete Julia da Silva, Maiana Silva Chaves, Pábola Santos Nascimento, Elizabete Teixeira, Antonio Santana dos Santos Filho, Cláudio Coutinho Bartolomeu</i>	<b>97</b>

<b>Criopreservação de espermatozoides epididimários de bovinos nelore em diluente TRIS suplementado com extrato de <i>Mauritia flexuosa</i></b> <i>Walber Vinícius dos Reis Vieira, Danilo de Sousa Lima, Homero da Rocha Batista, Daniela Kunkel, Ney Rômulo de Oliveira Paula, Janaína de Fátima Saraiva Cardoso</i>	<b>99</b>
<b>Fertilidade de vacas <i>Bos indicus</i> submetidas à IATF com sêmen rediluído em ACP 111<sup>®</sup></b> <i>Kenney de Paiva Porfírio, Daniela Kunkel, Camila Arrivabene Neves, Cristiane Clemente de Mello Salgueiro, Janaína de Fátima Saraiva Cardoso, Ney Rômulo de Oliveira Paula</i>	<b>101</b>
<b>Influência de fatores ambientais sobre características seminais e comportamento sexual de bubalinos submetidos à congelação de sêmen</b> <i>Wilton Figueiredo Lima, José Luiz Boaretto, Álvaro Chaves Neto, Gustavo Alighiere Lopes da Silva, Sebastião Tavares Rolim Filho, Haroldo Francisco Lobato Ribeiro</i>	<b>103</b>
<b>Influências hidrográficas na inseminação artificial em bubalinos criados extensivamente na Amazônia</b> <i>Haroldo Francisco Lobato Ribeiro, Sebastião Tavares Rolim Filho, Keitiane Colares de Sousa, Elenara Botelho Araujo, Gustavo Alighiere Lopes Silva, Álvaro Chaves Neto</i>	<b>105</b>
<b>Oócitos bovinos selecionados <i>in vitro</i> com uso do Azul Cresil Brillhante (BCB) submetidos a diferentes períodos de exposição</b> <i>Alana Azevedo Borges, Magda Lorena Turbano dos Santos, Luiza Bento de Queiroz Neta, Maria Valéria de Oliveira Santos, Ana Kelly Nogueira Feitosa, Alessandra Fernandes Pereira</i>	<b>107</b>
<b>Sexagem fetal por ultrassonografia em vacas nelore inseminadas com sêmen rediluídos em ACP 111<sup>®</sup> no período seco</b> <i>Daniela Kunkel, Willams Costa Neves, José Ferreira Nunes, Cristiane Clemente de Mello Salgueiro, Janaína de Fatima Saraiva Cardoso, Ney Rômulo de Oliveira Paula</i>	<b>109</b>
<b>Toxicidade do extrato bruto de <i>Aloe vera</i> para espermatozoides epididimários de bovinos de corte</b> <i>Claudevan da Rocha Fontes, Danilo de Sousa Lima, Willams Costa Neves, Camila Arrivabene Neves, Ney Rômulo de Oliveira Paula, Janaína de Fatima Saraiva Cardoso</i>	<b>111</b>
<b>Toxicidade do extrato bruto de <i>Mauritia flexuosa</i> para espermatozoides epididimários de bovinos de corte</b> <i>Homero Batista da Rocha, Aderaldo da Silva Aquino, Daniela Kunkel, Willams Costa Neves, Ney Rômulo de Oliveira Paula, Janaína de Fátima Saraiva Cardoso</i>	<b>113</b>
<b>Toxicidade <i>in vitro</i> de diferentes concentrações de surfactante em solução salina contendo óleo de <i>Mauritia flexuosa</i> para espermatozoides epididimários de touros de corte</b> <i>Juliana Alves de Oliveira, Daniela Kunkel, Harisson Nunes Batista, Danilo de Sousa Lima, Ney Rômulo de Oliveira Paula, Janaína de Fátima Saraiva Cardoso</i>	<b>115</b>
<b>CANINOS</b>	
<b>Adição do Trolox<sup>®</sup> ao diluidor TRIS-gema na criopreservação de sêmen de cães da raça Rottweiler</b> <i>Luanna Soares de Melo Evangelista, Marcos Antônio Celestino Filho, Ícaro Oliveira Torres de Souza, Marlon de Araújo Castelo Branco, Luiz Harlton Cavalcante Monteiro Mota, José Adalmir Torres de Souza</i>	<b>118</b>
<b>Avaliações ultrassonográficas e histopatológica dos testículos de cão criptorquídico após orquidopexia unilateral</b> <i>Ticiano Franco Pereira da Silva, Mirley Barbosa de Souza, José Nicodemos Pinto, Daniel de Araújo Viana, Daniel Couto Uchoa, Lúcia Daniel Machado da Silva</i>	<b>120</b>
<b>Comparação das concentrações séricas de testosterona entre cães férteis e inférteis</b> <i>Francisco Felipe de Magalhães, Mirley Barbosa de Souza, Herlon Victor Rodrigues Silva, José Nicodemos Pinto, Carmen Vlândia Soares Sousa, Lúcia Daniel Machado da Silva</i>	<b>122</b>

<b>Comparação dos parâmetros espermáticos e bioquímicos do líquido prostático de cães da raça pastor Alemão e Rottweiler</b> <i>Annice Aquino-Cortez, Michele Costa Silva, Annira Aquino Cortez, Vinícius Rodrigues de Castro e Silva, Francisca Sônia Martins Crisóstomo, Lúcia Daniel Machado da Silva</i>	<b>124</b>
<b>Congelamento de espermatozoides epididimários caninos utilizando ACP-106c e TRIS</b> <i>Antônio Cavalcante Mota Filho, Herlon Victor Rodrigues Silva, Thalles Gothardo Pereira Nunes, Luana Azevedo de Freitas, Airton Alencar de Araújo, Lúcia Daniel Machado da Silva</i>	<b>126</b>
<b>Distúrbios reprodutivos em cadelas atendidas no hospital veterinário da UFCG entre 2007 e 2013</b> <i>Suzanna Cavalcante Lins, Emmanuel de Assis Cunha, Norma Lúcia de Souza Araújo, Carlos Enrique Peña Alfaro</i>	<b>128</b>
<b>Frequência de anticorpos anti-<i>Brucella canis</i> em cães de Teresina-PI</b> <i>Andressa de Carvalho Teixeira Lima, André Braga de Souza, Francisco de Assis Leite Souza, Ana Maria Quessada, Gardenia Alves da Silva, Ana Lys Bezerra Barradas Mineiro</i>	<b>130</b>
<b>Leydigocitoma e seminoma concomitantes em cão – Relato de caso</b> <i>Wallace Paulo Nobre Silva, Fernanda Rech, Elenara Botelho Araújo, Fernando Kelsen Araujo França, Sebastião Tavares Rolim Filho, Haroldo Francisco Lobato Ribeiro</i>	<b>132</b>
<b>Medidas da pelve canina e sua relação com distocia no parto</b> <i>Yúllia Alves Santos Rufino, Miguel Ferreira Cavalcante Filho, Willams Costa Neves, Tatiana Rodrigues Prado, Janaina de Fátima Saraiva Cardoso, Ney Rômulo de Oliveira Paula</i>	<b>134</b>
<b>Parâmetros espermáticos e ultrassonográficos de cão com assimetria testicular</b> <i>Breno Queiroz Pinheiro, Annice Aquino-Cortez, Herlon Victor Rodrigues da Silva, Luana Azevedo de Freitas, Lorena Araújo Martins Aguiar Rocha, José Nicodemos Pinto, Lúcia Daniel Machado da Silva</i>	<b>136</b>
<b>Recuperação de espermatozoides epididimários caninos após refrigeração dos testículos-epidídimos a 4°C por 24 horas utilizando ACP-106c®: Resultados parciais</b> <i>José Fabson Pinheiro Dos Santos, Karina Batista Pereira Silva, Parvatí Carvalho de Freitas, Elizabete Teixeira Gomes, Jairo de Macêdo Lins e Silva Neto, Rita de Cássia Soares Cardoso</i>	<b>138</b>
<b>Refrigeração de espermatozoides-epididimários caninos a 4°C utilizando ACP-106c® após refrigeração dos testículos-epidídimos por 24h: Resultados parciais</b> <i>Karina Batista Pereira Silva, José Fabson Pinheiro dos Santos, Parvatí Carvalho de Freitas, Anderson Valdecy Sales da Paz, Jairo de Macêdo Lins e Silva Neto, Rita de Cássia Soares Cardoso</i>	<b>140</b>
<b>Renovação do diluidor TRIS com gema de ovo ou <i>Aloe vera sp.</i> na viabilidade do sêmen canino refrigerado a 5°C – Resultados preliminares</b> <i>Cibele Cavalcanti Souza de Melo, Érika Christina Santos Oliveira, Rebeca Pinto Ramos, Cecília Freire de Lima, Allynneide Emannuely da Silva Rodrigues, Maria Madalena Pessoa Guerra</i>	<b>142</b>
<b>Resfriamento de espermatozoides caninos imediatamente após recuperação do epidídimo com ACP-106c® acrescido ou não de gema de ovo: Resultados preliminares</b> <i>Elizabete Teixeira Gomes, José Fabson Pinheiro Dos Santos, Karina Batista Pereira Silva, Parvatí Carvalho de Freitas, Jairo de Macêdo Lins e Silva Neto, Rita de Cássia Soares Cardoso</i>	<b>144</b>
<b>Seminoma em canino: Relato de caso</b> <i>Fernando Kelsen Araujo França, Elenara Botelho Araújo, Anelise de Sarges Ramos, Nathalia Clemente Barreto, Sebastião Tavares Rolim Filho, Haroldo Francisco Lobato Ribeiro</i>	<b>146</b>
<b>CAPRINOS</b>	
<b>Comparação da citologia vaginal de cabras cíclicas e gestantes da raça Canindé exploradas na região semiárida do nordeste do Brasil</b> <i>Bruna Swell Freire de Medeiros, Leilanne Cristina de Andrade Pinto, Raniela de Sousa Nunes, Ewerton de Medeiros Filho, Ana Indira Bezerra Barros, Aracely Rafaelle Fernandes Ricarte</i>	<b>149</b>



<b>Efeito da adição de proteína anticongelante na maturação <i>in vitro</i> de complexos cumulus-oócito caprino vitrificados e posteriormente aquecidos</b> <i>Dowgligh Ferreira Chaves, Joanna Maria Gonçalves de Souza-Fabjan, Iana Sales Campelo, Rodrigo Rabêlo de Castro Sousa, Vicente José de Figueirêdo Freitas</i>	<b>151</b>
<b>Efeito da aplicação dupla de PGF 2<math>\alpha</math> (D-Cloprostenol) na indução do estro de cabras caninéd exploradas na região semiárida do nordeste do Brasil</b> <i>Rizya Valéria da Silva Oliveira, Ana Carolina Guimarães Teixeira, Clarisse Caroline de Oliveira e Silva, Thayane Dayse Rodrigues da Cunha, Aline Martins Rosendo, Aracely Rafaelle Fernandes Ricarte</i>	<b>153</b>
<b>Efeito da biópsia de glândula mamária sobre a produção de leite em cabras Caninéd durante lactação induzida</b> <i>Amanda Albuquerque Rocha, Francisco Carlos de Sousa, Joanna Maria Gonçalves de Souza-Fabjan, Luciana Magalhães Melo, Vicente José de Figueirêdo Freitas, Dárcio Ítalo Alves Teixeira</i>	<b>155</b>
<b>Efeito da inibição da Enzima Conversora de Angiotensina (ECA) associado a um protocolo de Inseminação Artificial sobre a fertilidade de cabras sprd</b> <i>Sávio Ruan Sampaio de Sousa, Martins Neto Bueno, Ícaro Oliveira Torres de Sousa, Antônio de Sousa Júnior, Amilton de Paulo Raposo Costa, José Adalmir Torres de Souza</i>	<b>157</b>
<b>Efeito da Somatotropina Bovina Recombinante (RBST) em um protocolo de Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF) em cabras</b> <i>Silvana Benvindo Ferreira, José Adalmir Torres de Souza, Lauro César Soares Feitosa, Glayde Maria Carvalho Veras, Marlon de Araújo Castelo Branco, Weverton Lopes da Silva</i>	<b>159</b>
<b>Efeito do enalapril e do horário de inseminação sobre taxa de prenhez de cabras submetidas à Inseminação Artificial em Tempo Fixo</b> <i>Karoline Figueredo Rodrigues, Martins Neto Bueno, Ícaro Oliveira torres de Souza, Antônio de Sousa Júnior, José Adalmir Torres de Souza, Amilton Paulo Raposo Costa</i>	<b>161</b>
<b>Efeitos da suplementação com caroço de algodão sobre o desenvolvimento fetal em cabras prenhes</b> <i>Lamartine José Brito Medeiros, Verônica Medeiros da Trindade, Pablo da Costa Sousa, Ramon Tadeu Galvão Alves Rodrigues</i>	<b>163</b>
<b>Índices reprodutivos da raça Anglo-nubiana manejada com estação de monta em diferentes épocas do ano, no Piauí</b> <i>Pâmela Christina Magalhães, Pollyana Oliveira da Silva, Felipe Pereira da Silva Barçante, Naylene Carvalho Sales da Silva, José Elivalto Guimarães Campelo, José Adalmir Torres de Souza</i>	<b>165</b>
<b>Influência da aplicação de testosterona bioidêntica por via transdérmica escrotal sobre os níveis hormonais e libido em caprinos</b> <i>Talita Soares Câmara, Leonardo Rodrigues Cabral, Priscila Palácio de Queiroz Farias, Bruna Farias Brito, Ana Gláudia Vasconcelos Catunda, José Ferreira Nunes</i>	<b>167</b>
<b>Prevalência e perfil da microbiota bacteriana autóctone de vaginas de cabras sadias</b> <i>Júlia Caroline Paz dos Santos, Sabrina Thabla Pereira Lopes, Willames Costa Neves, Isolda Marcia Rocha do Nascimento, Maria José dos Santos Soares, Ana Lys Bezerra Barradas Mineiro</i>	<b>169</b>
<b>Pseudogestação em cabras leiteiras: Relato de caso</b> <i>Ediane Freitas Rocha, Norma Lúcia de Souza Araújo, Sara Vilar Dantas Simões, Carlos Enrique Peña Alfaro, Erllon Layme Batista Moura, Bruno Guimarães Leal</i>	<b>171</b>
<b>Quantificação de proteínas totais e eletroforese-1D do fluido folicular de cabra caninéd: Resultados preliminares</b> <i>Alexandre Rodrigues de Paula Junior, Mauricio Fraga van Tilburg, Joanna Maria Gonçalves de Souza-Fabjan, Carlos Henrique Sousa de Melo, Arlindo de Alencar Araripe Noronha Moura, Vicente José de Figueirêdo Freitas</i>	<b>173</b>
<b>Taxa de gestação em cabras Saanen tratadas com GNRH no momento da Inseminação Artificial</b> <i>Rebeca Santos da Silva, Maria do Socorro Almeida Arnaldo, Emerson Israel Mendes, Heder Nunes Ferreira, Antonio Matos Fraga Junior</i>	<b>175</b>

## EQUÍDEOS

<b>Influência da época do ano sobre os parâmetros seminais de garanhões pônei</b> <i>Claudio Avelino de Oliveira Lucena, Marciane da Silva Maia, José Jussier Aquino Maia, Gizele Fonseca da Silva, Técio Marlos Lourenço de Sousa, Carlos Eduardo Bezerra de Moura</i>	<b>178</b>
<b>Pesquisa de anticorpos anti-<i>Brucella abortus</i> em equinos da cidade de Bom Jesus – Piauí</b> <i>Gustavo Henrique Chaves Martins, Rogério Ramos Moreira, Sabrina Thabla Pereira Lopes, Júlia Caroline Paz dos Santos, Lauro César Soares Feitosa, Ana Lys Bezerra Barradas Mineiro</i>	<b>180</b>
<b>Pesquisa de anticorpos para <i>Leptospira spp.</i> em soro de equinos da cidade de Bom Jesus – Piauí</b> <i>Sabrina Thabla Pereira Lopes, Lauro César Soares Feitosa, Ítalo Sena Carvalho, Júlia Caroline Paz dos Santos, Vanessa Castro, Ana Lys Bezerra Barradas Mineiro</i>	<b>182</b>

## FELINOS

<b>Anormalidades ultrassonográficas gestacionais em fetos caninos e felinos</b> <i>Luana Azevedo de Freitas, Cynthia Levi Baratta Monteiro, Lúcia Daniel Machado da Silva</i>	<b>185</b>
<b>Castração química: Uma solução para o controle populacional de cães e gatos</b> <i>Allynneide Emannuely da Silva Rodrigues, Cibele Cavalcanti Souza de Melo, Rebeca Pinto Ramos, Adriana Kátia da Rocha Neves, Thaís Gusmão Ferraz de Andrade, Érika Christina Santos Oliveira</i>	<b>187</b>
<b>Efeito do TRIS-Citrato em diferentes osmolaridades sob espermatozóides epididimários de felinos domésticos</b> <i>Silmara Leticia Gonçalves Lima, Danielle Cristina Calado de Brito, Danuza Leite Leão, Maria Hilma Soares Sodr�, Regiane Rodrigues dos Santos, Sheyla Farhayldes Souza Domingues</i>	<b>189</b>
<b>Influência da mudança das fases da lua na ocorrência de partos naturais em gatas da raça persa: Mito ou verdade?- Resultados preliminares</b> <i>Ticiano Franco Pereira da Silva, Geórgia Chaves Mourão, Carmen Vl�dia Soares de Sousa, David Baruc Cruvinel Lima, Lúcia Daniel Machado da Silva</i>	<b>191</b>
<b>Morte fetal em cadelas e gatas submetidas a tratamento com anticoncepcionais atendidas no hospital veterinário da Universidade Federal de Campina Grande</b> <i>Luana da Silva Araújo, Norma Lúcia de Souza Araújo, Carlos Enrique Pe�a Alfaro, Rosileide Santos Carneiro</i>	<b>193</b>
<b>Prevalência de casos reprodutivos em cães e gatos atendidos em Belém, Pará</b> <i>Elenara Botelho Araújo, Fernando Kelsen Araujo França, Anelise de Sarges Ramos, Nathalia Clemente Barreto, Sebastião Tavares Rolim Filho, Haroldo Francisco Lobato Ribeiro</i>	<b>195</b>
<b>Recupera�o de espermatozoides epididimários de gato doméstico através da técnica de flutua�o</b> <i>David Baruc Cruvinel Lima, Herlon Rodrigues Silva, Gabriela Guedelha de Carvalho, José Nicodemos Pinto, Breno Queiroz Pinheiro, Lúcia Daniel Machado da Silva</i>	<b>198</b>
<b>RPMI como meio para a criopreserva�o de tecido ovariano de gata doméstica (<i>Felis catus</i>)</b> <i>Danielle Cristina Calado de Brito, Silmara Leticia Gonçalves Lima, Maria Hilma Soares Sodr�, Sheyla Farhayldes Souza Domingues, Regiane Rodrigues dos Santos, Julio César Pieczarka</i>	<b>200</b>
<b>Uso da eletroejacula�o na reversão de agressividade a fêmeas em estro e estimula�o de comportamento sexual em gato persa</b> <i>Ticiano Franco Pereira da Silva, Ana Cristina Paulino Braga, Lúcia Daniel Machado da Silva</i>	<b>202</b>

## ORGANISMOS AQUÁTICOS

<b>Análise cinética do sémen de <i>Prochilodus brevis</i> criopreservado em máquina de congela�o programável</b> <i>Maria Daniele Vieira Matos, João Paulo Silva Pinheiro, Mayara Setúbal Oliveira, Priscila Silva de Almeida, Júlia Trugilio Lopes, Carminda Sandra Brito Salmito-Vanderley</i>	<b>205</b>
---	------------

<b>Avaliação da presença de glicose, cloreto e triglicerídeo no plasma seminal de Tambaqui e Pirapitinga</b> <i>Jordana Sampaio Leite, Mônica Aline Parente Melo-Maciel, Rômulo Roberto Ribeiro Pinheiro, João Paulo Silva Pinheiro, Carminda Sandra Brito Salmito-Vanderley, José Ferreira Nunes</i>	<b>207</b>
<b>Avaliação de diferentes diluentes sobre a morfologia do sêmen pós-descongelção de Curimatã</b> <i>Yasmim Maia Ferreira, João Paulo Silva Pinheiro, Rômulo Roberto Ribeiro Pinheiro, Mayara Setúbal Oliveira, Mônica Aline Parente Melo-Maciel, Carminda Sandra Brito Salmito-Vanderley</i>	<b>209</b>
<b>Caracterização do desenvolvimento embrionário em Carpa comum até o fechamento do blastóporo em latitude equatorial</b> <i>Francisco Renan Aragão Linhares, Priscila Silva de Almeida, Larissa Teixeira Nunes, Maria Eduarda Magalhães de Souza, José Ferreira Nunes, Carminda Sandra Brito Salmito-Vanderley</i>	<b>211</b>
<b>Comparação entre contagem de número de espermatozoides por lâmina no sêmen fresco de Curimatã comum</b> <i>Larissa Teixeira Nunes, Rômulo Roberto Ribeiro Pinheiro, Maria Daniele Vieira Matos, José Agenor Soares Galvão, José de Souza Júnior, Carminda Sandra Brito Salmito-Vanderley</i>	<b>213</b>
<b>Concentração ideal de ureia utilizada na remoção da adesividade dos ovócitos de Carpa comum (<i>Cyprinus carpio</i>)</b> <i>Priscila Silva de Almeida, Francisco Renan Aragão Linhares, Jordana Sampaio Leite, Renata Vieira do Nascimento, Yasmim Maia Ferreira, Carminda Sandra Brito Salmito-Vanderley</i>	<b>215</b>
<b>Efeito da anestesia na qualidade do sêmen da Carpa comum (<i>Cyprinus carpio</i>): Estudo preliminar</b> <i>Angelita Costa da Silva, Antônio Glaydson Lima Moreira, Erivânia Gomes Teixeira, Wladimir Ronald Lobo Farias</i>	<b>217</b>
<b>Efeito do resfriamento sobre embriões de Tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>)</b> <i>Renata Vieira do Nascimento, Mayara Setúbal Oliveira, Liliane Veras Leite, Francisco Renan Aragão Linhares, Marcelo José Ascenção Feitosa Vieira, Carminda Sandra Brito Salmito-Vanderley</i>	<b>219</b>
<b>Estrutura populacional de <i>Curimatella lepidura</i> (Eigenmann &amp; Eigenmann, 1889), em um reservatório do semiárido nordestino</b> <i>Luzia Geíze Fernandes Rebouças, Jônnata Fernandes de Oliveira, Danielle Peretti, Rodrigo Silva da Costa, José Luís Costa Novaes</i>	<b>221</b>
<b>Integridade de membrana do sêmen criopreservado de <i>Prochilodus brevis</i>, utilizando o Método Eosina-Nigrosina</b> <i>Rômulo Roberto Ribeiro Pinheiro, Larissa Teixeira Nunes, Maria Eduarda Magalhães de Souza, Renata Vieira do Nascimento, Jordana Sampaio Leite, Carminda Sandra Brito Salmito Vanderley</i>	<b>223</b>
<b>Motilidade do sêmen de Carpa comum, <i>Cyprinus carpio</i> após congelção rápida em meio à base de água de coco em pó (ACP-104)</b> <i>Maria Audália Marques de Carvalho, Larissa Teixeira Nunes, Cristiane Clemente de Melo Siqueira, Fátima de Cássia Evangelista de Oliveira, Ana Gláudia Vasconcelos Catunda, José Ferreira Nunes</i>	<b>225</b>
<b>Utilização de diferentes diluentes na criopreservação do sêmen de Curimatã comum.</b> <i>João Paulo Silva Pinheiro, Thaís Maia Torres, Priscila Silva de Almeida, Júlia Trugilio Lopes, Liliane Veras Leite, Carminda Sandra Brito Salmito-Vanderley</i>	<b>227</b>
<b>Varição do índice gonadal de Pepino do Mar (<i>Holothuria grisea</i>) no litoral cearense</b> <i>Maria Eduarda Magalhães de Souza, Liliane Veras Leite, Rômulo Roberto Ribeiro Pinheiro, José de Sousa Junior, José Ferreira Nunes, Carminda Sandra Brito Salmito-Vanderley</i>	<b>229</b>
<b>OVINOS</b>	
<b>Avaliação do sêmen ovino resfriado e diluído em ACP 101/102 adicionado de diferentes proporções de <i>Aloes</i></b> <i>Lívia Pereira Antunes, Bruna Farias Brito, Fábio Ranyeri Nunes Rodrigues, Ana Gláudia Vasconcelos Catunda, Raisa Rodrigues Santos Rios</i>	<b>232</b>

<b>Cinética de espermatozoides ovinos recuperados da cauda do epidídimo de animais alimentados com diferentes forragens</b> <i>Karen Mascaro Gonçalves da Silva, Cristiane Scavuzzi Moura, José Ricardo Coelho da Silva, Pierre Castro Soares, Antonia Sherlânea Chaves Vêras, Maria Madalena Pessoa Guerra</i>	<b>234</b>
<b>Efeito da Somatotropina Recombinante Bovina (RBST) na biometria testicular de ovinos Santa Inês</b> <i>Isólida Márcia Rocha do Nascimento, Leopoldina Almeida Gomes, Antonio de Sousa Júnior, Ana Lys Bezerra Barradas Mineiro, Willames Costa Neves, José Adalmir Torres Souza</i>	<b>236</b>
<b>Efeito da Somatropina Bovina Recombinante (RBST) sobre as características seminais de ovinos Santa Inês</b> <i>Leopoldina Almeida Gomes, Felipe Pereira da Silva Barçante, Yndyra Nayan Teixeira Carvalho, Marlon de Araújo Castelo Branco, Sávio Ruan Sampaio de Sousa, José Adalmir Torres de Souza</i>	<b>238</b>
<b>Efeito da substituição do feno de Tifton 85 (<i>Cynodon dactylon</i>) por feno de Alfafa (<i>Medicago sativa</i>) sobre os parâmetros reprodutivos de ovinos</b> <i>Cristiane Scavuzzi Moura, José Ricardo Coelho da Silva, Lúcia Cristina Pereira Arruda, Robespierre Augusto Joaquim Araújo Silva, Antonia Sherlânea Chaves Vêras, Pierre Castro Soares</i>	<b>240</b>
<b>Efeito do <i>Aloe vera</i> adicionado em diferentes concentrações à água de coco em pó (ACP-102<sup>®</sup>) no sêmen ovino diluído e incubado por duas horas</b> <i>Bruna Farias Brito, Livia Pereira Antunes, Fábio Ranyeri Nunes Rodrigues, Cristiane Clemente de Mello Salgueiro, José Maurício Maciel Cavalcante, José Ferreira Nunes</i>	<b>242</b>
<b>Efeitos da substituição do feno do Tifton-85 (<i>Cynodon spp</i>) por feno de Alfafa (<i>Medicago sativa</i>) sobre o parênquima testicular em carneiros</b> <i>Anna Kelly Lima Pontes Venâncio, Cristiane Scavuzzi Moura, Pierre Castro Soares, José Ricardo Coelho da Silva, Antonia Sherlânea Chaves Vêras, Valdemiro Amaro da Silva Júnior</i>	<b>244</b>
<b>Efeitos do farelo de castanha de caju sobre as proteínas espermáticas de ovinos</b> <i>Rodrigo V. de Oliveira, Maurício F. van Tilburg, Ronaldo Q. dos Santos, Frederico B. Moreno, Ana Cristina O. Monteiro-Moreira, Arlindo Moura</i>	<b>246</b>
<b>Existe diferença de osmolaridade entre ejaculados de carneiros?</b> <i>Gabriel Felipe Oliveira de Menezes, Fabiana Almeida Bidegain, Rebeca Santos da Silva, Carollina Florido Pires, Hymerson Costa Azevedo</i>	<b>248</b>
<b>Rendimento da espermatogênese e eficiência das células de sertoli em ovinos sem padrão racial definido oriundos do semiárido paraibano com e sem bipartição escrotal</b> <i>Ramon Tadeu Galvão Alves Rodrigues, José Rômulo Soares dos Santos, Otávio Brilhante de Sousa, Danilo José Ayres de Menezes</i>	<b>250</b>
<b>Soroprevalência da infecção por <i>Brucella ovis</i> em ovinos explorados na microrregião homogênea de Teresina, Piauí, Brasil</b> <i>Bruno Leandro Maranhão Diniz, Raymundo Rizaldo Pinheiro, Francisco Selmo Fernandes Alves, Tadeu Bezerra Leopoldo, Janaina de Fátima Saraiva Cardoso, Ney Rômulo de Oliveira Paula</i>	<b>252</b>
<b>Soroprevalência da infecção por <i>Chlamydophila abortus</i> em pequenos ruminantes explorados na microrregião do Alto Médio Gurguéia, no Estado do Piauí, Brasil</b> <i>Harisson Nunes Batista, Raymundo Rizaldo Pinheiro, Francisco Selmo Fernandes Alves, Bruno Leandro Maranhão Diniz, Tadeu Bezerra Leopoldo, Ney Rômulo de Oliveira Paula</i>	<b>254</b>
<b>Soroprevalência da infecção por <i>Chlamydophila abortus</i> em pequenos ruminantes explorados na microrregião homogênea de Teresina, Piauí, Brasil</b> <i>Luã Carvalho Resplandes, Tadeu Bezerra Leopoldo, Wagner Martins Fontes do Rêgo, Bruno Leandro Maranhão Diniz, Francisco Selmo Fernandes Alves, Ney Rômulo de Oliveira Paula</i>	<b>256</b>
<b>Soroprevalência da leptospirose em ovinos na microrregião homogênea de Teresina, Piauí</b> <i>Huanna Waleska Soares Rodrigues, Rômulo José Vieira, Leticia Soares de Araújo Teixeira, Sônia Maria de Carvalho, Gardênia Alves da Silva, Ana Lys Bezerra Barradas Mineiro</i>	<b>258</b>
<b>Uso da lecitina de soja no diluidor ACP-102<sup>®</sup> e seu efeito sobre a viabilidade do espermatozoide ovino submetido ao teste de choque térmico</b> <i>Victor Barbosa Pereira, Amanda de Lucas Coimbra, Livia Furtado Ximenes, Fábio Ranyeri Nunes</i>	<b>260</b>

*Rodrigues, José Maurício Maciel Cavalcante, José Ferreira Nunes*

---

**Viabilidade e morfologia espermática do sêmen ovino diluído em água de coco em pó (ACP-102<sup>®</sup>) com diferentes concentrações de babosa (*Aloe vera*)**

*Priscila Palácio de Queiroz Farias, Leonardo Alves Rodrigues Cabral, Levi de Oliveira Frota, Ana Gláudia Vasconcelos Catunda, José Maurício Maciel Cavalcante, José Ferreira Nunes*

**262**

---

**SUÍNOS**

---

**Eficiência de diferentes concentrações de cálcio na conservação do sêmen suíno**

*Thalles Gothardo Pereira Nunes, Iara Gonçalves Roberto, Lúcia Daniel Machado da Silva, Airton Alencar de Araújo, Darlete Lima Matos, Ricardo Tonioli*

**265**

---

**Taxa de não retorno ao estro de fêmeas suínas submetidas à inseminação artificial intracervical e intrauterina**

*Regivany do Socorro de Lima Chaves, Nathalia Clemente Barreto, Victor da Costa Mileo, Sebastião Tavares Rolim Filho, Haroldo Francisco Lobato Ribeiro, Keitiane Colares de Sousa*

**267**

---

## **Animais Silvestres**

## ALTERAÇÕES PATOLÓGICAS DO SISTEMA GENITAL DE CUTIAS (*Dasyprocta aguti* Linnaeus, 1758) FÊMEAS CRIADOS EM CATIVEIRO

[Pathological changes in the reproductive system of agouti (*Dasyprocta agouti* Linnaeus, 1758) females bred in captivity]

Rayr Cezar de Souza Gois<sup>1\*</sup>, Geysa Almeida Viana<sup>1</sup>, Roberio Gomes Olinda<sup>2</sup>, Ivoncisio Garcia Rego<sup>1</sup>, Jael Soares Batista<sup>1</sup>

<sup>1</sup> UFERSA. \*Autor para correspondência. E-mail: rayrcezar@hotmail.com.

<sup>2</sup> UFPB.

**ABSTRACT** - In order to contribute information about reproductive alterations involving wild animals was developed this work aims to explore the nature, location and frequency of macroscopic and histological pathological changes of organs that make up the reproductive system of female agouti (agouti *Dasyprocta* Linnaeus, 1758). Were evaluated by histopathological examination of the reproductive tract death naturally 38 and sent to the Laboratory of Veterinary Pathology agoutis, from February 2009 to July 2013. Pathological findings included four cases of endometritis (22%), three of pyometra (22%), two of retained placenta (22%), one fetal maceration (22%), one of obstructed labor (22%) and afuncionais ovaries.

**Keywords:** pathology of reproduction; pathological diagnosis; wild animal; *Dasyprocta aguti*.

**Palavras-Chave:** patologia da reprodução, diagnóstico patológico, animal selvagem; *Dasyprocta aguti*.

### INTRODUÇÃO

Os órgãos que compõem o sistema reprodutor feminino são susceptíveis a lesões provocadas por agentes de natureza infecciosa, traumática ou neoplásica, os quais resultam em distúrbios reprodutivos, com consequências variáveis na sua fisiologia. Podem ocorrer manifestações clínicas agudas ou até mesmo ausência de sinais clínicos, deste modo comprometendo a fertilidade ou culminando com a morte do animal (Nascimento e Santos, 2003).

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram incluídas no presente estudo 38 cutias (*Dasyprocta aguti* Linnaeus, 1758) adultas oriundas do Centro de Multiplicação de Animais Silvestres (CEMAS) da Universidade Federal Rural do Semiárido (UFERSA), Mossoró-RN. Os animais eram mantidos em recintos telados (2,5 x 2,5m), e separados em categorias de acordo com o sexo e faixa etária, para a realização do adequado manejo reprodutivo e sanitário. A alimentação fornecida era constituída de milho em grão, frutas, vegetais verdes, ração comercial para coelho, suplementada com complexo vitamínico e mineral na forma farelada e água *ad libitum*.

As cutias utilizadas tiveram morte natural e foram encaminhadas ao Laboratório de Patologia Veterinária, no período compreendido entre fevereiro de 2009 a julho de 2013.

Fragmentos de ovários, tuba uterina, útero, cérvix, vagina e placenta foram coletados e fixados em formol 10% (Prophet et al., 1992).

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

As doenças do sistema reprodutor são frequentes na medicina veterinária, tanto nas fêmeas quanto nos machos das diferentes espécies domésticas. Sabe-se que o diagnóstico de enfermidades reprodutivas em animais silvestres é, muitas vezes, uma tarefa difícil. Assim, o exame anatomopatológico é especialmente útil, uma vez que, em muitas ocasiões, manifestações clínicas de enfermidades nestas espécies não são características como em animais domésticos. Nesses casos, a necropsia tem fundamental importância para chegar ao diagnóstico correto. A utilização cada vez mais frequente do exame necroscópico vem demonstrando que doenças antes consideradas raras ocorrem com relativa frequência em animais silvestres criados em cativeiro ou em vida livre (Batista et al., 2010).

Neste estudo foram descritos os aspectos anatomopatológicos em seis casos de distintas doenças da esfera reprodutiva ainda não descritas em cutias fêmeas que afetaram a fertilidade ou resultaram na morte do animal. No presente estudo,

entre as alterações patológicas do sistema genital de cutias que mais se destacaram foram localizadas no útero, sendo a endometrite observada em maior frequência.

Tabela 1. Número de casos e percentagem das alterações patológicas encontradas no sistema genital de 38 cutias (*Dasyprocta aguti*), criadas em cativeiro no município de Mossoró, Rio Grande do Norte, no período de fevereiro de 2004 a julho de 2013.

Alterações patológicas	Nº Casos	Percentagem sobre o número total de alterações
Endometrite	04	33,3
Piometra	03	25,0
Retenção de placenta	02	16,7
Maceração fetal	01	8,3
Parto distócito	01	8,3
Ovários afuncionais	01	8,3
Total	12	100

### CONCLUSÃO

As principais alterações patológicas observadas neste trabalho foram Endometrite, Piometra, Retenção de placenta, Maceração fetal, Parto distócito e ovários afuncionais, sendo as endometrites, as alterações mais frequentes encontradas nas cutias do presente trabalho.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Batista, J. S.; Olinda, R. G.; Silva, T. M. F.; Rodrigues, C. M. F.; Oliveira, A. F.; Queiroz, S. A. C.; Morais, S. R. L.; Oliveira, M. F. Enfermidades de cutias (*Dasyprocta aguti*) criadas em

cativeiro diagnosticadas pelo exame anatomopatológico. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 30(6):497-502, junho 2010.

Nascimento, E. F.; Santos, R. L. *Patologia da reprodução dos animais domésticos*. 2.ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, p.48-69, 2003.

Olinda, R. G., Feijó, F. M. C., Alves, N. D., Amorim, R. N. L., Alves, H. M., Alves, H. M., Batista, J. S., Oliveira, M. F., 2010. Otite bacteriana em cateto (*Tayassu tajacu* Linnaeus, 1758) criado em cativeiro. *Acta Veterinária Brasileira*. 4, 113-117.

Prophet E. B., Mills B., Arrington J. B.; Sobin L. H. 1992. *Laboratory Methods in Histotechnology*. Armed Forces Institute of Pathology, Washington, DC. 279p.



## ANÁLISE ULTRAESTRUTURAL DE ESPERMATOZOIDES CRIOPRESERVADOS DE TATUS-PEBA (*Euphractus sexcinctus* Linnaeus, 1758)

[Ultrastructural analysis of cryopreserved sperm of six banded armadillo (*Euphractus sexcinctus* Linnaeus, 1758)]

Patrícia da Cunha Sousa<sup>1\*</sup>, Erika Aparecida Araújo dos Santos<sup>1</sup>, José Artur Brilhante Bezerra<sup>1</sup>, Andreia Maria da Silva<sup>1</sup>, Gabriela Liberalino Lima<sup>1</sup>, Alexandre Rodrigues Silva<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratório de Conservação de Germoplasma Animal, Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA, Mossoró, RN, Brasil. \*Autor para correspondência. E-mail: pattbio13@hotmail.com

**ABSTRACT** - Semen samples (n = 12) from 04 adult animals were collected by electroejaculation and then cryopreserved in Tris-based diluent. The images obtained by transmission electron microscopy demonstrated, in cryopreserved sperm, damage in mitochondrial membranes, as well nuclear changes characterized by biochemical disorders and alterations in chromatin, respectively.

**Keywords:** armadillo; cryopreservation; sperm; ultrastructure.

**Palavras-Chave:** tatu-peba; criopreservação; espermatozoides; ultraestrutura.

### INTRODUÇÃO

O tatu-peba (*Euphractus sexcinctus*), pertencente à ordem Xenarthra, e é uma espécie de população estável não ameaçada (IUCN, 2014), podendo ser utilizado como modelo experimental para desenvolvimento de biotécnicas reprodutivas em outras espécies do mesmo grupo que estejam em risco de extinção. Sobre essas biotécnicas, a criopreservação seminal é de grande relevância em muitos programas de conservação de animais silvestres, proporcionando reserva genética em longo prazo nos bancos de germoplasma animal. Entretanto, esta pode causar sérios danos aos espermatozoides através das bruscas mudanças de temperatura, ocorrência de choques osmóticos, toxicidade dos crioprotetores e formação de cristais de gelo nos ambientes intra e extracelulares (Medeiros et al., 2002). Em consideração, objetivou-se determinar as principais crioinjúrias nos espermatozoides de tatu-peba (*E. sexcinctus*) através da análise por microscopia eletrônica de transmissão.

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 04 tatu-peba adultos, pesando  $3,25 \pm 0,2$  Kg. Cada animal foi submetido a 04 procedimentos de electroejaculação com intervalos entre coletas de 15 a 21 dias (Serafim et al., 2010).

As amostras de sêmen foram colhidas em minitubos, imediatamente avaliadas quanto aos parâmetros seminais (CBRA, 2010), e posteriormente diluídas em Tris-gema (20%) e glicerol (3%) (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA), procedendo-se a criopreservação por curva rápida de congelação (Silva et al., 2012). Após uma semana, as amostras foram descongeladas em banho-maria (37 °C/ 1 min), e os parâmetros seminais avaliados por microscopia de luz. Para a análise ultraestrutural (Transmission Electron Microscope, Morgagni 268 D, FEI Company) foram utilizados dois *pools* de sêmen: um composto por amostras *in natura* (controle) e outro por amostras descongeladas, conforme previamente descrito por Sousa et al. (2013) para a mesma espécie. Os resultados do trabalho foram representados de maneira descritiva.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

De um modo geral, as células espermáticas criopreservadas de tatu-peba mantiveram sua ultraestrutura íntegra. Entretanto, obteve-se uma média de  $46,9 \pm 3,8$  % correspondente a espermatozoides danificados, a partir dos quais, por eletromicrografias de transmissão, puderam ser visualizados danos nucleares e mitocondriais, principalmente. As alterações na cromatina foram identificadas como pontos eletrolucentes na região

periacrossomal, mas que podem se expandir através do núcleo e resultar em infertilidade (Johnston et al., 2012). Em tatus-peba, a criopreservação também afetou negativamente a bainha mitocondrial dos espermatozoides e, por ultraestrutura, essas lesões foram caracterizadas por evidente heterogeneidade da matriz mitocondrial ao longo de toda peça intermediária e presença de membranas mitocondriais mal delimitadas. Tais danos são responsáveis por desordens bioquímicas pela perda de conteúdo vital, causando transtornos celulares severos aos espermatozoides devido à liberação dos fatores pró-apoptóticos (Ravagnan et al., 2002).

### CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este é o primeiro relato sobre avaliação ultraestrutural relacionada ao sêmen criopreservado em xenartras. Os resultados aqui obtidos são pertinentes para o aprimoramento de protocolos de criopreservação de sêmen de tatus-peba, os quais poderão ser posteriormente, expandidos para outras espécies de tatus que se encontram ameaçadas de extinção.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

IUCN. *Lista Vermelha de Espécies Ameaçadas da IUCN*, Versão Online. Acesso em 5 janeiro 2014. Disponível em: <http://www.iucnredlist.org/search/details.php/8306/all>.

Medeiros, C.M.O.; Forell, F.; Oliveira, A.T.D.; Rodrigues, J.L. Current status of sperm cryopreservation: why isn't it better? *Theriogenology*, v. 57, p. 327-344, 2002.

Ravagnan, L.; Roumier, T.; Kroemer, G. Mitochondria, the killer organelles and their weapons. *Journal of Cellular Physiology*, v.192, p.131-137, 2002.

Serafim, M.K.B.; Lira, R.A.; Costa, L.L.M.; Gadelha, I.C.N.; Freitas, C.I.A.; Silva, A.R. Description of semen characteristics from six-banded armadillos (*Euphractus sexcinctus*) collected by electroejaculation. *Animal Reproduction Science*, v.118, p. 362-365, 2010.

Silva, M.A.; Peixoto, G.C.X.; Lima, G.L.; Bezerra, J.A.B.; Campos, L.B.; Paiva, A.L.C.; Paula, V.V.; Silva, A.R. Cryopreservation of collared peccaries (*Tayassu tajacu*) semen using a powdered coconut water (ACP-116c) based extender plus various concentrations of egg yolk and glycerol. *Theriogenology*, v.78, n.3, p.605-611, 2012.

Sousa, P.C., Santos, E.A.A., Bezerra, J.A.B., Lima, G.L., Castelo, T.S., Fontenele-neto, J.D., Silva, A.R. Morphology, morphometry and ultrastructure of captive six-banded armadillo (*Euphractus sexcinctus*) sperm. *Animal Reproduction Science*, v. 140, n.3-4, p. 279-285, 2013.

Johnston, S.D.; Satake, N.; Zee, Y.; López-Fernández, C.; Holt, W.V.; Gosálvez, J. Osmotic stress and cryoinjury of koala sperm: an integrative study of the plasma membrane, chromatin stability and mitochondrial function. *Reproduction*, v. 143, n.6, p.787-97, 2012.

## ASPECTOS REPRODUTIVOS EM FÊMEAS DE TATU-PEBA (*Euphractus sexcinctus*) MANTIDAS EM CATIVEIRO

[Behavior and frequency of reproductive cycles in female tatu-peba (*Euphractus sexcinctus*) kept in captivity]

Talita Otaviano da Costa<sup>1\*</sup>, Werona de Oliveira Barbosa Fernandes<sup>2</sup>, Carol Louize Carlos Costa<sup>1</sup>, Rebeca Medeiros Maia<sup>1</sup>, Alessandra Raisa da Silva Viana<sup>1</sup>, Carlos Iberê Alves Freitas<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Graduanda em Medicina Veterinária pela Universidade Federal Rural do Semiárido – UFERSA. \*Autor para correspondência: E-mail: talitaotaviano@hotmail.com.

<sup>2</sup> Mestrando no Programa de Ciência Animal pela Universidade Federal Rural do Semiárido – UFERSA.

<sup>3</sup> Professor do Dept. Ciências Animais da Universidade Federal Rural do Semiárido – UFERSA.

**Abstract** - The *Euphractus sexcinctus* (six-banded armadillo) is a mammal of solitary habits, however, females during the reproductive season, exhibit sexual receptivity and some typical features of the estrous period. The present study observed several aspects, such as the presence of vaginal bleeding, vaginal discharge, vulva, clitoris and swollen nipples.

**Keywords:** *Euphractus sexcinctus*; reproductive featurings; sexual receptivity.

**Palavras-Chave:** *Euphractus sexcinctus*; características reprodutivas; receptividade sexual.

### INTRODUÇÃO

*Euphractus sexcinctus* (Linnaeus, 1758), conhecido popularmente como tatu peba, pertencem à família Dasypodidae, ordem Cingulata e superordem Xenarthra (Gardner, 2005). A biologia reprodutiva dos xenartos ainda apresenta muitas incógnitas, principalmente no que se refere ao comportamento reprodutivo e a fisiologia endócrina do ciclo estral até a gestação (Miranda, 2006). Os tatus apresentam um ciclo estral, o qual se caracteriza pela presença de períodos regulares, porém limitados, de receptividade sexual denominado estro que ocorrem em intervalos característicos para cada espécie (Swenson & Reece, 1993). Estas espécies produzem feromônios utilizados para advertir a presença e, possivelmente, a condição sexual de cada indivíduo. O objetivo deste trabalho foi avaliar a frequência dos ciclos reprodutivos das fêmeas do tatu-peba (*Euphractus sexcinctus*).

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisados 4 tatus fêmeas *Euphractus sexcinctus* as quais eram mantidas em cativeiro (recintos individuais) no Laboratório de Estudos em Imunologia e Animais Silvestres – LEIAS/UFERSA. As mesmas foram observadas no período de maio de 2012 a janeiro de 2014.

Foram analisadas alterações características do período estral (presença de sangramentos vaginais, secreção vaginal, vulva, clitóris e/ou mamilos edemaciados (Figura 1)), bem como a frequência com que estas foram observadas em cada animal no período de observação.

### RESULTADOS E DISCUSSÕES

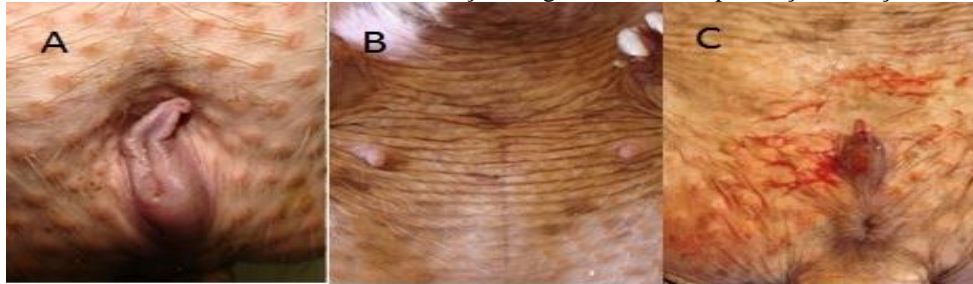
Mesmo com idades diferentes, estas alterações foram observadas em períodos semelhantes, sugerindo a sincronização dos mesmos, a exceção da fêmea mais jovem que no início do experimento alcançava sua maturidade sexual e apresentou 66,7% a mais de cios.

O edema vulvar teve sua maior ocorrência no período anterior e/ou durante a liberação de secreção incolor e se mantinha durante o período que ocorriam os sangramentos. Este fato foi observado em três fêmeas avaliadas (Tatu 1, 2 e 3). A vulva se encontrava em hiperemia clitoriana com variações entre vermelho e roxo, além de ereção clitoriana pronunciada (Figura 1, C) presente em todas as fêmeas no estudo. Oliveira (2003) afirma que em cadelas também ocorre o edemaciamento da vulva além de hipertrofia desta e descarga vaginal hemorrágica no período de proestro. Segundo Guimarães (2011), em fêmeas de cateto *Pecari tajacu*, pode-se observar hiperemia e edema vulvar em período próximo ao estro, havendo presença de

secreção vaginal em pequena quantidade no período de estro. Guimarães (2008), também afirma que em fêmeas *Agouti paca* a secreção vaginal se apresenta de forma mais abundante e de aspecto

fluido no período do estro desses animais e suas vulvas se apresentam edemaciadas e com mucosa hiperêmica.

Figura 1. Características observadas nas fêmeas durante período reprodutivo. A: secreção vaginal cristalina e vulva edemaciada; B: mamilos edemaciados; C: secreção sanguinolenta com presença de ereção clitoriana.



### CONCLUSÃO

Pode-se concluir que o cio é representado por sinais característicos do estro, sendo este bem evidenciado por características físicas e comportamentais, no caso dos machos.

### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Gardner, A. L. 2005. *Order Cingulata*. In: *Mammal species of the world: A Taxonomic and Geographic Reference*. 3ªed. Wilson, D. E. & Reeder, D.M. (eds.), p.94-97. The Johns Hopkins University Press, Baltimore.

Miranda, F. R.; Costa, A. M. *Xenarthra (tamanduá, tatu, preguiça)*. In: Cubas, Z. S.; Silva, J. C. R.; Catão Dias, J. L. *Tratado de animais selvagens*. Ed. Roca. São Paulo. pp. 402-414. 2006.

Swenson, M. J.; Reece, W. O. Dukes, *Fisiologia dos animais domésticos*. University Press. Editora Guanabara Koogan S. A. Rio de Janeiro – RJ. pp. 615-644. 1996.

## ASSOCIAÇÃO DA CITOLOGIA VAGINAL E DA DOSAGEM HORMONAL PARA A DETECÇÃO DE ESTRO EM TATUS-PEBA (*Euphractus sexsinctus*, Linnaeus 1758)

[Association of vaginal cytology and hormonal dosage for estrous detection in six-banded armadillos (*Euphractus sexsinctus* Linnaeus, 1758)]

Lívia Batista Campos\*, Gislayne Christianne Xavier Peixoto, Gabriela Liberalino Lima, Ana Liza Paz Souza, Carlos Iberê Alves Freitas, Alexandre Rodrigues Silva

Laboratório de Conservação e Germoplasma Animal. \*Autor para correspondência. E-mail: livia\_campos86@hotmail.com.

**ABSTRACT:** Aiming to improve the knowledge on reproductive physiology of six-banded armadillos (*Euphractus sexsinctus*), we conduct the monitoring of the estrus of five females during 90 days. Every three days, any alteration on external genitalia was noted. Furthermore, we conduct blood collection for hormonal dosage and vaginal smears. During estrus, comparisons among cell types were performed by ANOVA followed by Student t-test ( $P < 0.05$ ). A total of 13 estrogen peaks were detected, with an average value of 230.9 pg / mL (127.3 - 322.5 pg / mL). Three days after the estrogen peak, the external genitalia presented hyperemic or swollen opened vulva, with mucus, characterizing the stage of the estrus. At this moment, the vaginal cytology presented 32.58% parabasal cells, 34.6% intermediate cells and 32.3% superficial cells, without significant differences ( $P > 0.05$ ). In conclusion, six-banded armadillo females usually present clinical estrous signs at 3 days after estrogen peak, but alterations in vaginal cytology are not evident.

**Keywords:** *Euphractus sexsinctus*; vaginal cytology; hormonal dosage.

**Palavras-Chave:** *Euphractus sexsinctus*; citologia vaginal; dosagem hormonal.

### INTRODUÇÃO

O tatu-peba (*Euphractus sexsinctus*) é uma espécie amplamente distribuída e resistente aos distúrbios antrópicos (Aguiar, 2004), sendo utilizado como modelo experimental em estudos biomédicos (Storrs et al, 1971). Apesar de sua importância, pouco ainda é conhecido acerca de seus padrões reprodutivos. Para a avaliação da fisiologia reprodutiva, diversas técnicas podem ser empregadas. Dentre estas, destaca-se o uso da citologia vaginal esfoliativa, que consiste em determinar as fases do ciclo estral a fim de prever o melhor momento para realização da cópula ou inseminação artificial (England & Concannon 2002). Em adição, o monitoramento das flutuações hormonais através do soro ou plasma sanguíneo favorecem a acurácia na detecção de eventos reprodutivos específicos, como a ovulação (Thimonier, 2000).

O presente estudo teve por objetivo associar as técnicas de citologia vaginal e dosagem hormonal com intuito de monitorar o estro em fêmeas de tatus-peba (*Euphractus sexsinctus*) criadas em cativeiro no semiárido nordestino.

### MATERIAL E MÉTODOS

Fêmeas de tatus-peba (n=5) adultas, provenientes do Centro de Multiplicação de Animais Silvestres (CEMAS) da UFERSA foram utilizadas. No decorrer de 90 dias estes animais foram contidos quimicamente (cetamina, 7 mg/kg e xilazina, 1 mg/kg/IM), a cada três dias para realização da coleta de sangue e do esfregaço vaginal. A citologia vaginal foi realizada com uso de um swab umedecido em solução fisiológica, introduzido na comissura vulvar, repassado em lâmina de vidro e corado com panótico rápido (Instant-Pv®, Newprov, Pinhais, PR, Brasil) (Thrall & Olson, 1999) Concomitantemente, ocorreu a coleta de sangue para dosagem de estrógeno, através de punção da veia safena, em tubos sem anticoagulante. Obtendo-se soro por centrifugação (2000xg/15 min), este foi armazenado à temperatura de -18°C, até realização da dosagem hormonal determinada pela técnica de ELISA, utilizando-se kit comercial (Estrógeno e Progesterona Elisa kit DBC, Diagnostic Bio Biochem Canadá). Os resultados foram expressos na forma de média e desvio padrão. Comparações entre os tipos celulares encontrados pela citologia vaginal na fase de estro foram realizadas por meio

de análise de variância seguida do teste t de Student ( $P < 0,05$ ).

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante o experimento não foi possível obter o sangue em todos os animais e/ou em todas as coletas, devido à dificuldade de se realizar a venopunção. Em todo caso, foram observados 13 picos de estrógenos, tendo em média 230,9 pg/mL, variando de 127,3 pg/mL a 322,5 pg/mL. Três dias após o pico de estrógeno, foram verificadas diferentes modificações anatômicas na genitália externa dos animais, tais como sangramento vulvar ou vulva edemaciada e aberta, com presença de muco e facilidade na introdução do *swab* na comissura vulvar. Esse período caracteriza-se como a fase do estro. Nesta ocasião, o exame citológico vaginal demonstrou a presença de 32,58% de células parabasais, 34,6% de células intermediárias e 32,3% de células superficiais, não sendo verificadas diferenças significativas entre tais células ( $P > 0,05$ ). Estes resultados encontrados em tatus diferiram daqueles descritos para os tamanduás (*Tamandua tetradactyla*), nos quais os autores encontraram uma predominância significativa de células superficiais (40,3 %) durante a fase de estro (Soboll, 2008).

### CONCLUSÃO

Em conclusão, verificou-se que o pique estrogênico antecede em torno de três dias a manifestação clínica de estro em tatus peba. Porém, as modificações no epitélio vaginais são discretas e não são fidedignas para o diagnóstico do estro na espécie.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- England, G. & Concannon, P.W. Determination of the optimal breeding time in the bitch: Basic considerations. In: Concannon P.W., England G., Verstegen J. & Linde-Forsberg C. (Eds), *Recent Advances in Small Animal Reproduction*. 2002.
- Soboll, D.S. *Avaliação do ciclo reprodutivo em três fêmeas adultas de tamanduá-mirim (Tamandua tetradactyla) por meio da citologia vaginal*. Monografia do Curso de Especialização *lato sensu* em Clínica Médica e Cirúrgica de Animais Selvagens e Exóticos, Universidade Castelo Branco (UCB), São Paulo. 33p. 2008.
- Storrs, E. E. The nine-banded armadillo: a model for leprosy and other biomedical research. *International Journal of Leprosy* 39:703-714. 1971.
- Thimonier, J. Détermination de l'état physiologique des femelles par analyse des niveaux de progestérone. *Inra Production Animal*, v. 310 13, n.3, p.177-183. 2000.
- Thrall, M. A.; Olson, P. N. The vagina. In: *Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat*. St Louis, MO: Ed. Mosby Inc., p. 240-248. 1999

## AVALIAÇÃO DA QUALIDADE SEMINAL EM GUAXINIM (*Procyon cancrivorus*) – RELATO DE CASO

[Seminal quality assessment in raccoon (*Procyon cancrivorus*) – case report]

Lorena Araújo Martins Aguiar Rocha<sup>1\*</sup>, Herlon Victor Rodrigues Silva<sup>1</sup>, Antônio Cavalcante Mota Filho<sup>1</sup>, Annice Aquino-Cortez<sup>1</sup>, José Nicodemos Pinto<sup>1</sup>, Lúcia Daniel Machado da Silva<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratório de Reprodução de Carnívoros, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Faculdade de Veterinária, Universidade Estadual do Ceará. \*Autor para correspondência. E-mail: lorena\_rocha\_xd@hotmail.com.

**ABSTRACT** – The raccoon (*Procyon cancrivorus*) is a wild carnivore belonging to the Family Proscionidae with great ecological importance due to its role as a seed disperser. Its population decline, justified by the constant human intervention in its habitat, has led to a need for more studies about its reproductive physiology. Therefore, this study aimed to report the semen collection and analysis in a raccoon and thus estimate its reproductive quality. Thereunto, it was performed an electroejaculation procedure and the resulting semen was evaluated by color, motility, vigor, spermatic concentration and morphology. It was observed a motility of 20%, vigor 2, a concentration of  $40 \times 10^6$  spermatozoa/mL and 22 % of spermatic cells with morphological changes. The results founded may indicate a poor semen quality, even that more conclusive studies with the use of a larger number of animals are needed.

**Keywords:** semen; seminal analysis; male; raccoon; reproduction.

**Palavras-Chave:** sêmen; análise seminal; macho; guaxinim; reprodução.

### INTRODUÇÃO

O *Procyon cancrivorus*, conhecido como guaxinim ou mão-pelada, é um mamífero silvestre pertencente à Ordem Carnívora e à Família Procyonidae com ampla distribuição geográfica (Reid & Helgen, 2008). Devido à sua dieta onívora, são animais com grande importância ecológica, por serem dispersores efetivos de sementes de diversas plantas (Martinelli & Volpi, 2010).

Reid & Helgen (2008) classificaram a espécie quanto ao seu risco de extinção como ‘Pouco Preocupante’, ainda que tenham observado um declínio populacional, justificado puramente pela ação antrópica. Assim, diante de uma crescente necessidade de conservação da espécie, estudos mais aprofundados sobre a sua fisiologia reprodutiva devem ser desenvolvidos. O presente trabalho teve como objetivo relatar a coleta e avaliação seminal em um guaxinim.

### MATERIAL E MÉTODOS

Foi utilizado um guaxinim (*P. cancrivorus*) macho com aproximadamente 6 anos e 6 kg, proveniente do Zoológico São Francisco, em Canindé-CE (4°

21’ 32” de latitude Sul e 39° 18’ 42” de longitude Oeste).

Sua contenção física foi realizada com o auxílio de um puçá e posteriormente, foi administrada a dose de 1 mg/kg e 10 mg/kg de peso corporal de cloridrato de xilazina e cetamina, respectivamente. Quando necessário, um quarto da dose de cetamina foi administrada para manutenção da analgesia.

Para a eletroejaculação, o animal foi posicionado em decúbito lateral e sua região púbica foi submetida à assepsia. O aparelho utilizado foi um eletroejaculador (Eletrojet®) acoplado a uma fonte de 12 V. Foram efetuados três ciclos estimulatórios, com um intervalo de 5 minutos entre cada. O primeiro consistiu em 10 estímulos de 2, 3 e 4 V em sucessão, o segundo em 10 estímulos de 3, 4 e 5 V, também em sucessão, e o terceiro em 10 estímulos de 5 e 6 V.

O sêmen resultante foi imediatamente avaliado quanto à sua cor, motilidade (0 a 100%) e vigor (classificado de 0 a 5), por microscopia de luz em aumento de 100 x. A concentração espermática foi mensurada por meio de contagem na câmara de Neubauer e a morfologia espermática foi analisada através da coloração do sêmen com o corante rosa

de bengala, observação à microscopia de luz em um aumento de 1000x e contagem e classificação de 100 células espermáticas quanto a seus defeitos estruturais.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com a eletroejaculação, foram obtidas apenas algumas gotas de sêmen durante a última série, quantidade semelhante à encontrada na execução dessa técnica em outros membros da família Procyonidae, como o quati (*Nasua nasua*) (Barros et al., 2009) e pequena se comparada à obtida em outros carnívoros silvestres, como a jaguatirica (*Leopardus pardalis*) (Ávila et al., 2012). O sêmen apresentou coloração translúcida e aspecto aquoso, e observou-se apenas 20% de motilidade espermática, vigor 2 e concentração de  $40 \times 10^6$  espermatozoides/mL. A avaliação morfológica das células espermáticas revelou 78% de células morfológicamente normais, 2% de cabeças piriformes, 1% de microcefalia, 4% de peça intermediária dobrada, 10% de cauda enrolada, 3% de cauda dobrada e 2% de cauda fortemente enrolada.

Os resultados encontrados no presente estudo sugerem que o animal utilizado possui uma qualidade seminal menor do que a de outros procyonídeos, como quati (*N. nasua*), a qual foi estudada por Barros et al. (2009) e apresentava maiores valores de motilidade, vigor e concentração do que as do presente estudo, estando ambas

submetidas a metodologias semelhantes. Entretanto, a inexistência de outros trabalhos acerca de análise de sêmen nessa espécie dificulta maiores interpretações.

### CONCLUSÃO

A coleta de sêmen em guaxinim por eletroejaculação resultou na obtenção de sêmen de baixa qualidade. Entretanto, para mais informações sobre a qualidade espermática da espécie, são necessários estudos com uma maior disponibilidade de animais.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ávila, E. C.; PAULA, T. A. R.; Deco-Souza, T.; Trindade, T. F. S. L.; Mascarenhas, R. M.; Araújo, G. R.; Polli, G. O.; Semark, A. C. Protocolos de coleta de sêmen por eletroejaculação em jaguatiricas (*Leopardus pardalis*). *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, v.36, n.4, p.260-263, 2012.
- Barros, F. F. P. C.; Queiroz, J. P. A. F.; Filho, A. C. M.; Santos, E. A. A.; Paula, V. V.; Freitas, C. I. A.; Silva, A. R. Use of two anesthetic combinations for semen collection by electroejaculation from captive coatis (*Nasua nasua*). *Theriogenology*, v.71, p.1261-1266, 2009.
- Martinelli, M. M.; Volpi, T. A. Diet of racoon *Procyon cancrivorus* (Carnivora, Procyonidae) in a mangrove and restinga area in Espírito Santo state, Brazil. *Natureza on line*, v.8, n.3, p.150-151, 2010.
- Reid, F.; Helgen, K. 2008. *Procyon cancrivorus*. In: IUCN red list of threatened species. Versão 2013.2. Disponível em: <[www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org)>. Acesso em 03 de março de 2014.



## AVALIAÇÃO SEMINAL DE ONÇA-PARDA (*Puma concolor*)

[Seminal evaluation of puma (*Puma concolor*)]

Herlon Victor Rodrigues Silva<sup>1\*</sup>, Antônio Cavalcante Mota Filho<sup>1</sup>, Luana Azevedo de Freitas<sup>1</sup>, José Nicodemos Pinto<sup>1</sup>, Luma Morena Passos Freire<sup>1</sup>, Lúcia Daniel Machado da Silva<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratório de Reprodução de Carnívoros, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Faculdade de Veterinária, Universidade Estadual do Ceará. \*Autor para correspondência. E-mail: herlonvrs@hotmail.com.

**ABSTRACT-** The cougar (*Puma concolor*) is a wild cat that is endangered, so knowledge about the seminal characteristics is important for the development of species conservation programs. It was aimed to evaluate semen from a cougar. Two semen collections were performed on a *Puma concolor* by electroejaculation and it was evaluated the seminal parameters: volume, color, pH, total motility, vigor, membrane functionality and sperm morphology. In general, it was observed that the cougar presents a poor semen quality. It was concluded that semen collection in puma by electroejaculation was a success and the results obtained in this study may contribute to future research.

**Keywords:** cougar; seminal evaluation; wild animals.

**Palavras-Chave:** onça-parda; avaliação seminal; animais selvagens.

### INTRODUÇÃO

O estudo da reprodução é de suma importância para salvar uma espécie e auxiliar nas técnicas da reprodução animal, facilitando o intercâmbio de material genético entre indivíduos mantidos em zoológicos e entre populações cativas e de vida livre, possibilitando o início de programas de conservação para felinos ameaçados (Wildt et al., 1992). Logo o conhecimento das características reprodutivas de uma espécie é de importante valia para a aplicação de técnicas reprodutivas que buscam sua preservação (Silva et al., 2004).

A onça-parda ou suçuarana (*Puma concolor*) é um felino de hábito solitário que abrange biomas variados distribuindo-se geograficamente desde o oeste do Canadá até o extremo sul do continente sul-americano com exceção dos Andes. No Brasil, ocorre em todas as regiões, exceto no sul do Rio Grande do Sul (Oliveira & Cassaro, 1999). É o segundo maior felino neotropical perdendo apenas para a onça pintada (*Panthera onca*). Sua população encontra-se em declínio devido à ação de caçadores, desmatamento e caça intensiva de suas presas (Emmons, 1990). Portanto, são necessários estudos sobre as características reprodutivas nessa espécie que possam contribuir para melhor conhecimento para a manutenção genética, bem como fornecer dados relevantes que possam ser utilizados em programas de reprodução. Assim,

objetivou-se avaliar amostras de sêmen de um macho da espécie *Puma concolor*.

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizadas 2 coletas de sêmen com intervalo de 1 mês em um macho adulto de onça-parda (*Puma concolor*) cativo, pesando aproximadamente 40 kg e de 10 anos de idade, alojado no Instituto de Conservação ABA-IBY – EcoPoint, em Fortaleza (3°43'S, 38°30'W), Ceará. O animal era alojado em jaula individual e alimentado com carne fresca e água à vontade. Após jejum alimentar prévio de 12 horas, o animal foi contido quimicamente com o auxílio de dardo anestésico com uma associação de Tiletamina e Zolazepam (1,5 mg/Kg)- Zoletil®. A coleta de sêmen foi realizada pelo método da eletroejaculação, utilizando-se um eletroejaculador portátil (Neoovet®-Brasil) acoplado a uma sonda trans-retal, empregando-se a metodologia descrita por Wildt et al. (1983). Após a coleta, as amostras de sêmen foram avaliadas quanto ao volume, coloração, motilidade e vigor por microscopia de luz (100 e 400x). Para morfologia, uma da amostra foi corada com Rosa de Bengala e avaliada em microscopia óptica de contraste de fase (1000x) e outra alíquota de sêmen foi adicionada a uma solução hiposmótica para análise da funcionalidade da membrana espermática. A concentração foi avaliada em uma câmara de Neubauer em microscópio óptico (400x). Os resultados foram expressos sob a forma de média e desvio padrão.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O primeiro ejaculado apresentou uma coloração avermelhada, enquanto o segundo apresentou uma coloração branca opalescente. Os dois ejaculados apresentaram volume de  $1,13 \pm 1,24$  mL, pH de  $7,75 \pm 1,77$ , motilidade total de  $90 \pm 0$ , vigor de  $4 \pm 0$ , concentração de  $37,5 \times 10^6 \pm 17,68 \times 10^6$  espermatozoides/mL e  $81,5 \pm 10,61$  espermatozoides com membrana funcional. Os ejaculados apresentaram  $69,5 \pm 3,54$  % de células normais,  $4 \pm 0$  % de defeitos de cabeça,  $10 \pm 4,24$  % de defeitos de peça intermediária e  $16,5 \pm 0,71$  % de defeitos de cauda. Os valores aqui encontrados são similares aos descritos por Silva et al. (2011), para onça-pintada, mas superiores aos descritos por Wildt et al. (1987), em guepardos provavelmente por nessa espécie existir maior consanguinidade devido à sua reduzida população, levando à queda na qualidade espermática.

## CONCLUSÃO

A coleta de sêmen em onça-parda por meio da eletroejaculação foi um sucesso e os resultados obtidos nesse estudo poderão contribuir para futuras pesquisas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Emmons, L.H. *Neotropical rainforest mammals: A field guide*. The Univ. Chicago Press, Chicago. p.291, 1990.
- Oliveira, T.G. e Cassaro, K. *Guia de identificação dos felinos brasileiros*, 2ª ed. In: Sociedade de Zoológicos do Brasil. São Paulo, 1999.
- Silva, A.R., Morato, R.G., Silva, L.D.M., The potential for gamete recovery from non-domestic canids and felids. *Animal Reproduction Science*, v.81, p.159-175, 2004.
- Silva, H.V.R.; Freire, L.M.P.; Pinto, J.N.; Pereira, B.S.; Mota Filho, A.C.; Silva, L.D.M.; Silva, A.R. Exame andrológico em onça pintada (*Panthera onca*) proveniente da região Amazônica. Relato de Caso. In: XIX Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, 2011, Recife-PE. *Anais do XIX CBRA*, 2011. v.35. p.52-52. 2011.
- Wildt, D.E.; Bush, M.; Howard, J.G. Unique seminal quality in the South African cheetah and a comparative evaluation in the domestic cat. *Biol. Reprod.*, v.29, n.4, p.1019-1025, 1983.
- Wildt, D.E.; O'Brien, S.; Howard, J.G.; Caro, T. M.; Roelke, M.E.; Brown, J.L.; BUSH, M. Similarity in Ejaculate-Endocrine Characteristics in Captive Versus Free-Ranging Cheetahs of Two Subspecies. *Biology of Reproduction*, v.36, p.351-360, 1987.
- Wildt, D.E.; Monfort, S.L.; Donoghue, A.M.; Johnston, L.A.; Howard, J.G. Embryogenesis in conservation biology - or how to make an endangered species embryo. *Theriogenology*, p.161-184, 1992.

## CARACTERÍSTICAS ESPERMÁTICAS DE CUTIA *Dasyprocta azarae* COLETADAS POR ELETROEJACULAÇÃO

[Sperm characteristics of agouti *Dasyprocta azarae* collected by electroejaculation]

Clara Yanina Meira da Costa\*, Luana G. P. Bezerra, Thiberio de Souza Castelo, Ana Liza Paz Souza, Gislayne Cristiane Xavier Peixoto, Alexandre Rodrigues Silva

Laboratório de Conservação e Germoplasma Animal, Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA, Mossoró, RN, Brasil. \*Autor para correspondência. E-mail: clara\_yanina@hotmail.com.br.

**ABSTRACT** - The aim of this study was to describe the semen characteristics of semen of agouti *Dasyprocta azarae* collected by electroejaculation. Ten adult males were subjected to mechanical restraint and further anesthetized with ketamine (35mg/kg) and xylazine (5mg/kg) association. For the semen obtaining, an electroejaculation device presenting longitudinal electrodes and emitting quadratic waves were used in association to serial stimuli. Ejaculates were immediately evaluated. From 10 animals, only 3 individuals provided ejaculates containing sperm. Ejaculates presented  $0.37 \pm 0.10$  mL for volume, containing  $338 \pm 112 \times 10^6$  sperm/ml, with  $96.6 \pm 2.88$  % motility and vigor  $4 \pm 1.7$ . For the structural and functional membrane integrity, the results obtained were  $85 \pm 6.5$  % and  $80.6 \pm 5.5$  %, respectively. In conclusion, we provide the first data for sperm characteristics in agoutis *Dasyprocta azarae*.

**Keywords:** electroejaculation; sperm; *Dasyprocta aguti*.

**Palavras-Chave:** eletroejaculação; sêmen; *Dasyprocta aguti*.

### INTRODUÇÃO

As populações de mamíferos silvestres têm sido reduzidas pela destruição dos seus habitats naturais, principalmente a mata Atlântica e o cerrado. Na região nordeste, espécies silvestres como a cutia são predadas pela população local para serem utilizados como fonte alternativa de proteína animal devido a hábitos histórico-culturais. Diante disso, pesquisas com a fauna brasileira têm sido cada vez mais acentuadas em função da importância ecológica e do potencial para exploração zootécnica apresentado por diversas espécies (Menezes et al., 2003). Projetos voltados para a preservação destes animais requerem conhecimentos básicos da sua biologia reprodutiva (ASSIS-Neto, et al., 2003). Porém, embora sejam catalogadas 12 diferentes espécies de cutias, estudos referentes à coleta de sêmen neste grupo são limitados à espécie *Dasyprocta leporina*, oriunda da América Central (Mollineau et al., 2010). Visando preencher esta lacuna, objetivou-se descrever as características do sêmen de cutias da espécie *Dasyprocta azarae*, criadas em cativeiro no nordeste brasileiro, coletadas por eletroejaculação.

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 10 machos adultos de cutias da espécie *Dasyprocta azarae*, provenientes do Centro de Multiplicação de Animais Silvestres – CEMAS da UFERSA. Em cada procedimento, os animais foram inicialmente submetidos à contenção mecânica, seguida pela contenção química, utilizando-se uma associação entre cetamina (35mg/kg) e xilazina (5mg/kg), previamente descrita para cutias (Mollineau et al., 2010). Para a obtenção do sêmen, foi utilizado o aparelho de eletroejaculação que possuía eletrodos longitudinais e emitia ondas quadráticas (Eletrojet<sup>®</sup>, Eletrovet, SP, Brasil), seguindo o protocolo cujos estímulos se iniciavam com 10 repetições de 2, 3 e 4 V, seguidos de 10 repetições em 5, 6 e 7 V, e mais 10 repetições em 8, 9 e 10 V, totalizando 90 estímulos com intervalo de 5 min entre as séries. Os ejaculados foram avaliados conforme sugerido pelo Colégio Brasileiro de Reprodução Animal - CBRA (Henry & Neves, 1998). Os dados foram expressos de forma descritiva em média e erro padrão.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 10 animais utilizados no experimento, conseguiu-se obter sêmen com a presença de espermatozoides de apenas 3 indivíduos. Os ejaculados apresentaram aspecto aquoso e coloração branco-translúcida, apresentando as seguintes características: volume médio de  $0,37 \pm 0,1$  mL, contendo  $338 \pm 112 \times 10^6$  espermatozoides/mL, com  $96,6 \pm 2,88\%$  de motilidade e vigor  $4 \pm 1,7$ . Com relação a integridade estrutural e funcional de membrana, os resultados foram  $85 \pm 6,5\%$  e  $80,6 \pm 5,5\%$ , respectivamente. Salienta-se que os resultados são próximos aos obtidos por Mollineau et al. (2010), no qual foram obtidos 0,40 mL de volume,  $431 \times 10^6$  espermatozoides/mL e 47% de espermatozoides móveis, a partir de cutias da espécie *Dasyprocta leporina*, também coletadas por eletroejaculação. Em conclusão, este parece ser o primeiro estudo a descrever as características seminais de cutias da espécie *D. azarae*, as quais assemelham-se às já descritas para outra espécie do mesmo grupo.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Assis-neto, A. C.; Carvalho, M. A. M.; et al. Aspectos biométricos do desenvolvimento testicular e corporal em cutias (*Dasyprocta aguti*) criadas em cativeiros. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science* (2003) 40 (suplemento 2): 154-160.
- Henry, M., Neves, J.P. *Manual de Exame Andrológico dos Animais Domésticos*. Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 49p., 1998
- Menezes, D. J. A.; Carvalho, M. A. M. et al. Morfologia dos órgãos genitais externos do macho de cutia (*Dasyprocta aguti*. Linnaeus, 1766). *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science* (2003) 40 (suplemento 2): 148-153
- Mollineau w. M., Adogwa A. O. , Garcia, G. W. Liquid and frozen storage of agouti (*Dasyprocta leporina*) semen extended with UHT Milk, unpasteurized coconut water, and pasteurized coco-nut water. *Vet Med Int*, pii: 702635, 2010.

## COMPARAÇÃO DE DIFERENTES MÉTODOS DE COLORAÇÃO NA AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA DE ESPERMATOZOIDES EPIDIDIMÁRIOS DE PREÁ (*Galea spixii*)

[Comparison of different staining methods for the morphology evaluation of cavy (*Galea spixii*) epididymal sperm]

Andréia Maria da Silva<sup>1\*</sup>, José Artur Brilhante Bezerra<sup>1</sup>, Lívia Batista Campos<sup>1</sup>, Patrícia Cunha Souza<sup>1</sup>, Alexandre Rodrigues Silva<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratório de Conservação de Germoplasma Animal, Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA, Mossoró, RN, Brasil. \*Autor para correspondência. E-mail andreia.m.silva@hotmail.com

**ABSTRACT**-The aim of this study was to compare different staining methods for morphological evaluation of epididymal sperm of cavy. Nine animals were euthanized, and then the complex testis-epididymis were collected and transported to LCGA, where the recovery of sperm was performed. Sperm smears were prepared and stained with Eosin Nigrosine, Diff Quick, Bengal Rose or Bromophenol Blue for morphologic evaluation. Data were analyzed using SigmaStat 3.5 software (Systat Software Inc., San Jose, CA, USA) and submitted to the Student t test. The staining method using Rose Bengal provided better visualization of sperm structures, being the the most suitable dye for morphological evaluation of cavy epididymal sperm.

**Keywords:** morphology; sperm; cavy.

**Palavras-Chave:** morfologia; preá; espermatozoide.

### INTRODUÇÃO

O preá silvestre do semiárido (*Galea spixii* Wagler, 1831) é um roedor pertencente à família Caviidae, a respeito do qual são encontrados poucos estudos na literatura quanto a seus aspectos reprodutivos (Silva, 2013). Sabe-se que a avaliação espermática é uma importante ferramenta, principalmente no que se refere à análise morfológica e acrossomal, uma vez que oferece indícios sobre a capacidade fertilizante dessas células (Villaverde et al., 2008). Nesse contexto, o objetivo do presente trabalho foi comparar diferentes métodos de coloração utilizados para a avaliação morfológica de espermatozoides epididimários de preás.

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 9 animais provenientes do Centro de Multiplicação de Animais Silvestres (CEMAS) da UFERSA. Após eutanásia, os complexos testículos-epidídimos foram coletados, envoltos em gaze umedecida com solução fisiológica a 37 °C, e

transportados ao laboratório para processamento. Os epidídimos foram submetidos ao procedimento de obtenção de espermatozoides pela técnica de flutuação, que consiste no fatiamento da cauda epididimária, imersa em tampão TES por cinco minutos (Cary et al., 2004). As amostras contendo espermatozoides epididimários foram divididas em quatro alíquotas, sendo cada uma destinada à confecção de um esfregaço corado com Eosina Nigrosina, Panótico rápido, Rosa de Bengala ou Azul de Bromofenol. A partir destes foi realizada a análise morfológica dos espermatozoides sob microscopia de luz (x100), sendo contadas 200 células por lâmina. Foi estabelecida a proporção de espermatozoides morfológicamente normais ou portadores de alterações, que foram subdivididas de acordo com a região espermática afetada (cabeça, peça intermediária, cauda). Neste mesmo esfregaço, foi também determinada a integridade acrossomal das células espermáticas. Os resultados foram expressos em média e erro padrão, transformados em arco-seno e submetidos a análise de variância (ANOVA) seguida pelo teste t de Student.

Tabela 1. Análise morfológica (%; media  $\pm$  EP) de espermatozoides epididimários de preá utilizando quatro distintos corantes.

	Eosina-Nigrosina	Panótico Rápido	Rosa de Bengala	Azul de Bromofenol
Normal	52,9 $\pm$ 6,1 <sup>b</sup>	50,0 $\pm$ 6,0 <sup>b</sup>	55,5 $\pm$ 6,3 <sup>ab</sup>	70,1 $\pm$ 2,4 <sup>a</sup>
Defeito de cauda	38,3 $\pm$ 5,3 <sup>ab</sup>	42,6 $\pm$ 5,0 <sup>a</sup>	40,1 $\pm$ 5,3 <sup>a</sup>	22,7 $\pm$ 2,8 <sup>b</sup>
Defeito de peça intermediária	7,1 $\pm$ 2,1 <sup>a</sup>	6,5 $\pm$ 3,1 <sup>ab</sup>	3,1 $\pm$ 1,5 <sup>b</sup>	5,4 $\pm$ 2,0 <sup>ab</sup>
Defeito de cabeça	1,6 $\pm$ 0,5 <sup>a</sup>	0,7 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>	1,25 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup>	1,83 $\pm$ 0,7 <sup>a</sup>
Defeitos totais	47,2 $\pm$ 6,2 <sup>b</sup>	50,0 $\pm$ 5,9 <sup>b</sup>	44,5 $\pm$ 6,2 <sup>ab</sup>	30,0 $\pm$ 2,4 <sup>a</sup>
Acrossomas íntegros	52,7 $\pm$ 7,3 <sup>a</sup>	61,0 $\pm$ 8,1 <sup>a</sup>	63,7 $\pm$ 5,8 <sup>a</sup>	46,9 $\pm$ 9,0 <sup>a</sup>

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As médias para cada patologia espermática avaliadas nas quatro técnicas de coloração se encontram na Tabela 1. No uso do Azul de Bromofenol, foi observada a menor ( $p < 0,05$ ) porcentagem de patologias de cauda, enquanto que a Eosina Nigrosina promoveu a maior frequência de defeitos de peça intermediária ( $p < 0,05$ ). Já para os defeitos de cabeça, não foram observadas diferenças entre as quatro técnicas de coloração utilizadas. Independente do corante, as anormalidades espermáticas mais frequentes foram: cauda fortemente enrolada, gota citoplasmática, ausência do acrossoma, peça intermediária dobrada, e cabeça destacada.

Na visualização dos esfregaços, o Rosa de Bengala permitiu uma melhor identificação da cabeça, peça intermediária e cauda. Tanto a Eosina Nigrosina como o Panótico Rápido® não se impregnaram adequadamente nas células, e alguns espermatozoides apresentaram pouco contraste com o fundo da lâmina, de modo similar ao demonstrado por Souza et al. (2013) na avaliação de espermatozoides de catetos.

No tocante à avaliação acrossoma, não foram detectadas diferenças estatísticas entre os corantes, tendo sido verificada uma média de 50% de espermatozoides com acrossomas íntegros, embora deva-se ressaltar que o uso do Azul de Bromofenol apresentou uma impregnação na cabeça que dificultava a visualização desta vesícula.

## CONCLUSÕES

A partir dos resultados, conclui-se que o corante mais adequado para avaliação morfológica de espermatozoides de preá seria o Rosa de Bengala, haja vista permitir uma melhor visualização de todos os componentes celulares.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Cary, J.A.; Madill, S.; Farnsworth, K.; Hayna, J.T.; Duoos, L.; Fahning, M.L. A comparison of electroejaculation and

epididymal sperm collection techniques in stallion. *Canadian Veterinary Journal* 2004;45:35–41.

Villaverde, A.I.S.B.; Melo, C.M.; Corrente, J.E.; Papa, F.O.; Llopes, M.D. Comparação Entre Dois Métodos de Coloração Para Análise Morfológica e Acrossomal de Espermatozoides de Gato Doméstico (*Felis Catus*). *Ciência Animal Brasileira*, v. 9, n. 3, p. 686-692, 2008.

Silva, M. A. *Coleta e caracterização de espermatozoides epididimários de preás (Galea spixii wagler, 1831)*. 2013. 40p. Monografia (Graduação em Zootecnia) - Curso de graduação em Zootecnia, Universidade Federal Rural do Semi-Árido

Sousa, P. C.; Santos, E. A. A.; Souza, A.L.P.; Lima, G. L.; Barros, F. F. P. C.; Oliveira, M. F.; Silva, A. R. Sperm morphological and morphometric evaluation in captive collared peccaries (*Pecari tajacu*). *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 33, n. 7, p. 924-930, 2013.

## CONDUTAS DE DIFERENTES CATEGORIAS COMPORTAMENTAIS EM *Euphractus sexcinctus* (TATU-PEBA) EM CATIVEIRO ASSOCIADAS AO PERÍODO REPRODUTIVO

[Conducts different behavioral categories *Euphractus sexcinctus* (six-banded armadillo) associated with captive breeding period]

Werona de Oliveira Barbosa Fernandes<sup>1\*</sup>, Talita Otaviano da Costa<sup>2</sup>, Sabrina de Sousa Mendonça<sup>2</sup>, Simone Loiola Gomes<sup>2</sup>, Thiago Galvão Coelho<sup>1</sup>, Carlos Iberê Alves Freitas<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Mestrando no Programa de Ciência Animal pela Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA. \*Autor para correspondência. E-mail: werona.oliveira@gmail.com.

<sup>2</sup> Graduanda em Medicina Veterinária pela Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA.

<sup>3</sup> Professor do Dept. Ciências Animais da Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA.

**ABSTRACT** - *Euphractus sexcinctus* (six-banded armadillo) is a solitary mammal, however, while the breeding season of females, they exhibit distinct behavior. The present study observed the expression of non-reproductive behaviors, many such agonists and presented by males kept in captivity related to estrus females. These characteristics were biting, scratching, restlessness, damage to water and food container, reducing the consumption of food, lack of water intake, standing position.

**Keywords:** *Euphractus sexcinctus*; behavior; breeding season.

**Palavras-Chave:** *Euphractus sexcinctus*; comportamento; época reprodutiva.

### INTRODUÇÃO

*Euphractus sexcinctus* (Linnaeus, 1758), conhecido popularmente como tatu peba, pertencem à família Dasypodidae, ordem Cingulata e superordem Xenarthra (Gardner, 2005a). Esta espécie possui um odor característico o qual é liberado a partir de orifícios nas placas acima da base da cauda (Medri, 2008). Segundo McDonough & Loughry (2001), a vida social deste grupo provavelmente é dominada pelo sentido do olfato, sendo esse um sentido mais apurado do que a visão, para tanto, estas espécies produzem secreções odoríferas a partir de glândulas anais, utilizadas para marcar trajetos e território. Essas secreções são ferormônios utilizados para advertir a presença e, possivelmente, a condição sexual de cada indivíduo. O objetivo deste trabalho foi observar e identificar comportamentos de diferentes categorias que o tatu peba macho expressa na presença de fêmeas no período estral em cativeiro.

### MATERIAL E MÉTODOS

Foi observado o comportamento de cinco tatus-peba (*E. sexcinctus*) machos na mesma faixa etária e em idade reprodutiva, no período de maio de 2012 a janeiro de 2014 submetidos a mesma rotina

de manejo durante o período de execução do experimento, sendo alocados em recintos individuais. Os dados foram coletados diariamente no período diurno. O método de observação foi focal simples, não participante e não estruturada, ou seja, foi realizado de forma espontânea, sem qualquer procedimento ou intervenção por parte do observador, onde os animais puderam ser facilmente observados, ficando estes habituados a presença do observador.

### RESULTADOS E DISCUSSÕES

Durante o período reprodutivo das fêmeas da espécie *E. sexcinctus*, foi possível observar as seguintes alterações comportamentais agonistas nos machos de mesma espécie (Tabela 1).

Apesar da espécie *E. sexcinctus* apresentar hábitos solitários, durante o período reprodutivo das fêmeas, sabe-se que esses tendem a um agrupamento social (Medri, 2008) em estudos em vida livre, tais como o enfileiramento dos machos em perseguição a uma fêmea mantendo um espaçamento de aproximadamente 1,5 m entre si, sendo o período também marcado por demonstrações de exibição e pela entrada e saída dos machos de suas tocas. Foi observado em nosso

estudo que 4/5 animais apresentaram inquietação e agressividade direcionada para os recintos próximos de outros machos, porém separados e ainda, relativamente distantes das fêmeas. Tendo em vista que seu olfato é bastante apurado e apresenta rápida percepção dos feromônios produzidos pelas fêmeas e machos. As demais condutas de categoria agonista descritas no

experimento, ainda não foram observadas na literatura disponível realizados em indivíduos machos mantidos em cativeiro nem as demais nas categorias alimentar e alerta sendo relacionados como período estral. Sendo, portanto, necessários maiores estudos acerca de seu comportamento distinto em situações diferentes daquelas observadas em animais de vida livre.

Tabela 1. Características agonistas apresentadas pelos tatus machos.

Repertório comportamental	Descrição
Ausência de ingestão de água	Ao ser oferecida, os animais mostraram-se indiferentes a necessidade de ingerir, pois se encontravam focados no odor diferenciado no recinto.
Tentativa de mordedura	Apresentado ao tratador ao oferecer-lhes alimento e água. Quando tem contato com outro macho: mordedura da genitália, ânus, glúteos e cauda.
Inquietação	Caminham em círculos, dentro do recinto, de forma contínua e repetidas vezes.
Danos aos reservatórios de água e comida	Mantém os reservatórios presos a boca e os arremessam contra o recinto, repetidas vezes, ao longo do dia. Mordedura repetidas com destruição dos mesmos.
Arranhar	Arranha o recinto e por vezes o tratador, quando tem a oportunidade de contato com outro macho o agride principalmente nas costas .
Posição bípede	Posição ereta com a cabeça erguida e em alerta, por várias vezes.

## CONCLUSÃO

A partir dos resultados apresentados, pode-se observar que os machos da espécie *Euphractus sexcinctus* conseguem, facilmente, detectar o cio das fêmeas de mesma espécie, visto que mesmo em recintos separados, os machos apresentaram características comportamentais diversas induzidas pelo período reprodutivo, refletindo em mudanças de seu comportamento habitual.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Gardner, A. L. Order Cingulata. In: Wilson, D. E.; Reeder, D. M. (eds.), 2005. p. 94-97. *Mammal species of the world: A Taxonomic and Geographic Reference*. 3 ed. Baltimore: The Johns Hopkins University Press.
- McDonough, C. M.; Loughry, W. J. *Armadillos*. In: Macdonald, D. W. (eds.), 2001. p. 796-799. *Encyclopedia of Mammals*. 2 ed. Oxford University Press, London
- Medri, I. M. *Ecologia e história natural do tatu-peba, Euphractus sexcinctus (Linnaeus, 1758), no Pantanal de Nhecolândia*, Mato Grosso do Sul. 2008. 187p. Tese apresentada ao Programa de Pós- Graduação da Universidade de Brasília.



## EFEITO DA LIPOPROTEÍNA DE BAIXA DENSIDADE (LDL) NA CONGELAÇÃO DE SÊMEN DE CATETOS (*Pecari tajacu*)

[Effect of low density lipoprotein (LDL) on collared peccaries (*Pecari tajacu*) semen freezing]

Ana Liza Paz Souza<sup>1\*</sup>, Gabriela Liberalino Lima<sup>1</sup>, Gislayne Christianne Xavier Peixoto<sup>1</sup>, Thibério Sousa Castelo<sup>1</sup>, José Artur Brillhante Bezerra<sup>1</sup>, Alexandre Rodrigues Silva<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratório de Conservação e Germoplasma Animal – LCGA, Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA, Mossoró, RN, Brasil. \*Autor para correspondência. E-mail: aninhavet2@hotmail.com

**ABSTRACT** – This study aimed to evaluate the effect of low density lipoprotein – LDL on the freezing-thawing of collared peccary (*Pecari Tajacu*) semen. Ejaculates were collected from 11 adult males by electroejaculation. Samples were diluted in Tris plus glycerol 3%, supplemented to 20% egg yolk or LDL 20%, and finally cryopreserved. After thawing, we verify that LDL provided a better preservation of the sperm motility, vigor and membrane integrity than egg yolk ( $P < 0.05$ ). We recommend that LDL can be efficiently used as a substitute for whole egg yolk on collared peccary semen freezing.

**Keywords:** *Pecari tajacu*; cryopreservation; egg yolk; low density lipoprotein.

**Palavras-Chave:** *Pecari tajacu*; criopreservação; gema de ovo; lipoproteína de baixa densidade.

### INTRODUÇÃO

Os catetos (*Pecari tajacu*) estão entre as espécies mais caçadas, tanto devido aos hábitos alimentares das comunidades locais quanto pelo valor comercial de sua carne e pele no mercado internacional (Sowls 1997). Desta forma, a realização de trabalhos que busquem o aprimoramento de técnicas reprodutivas como a criopreservação de sêmen para futura formação de bancos de germoplasma seria de grande utilidade para a manutenção da espécie. Na busca de um protocolo ideal para a criopreservação de sêmen, pesquisadores tem utilizado a lipoproteína de baixa densidade (LDL) em substituição da gema de ovo que, embora constitua um dos crioprotetores mais importantes na rotina de criopreservação em animais silvestres, a sua utilização tem demonstrado alguns pontos negativos como o fato de ser produto biológico, verificando-se assim a variação de sua composição, e a presença de grânulos que interferem com avaliações microscópicas (Pillet et al., 2011). Assim, purificando o produto responsável pelo efeito benéfico da gema de ovo, a LDL, poderiam ser obtidos bons resultados e evitar os danos causados pela gema. Desta forma, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da adição da LDL purificada como um substituto para a gema de ovo, na congelação de sêmen de catetos.

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados onze catetos machos, criados no Centro de Multiplicação de Animais Silvestres (CEMAS) da UFERSA. Os animais foram contidos com um puçá, e em seguida, quimicamente (Propofol - 5mg/kg/IV- Souza et al., 2009). Após coleta de sêmen realizada por eletroejaculação, procedeu-se avaliação de volume, coloração, motilidade espermática (0-100%), vigor (0-5), concentração espermática, funcionalidade da membrana espermática (teste hiposmótico), e avaliação de integridade de membrana pela associação de fluoróforos (Iodeto de propídeo - IP e Diacetato de carboxifluoresceína -CFDA). Em seguida, o sêmen foi dividido em duas alíquotas que foram diluídas em Tris-frutose adicionado de gema de ovo (20%) ou LDL (20%) a temperatura ambiente (27 °C), ambos acrescidos de glicerol a 3%, atingindo uma concentração final de  $100 \times 10^6$  espermatozoides/mL. A criopreservação foi realizada segundo o método descrito para sêmen de catetos (Castelo et al., 2010). Após uma semana, as amostras foram descongeladas em banho-maria a 37°C/1min, e avaliadas de modo similar ao sêmen fresco. Os resultados foram expressos em média e erro padrão. As comparações entre os tratamentos (Gema 20% e LDL 20%) foram realizadas pela ANOVA seguida do teste t de Student, exceto para o vigor espermático que foi avaliado pelo teste de Mann-Whitney ( $P < 0,05$ ).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os ejaculados apresentaram coloração branca, volume de  $1.9 \pm 0.2$  mL contendo  $649 \pm 390 \times 10^6$  espermatozoides/mL. Foram verificados  $94,1 \pm 3\%$  de espermatozoides móveis com vigor  $4,7 \pm 0,2$ , e  $78,1 \pm 2,8\%$  de células com membrana funcional, bem como  $73,4 \pm 6\%$  com membrana íntegra determinada por fluorescência. Os resultados do sêmen descongelado estão expressos na tabela 1.

Salienta-se que o uso da LDL como crioprotetor, comparado a gema, permitiu uma melhor avaliação de motilidade e vigor, dada a diminuição da formação de grumos. Os resultados encontrados neste trabalho corroboram com os descritos por Hu et al. (2008) que demonstraram que a LDL proporciona melhor preservação de motilidade espermática e integridade acrossoma e de membrana plasmática em espermatozoides suínos, quando comparada a gema de ovo.

Tabela 1. Características (média  $\pm$  EP) do sêmen descongelado de catetos (*Pecari tajacu*) submetidos a congelamento em diluente Tris acrescido de gema de ovo ou lipoproteína de baixa densidade purificada a 20% (n=11)

	Gema 20%	LDL 20%
Motilidade (%)	$21.8 \pm 6.9^b$	$36.4 \pm 5.3^a$
Vigor (0-5)	$1.4 \pm 0.3^b$	$2.3 \pm 0.3^a$
Integridade Funcional (%)	$34.1 \pm 7.0$	$42.4 \pm 6.5$
Fluorescência (%)	$8.4 \pm 3.0^b$	$27.4 \pm 6.5^a$

<sup>a,b</sup> Sobrescritos minúsculos referem-se a diferenças na mesma linha,  $p < 0,05$ .

## CONCLUSÃO

Baseado nos dados obtidos, conclui-se que a LDL (20%) pode ser usada para substituir a gema de ovo integral promovendo, além da remoção dos grumos, melhores resultados de motilidade e vigor, bem como conferindo uma diminuição dos efeitos do choque térmico sobre a célula espermática de catetos coletados por eletroejaculação.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Castelo, T.S.; Bezerra, F.S.B.; Souza, A.L.P.; Moreira, M.A.P.; Paula, V.V.; Oliveira, M.F.; Silva, A.R. Influence of the thawing rate on the cryopreservation of semen from collared peccaries (*Tayassu tajacu*) using Tris-based extenders, *Theriogenology*, 74, 1060–1065, 2010.

Hu, J.H.; LI, Q.W.; Jiang, Z.L.; LI, W.Y. Effects of different extenders on DNA integrity of boar spermatozoa following freezing–thawing. *Cryobiology*, 57, 257–262, 2008.

Pillet, E.; Duchamp, G.; Batellier, F.; Beaumal, V.; Anton, M.; Desherces, S.; Schmitt, E.; Magistrini, M. Egg yolk plasma can replace egg yolk in stallion freezing extenders. *Theriogenology*, v.75 p.105–114, 2011.

Souza, A.L.P.; Castelo, T.S.; Queiroz, J.P.A.F.; Barros, I.O.; Paula, V.V.; Oliveira, M.F.; Silva, A.R. Evaluation of anesthetic protocol for the collection of semen from captive collared peccaries (*Tayassu tajacu*) by eletroejaculation, *Anim. Reprod., Sci.* 116, 370–375, 2009.

Sowls, L. K. *Javelinas and other peccaries: Their biology, management, and use* 2nd ed. Tucson, Arizona: University of Arizona Press, 1997.

## EFEITO DO FSH EM MEIO A BASE DE $\alpha$ MEM PARA O CULTIVO *IN VITRO* DE FOLÍCULOS OVARIANOS PRÉ ANTRAIS DE CATETOS (*Pecari tajacu*)

[Effect of FSH supplementation in the  $\alpha$  MEM medium for in vitro culture of preantral ovarian follicles from collared peccaries (*Pecari tajacu*)]

Gabriela Liberalino Lima<sup>1\*</sup>, Laritza Ferreira de Lima<sup>2</sup>, Rebeca Magalhães Pedrosa Rocha<sup>2</sup>, Ana Paula Ribeiro Rodrigues<sup>2</sup>, Moacir Franco de Oliveira<sup>1</sup>, Alexandre Rodrigues Silva<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Conservação de Germoplasma Animal – LCGA, Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA, Mossoró, RN, Brasil. \* Autor para correspondência. E-mail: gabyliberalino@yahoo.com.br

<sup>2</sup>Laboratório de manipulação de oócitos em folículos pré-antrais – LAMOFOPA, Universidade Estadual do Ceará – UECE, Fortaleza, CE, Brasil.

**ABSTRACT** - The aim was to verify the effect of FSH in  $\alpha$ -MEM+ on the morphology and activation of peccaries PFs after IV culture. From six females, one ovary was collected and divided into 3 fragments, from which, one constituted control group and others were cultured in  $\alpha$ -MEM+, supplemented or not with 50 ng/ml FSH, for 7 days, and evaluated.  $96.5 \pm 1.0$  % morphologically normal PFs (MNPF) were verified for the control group. A significant reduction was verified after IV culture ( $43,2 \pm 5,8$  % - with FSH;  $43,7 \pm 3,1$  % without FSH). FOPA was activated after IV culture ( $31.2 \pm 0.7$ % of growing PFs - control group, and  $100.0 \pm 0.0$ % after culture for both treatments). No differences were observed between treatments. In summary, IV culture of collared peccaries PFs can be performed in  $\alpha$ -MEM+ for 7 days; and FSH is not required for the maintenance of morphology or activation.

**Keywords:** preantral follicles; in vitro culture; FSH.

**Palavras-Chave:** folículos pré antrais; cultivo in vitro; FSH.

### INTRODUÇÃO

Os catetos (*Pecari tajacu*) estão entre as espécies mamíferas mais ameaçadas da América devido a apreciação internacional pela sua carne e pele. Dessa forma, a aplicação de programas de reprodução em cativeiro e técnicas de reprodução assistida aparecem como formas de garantir a conservação e o melhoramento genético destes animais (Nogueira & Nogueira – Filho, 2011). Com este intuito, recentemente, foi demonstrada que a criopreservação de oócitos desta espécie pode ser realizada através da vitrificação do tecido ovariano, a qual promove a preservação da morfologia de mais de 70% destes gametas (Lima et al., 2012). Entretanto, não há relatos da existência de um sistema de cultivo in vitro (CIV) que permita a avaliação do potencial de desenvolvimento destas células. Assim o objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito da suplementação de FSH no meio à base de  $\alpha$  MEM, sobre a morfologia e ativação dos folículos pré antrais (FOPA) cultivados por sete dias, de catetos (*Pecari tajacu*).

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados ovários provenientes de 6 fêmeas adultas. Após a coleta, estes foram lavados em álcool 70%, seguido de MEM para a retirada de sujidades e de outros contaminantes. Em seguida, foram divididos em 3 fragmentos, de aproximadamente 3 x 3 x 1 mm, dos quais um foi imediatamente fixado em Carnoy (12h), para posterior processamento histológico e análise da morfologia, constituindo o grupo controle não cultivado. Os demais foram cultivados in vitro, individualmente, em placas de 24 poços contendo 1 ml de  $\alpha$ -MEM+ suplementado ou não com 50 ng/ml de FSH, em uma atmosfera de 5% CO<sub>2</sub> em ar a 39 °C, sendo o meio de cultivo completamente trocado a cada dois dias. Após 7 dias, os fragmentos foram fixados em Carnoy (12h), submetidos ao processamento histológico e analisados quanto à morfologia e ativação. Para a análise morfológica, os FOPAS foram classificados como normais ou degenerados, considerando-se a presença ou ausência de corpos picnóticos, retração citoplasmática e organização das células da granulosa. A avaliação da ativação folicular foi realizada pela quantificação dos folículos nas

diferentes classes foliculares de desenvolvimento (primordial, transição, primário e secundário) antes e ao término do período de cultivo. Um total de 50 FOPAs foram analisados para cada tratamento. Para a comparação entre os grupos, os dados foram submetidos a ANOVA seguida do teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

### RESULTADOS

Um total de  $96,5 \pm 1,0$  % de FOPAs morfológicamente normais foi observado no grupo controle não cultivado. Apesar de haver uma redução significativa deste percentual após o CIV, um total de  $43,2 \pm 5,8$  % e de  $43,7 \pm 3,1$ % de FOPAs permaneceram morfológicamente normais ao se utilizar o  $\alpha$  – MEM+ suplementado ou não com FSH, respectivamente. Não houve diferenças significativas entre os tratamentos, denotando que a suplementação com o FSH não trouxe benefícios neste critério de avaliação ( $P > 0,05$ ). Quando se comparou o percentual de FOPAs em cada categoria de desenvolvimento no grupo controle não cultivado e nos tratamentos, verificou-se que o CIV promoveu a ativação de um número significativo de folículos primordiais. Enquanto apenas  $31,2 \pm 0,7$ % de folículos em desenvolvimento foi observado no grupo controle não cultivado,  $100,0 \pm 0,0$ % destes representavam os folículos em ambos os tratamentos após os 7 dias de CIV. Da mesma forma, a suplementação como

FSH não contribuiu para que o processo de ativação ocorresse, não havendo diferenças significativas entre os tratamentos.

### CONCLUSÃO

Conclui-se que o cultivo *in vitro* por sete dias de folículos pré antrais *in situ* de catetos (*Pecari tajacu*) pode ser realizado utilizando  $\alpha$  – MEM+, e que a suplementação com FSH não é necessária para a manutenção da integridade morfológica e ativação dos folículos pré antrais, provendo uma quantidade significativa de material genético a ser utilizado em outras técnicas, tais como a fertilização *in vitro*.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Lima, G. L.; Luz, V. B.; Alves, A. M. C. V.; Lunardi, F. O.; Souza, A. L. P.; Peixoto, G.C.X.; Rodrigues, A. P. R.; Oliveira, M. F.; Silva, A. R. Vitrification of collared peccaries (*Tayassu tajacu*) ovarian tissue using various cryoprotectants – Preliminary results, Campinas, SP, Oct./Dec.2012. In: IV International Symposium on Animal Biology of Reproduction, 2012, *Anais...* Campinas. Proceedings of IV International Symposium on Animal Biology of Reproduction, 2012.v. 9, p.957.
- Nogueira, S.S.C.; Nogueira filho, S.L.G. Wildlife farming: an alternative to unsustainable hunting and deforestation in Neotropical forests? *Biodiversity and Conservation*, v. 20, p. 1385-1397, 2011.

## INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL COM SÊMEN DE *Numida meleagris* DILUÍDO EM MEIO À BASE DE ÁGUA DE COCO EM PÓ

[Artificial insemination with sperm from *Numida meleagris* extended in medium based on powdered coconut water]

Levi de Oliveira Frota<sup>1\*</sup>, Luisa Cavalcante de Almeida Galdino<sup>1</sup>, Ana Gláudia Vasconcelos Catunda<sup>1</sup>,  
Cristiane Clemente de Mello Salgueiro<sup>2,3</sup>, Márcia Helena Niza Ramalho Sobral<sup>2</sup>, José Ferreira Nunes<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Estadual do Ceará. \*Autor para correspondência. E-mail: levimv@hotmail.com.

<sup>2</sup> Universidade de Potiguar.

<sup>3</sup> ACP Biotecnologia.

**ABSTRACT** - Artificial insemination with fresh sperm is used in the reproduction of *Numida meleagris*. Currently there are sperm extenders in birds artificial insemination, among them the powdered coconut water (ACP-108). This study explored data hatching eggs of *Numida meleagris* artificially inseminated with sperm preserved in ACP-108 during one year in order to observe the viability of the use of this product. Ninety eight incubations were performed with at 37.22 °C and 91% humidity for 28 days. Altogether, 467.704 eggs were incubated; resulting in 75.41% hatched eggs, 72.93% salable chicks, 2.13% waste and 0.34% died. The proportions and the birth rate achieved were satisfactory for the company, which demonstrated the extender effectiveness for the industrial production of *Numida meleagris*.

**Keywords:** ACP-108; *Numida meleagris*; insemination.

**Palavras-Chave:** ACP-108; *Numida meleagris*; inseminação.

### INTRODUÇÃO

Na indústria de produção de galinhas d'Angola (*Numida meleagris*), a inseminação artificial tem se mostrado o método mais eficiente para obtenção de progênie (Sainaet al., 2005). Existe uma vasta lista de diferentes diluentes, meios de conservação, crioprotetores e protocolos que podem ser empregados para potencializar o desempenho do sêmen de diversas espécies de aves na inseminação artificial, visando à conservação de espécies e a maximização da produção avícola. Dentre os meios para conservação de sêmen, está a água de coco em pó (ACP), a qual tem sido utilizada em galinhas da angolana com formulação ACP-108 (Lavor, 2011). Diante do exposto, este estudo objetivou avaliar, por meio da análise da taxa de eclosão de ovos, a eficiência da inseminação artificial em galinha d'Angola utilizando sêmen diluído em ACP-108 em uma granja comercial.

### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no município de Maracanaú – CE, utilizando galinhas d'Angola para produção de pintos de um dia, no período de 12 meses entre 03 de agosto de 2010 a 28 de julho de 2011. Foram utilizados sete lotes formados com

aproximadamente 850 fêmeas acompanhados de 350 machos cada. O número de galinhas por lote foi variável a cada mes, pelo fato de algumas aves entrarem em muda forçada durante períodos variados, entretanto, a média de 1.600 ovos/lote foi mantida. Estes animais foram alojados em gaiolas com 50 cm de largura, 50 cm de profundidade e 50 cm de altura. As gaiolas foram dispostas em prateleiras de duas fileiras em quatro galpões convencionais de 60 metros de comprimento por 10 metros de largura, contendo dois lotes distintos em cada galpão. As aves foram alimentadas com ração balanceada e controlada a água *ad libitum*. A coleta de sêmen foi efetuada utilizando-se a técnica da massagem dorso-abdominal (Burrows & Quinn, 1937). O sêmen recém-coletado foi diluído em ACP-108 conforme as orientações do fabricante, sendo imediatamente utilizado para inseminação artificial nas matrizes. Os ovos férteis foram levados para as incubadoras (Casp UG21) com a temperatura de 37,22°C e 91% de umidade, permanecendo por 28 dias.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram realizadas, ao todo, 98 incubações totalizando 467.704 ovos incubados. Os dados resultantes das incubações foram processados e

analisados utilizando o PacoteOffice Excel2007®. Deste total, eclodiram 352.685 ovos, dos quais resultaram 341.105 pintos vendáveis, 9.978 refugos e 1.602 pintos mortos. Os ovos não eclodidos foram ao todo 115.019. A eclodibilidade foi de

aproximadamente 75.41% (Tabela 1). Saina (2005) obteve uma taxa de eclodibilidade de  $71,2 \pm 14,3\%$  para incubação artificial em galinhas d'Angola (Tabela 1).

Tabela 1. Valores de incubação e percentuais de ovos eclodidos, pintos vendáveis, pintos de refugo, pintos mortos e ovos não eclodidos em relação ao número de ovos incubados.

	Ovos encubados	Ovos eclodidos	Pintos vendáveis	Pintos de refugos	Pintos mortos	Ovos não eclodidos
Número	467.704	352.685	341.105	9.978	1.602	115.019
Percentuais	100%	75,41%	72,93%	2,13%	0,34%	24,59%

## CONCLUSÃO

A inseminação artificial em *Numida meleagris* com sêmen fresco diluído em ACP-108 é viável, por apresentar eclodibilidade próxima ou maior que a normal considerada para esta espécie criada industrialmente.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Universidade Estadual do Ceará pela concessão da bolsa de iniciação científica, ao CNPq pela bolsa DT-II, e à Granja EMAPE pela cessão dos dados de acompanhamento dos animais.

## REFERÊNCIAS

- Burrows, W.H.; Quinn, J.P. The collection of spermatozoa from the domestic fowl and turkey. *Poultry Science*, v.26, p.19-24, 1937.
- Burrows, W.H.; Quinn, J.P. Artificial insemination of chickens and turkeys. U. S. Department of Agriculture. *Cir.* 525, 1939.
- Lavor, C.T.B. *Avaliação do meio de conservação à base de água de coco em pó (ACP-108) sobre a qualidade do sêmen de galos (Gallusgallus) e capotes (NumidaMeleagris)*. 2011. 253p. Tese (Doutorado em Biotecnologia) –Curso de Pós-Graduação em Biotecnologia, Rede Nordeste de Biotecnologia, Universidade Estadual do Ceará.
- Saina, H. *Guineafowl (Numidiameleagris) production under smallholder farmer management in Guruve district, Zimbabwe*. 2005. Dissertação (MestradoemFilosofia) - Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Zimbabwe.

## INTERAÇÕES ENTRE DIFERENTES TIPOS DE ESTÍMULOS ELÉTRICOS E APARELHOS DE ELETROEJACULAÇÃO NA COLETA DO SÊMEN DE CUTIAS *Dasyprocta azarae*

[Interactions among different types of electrical stimulation and electroejaculation devices for semen collection of agouti (*Dasyprocta azarae*)]

Thibério de Souza Castelo\*, Ana Liza Paz Souza, Gabriela Liberalino Lima, Gislayne Cristiane Xavier Peixoto, Lívia Batista Campos, Alexandre Rodrigues Silva

Laboratório de Conservação e Germoplasma Animal. \*Autor para correspondência. E-mail: thiberio\_castelo@hotmail.com.br.

**ABSTRACT** - The aim of this study was to establish a protocol for efficient electroejaculation to obtain sperm from agouti. Ten adult male agoutis were subjected to anesthetic protocol of ketamine (35mg/kg) and xylazine (5mg/kg) previously described for the species. Two electroejaculation devices were tested, which had longitudinal and circular electrodes and emitted quadratic and sine waves respectively. For both devices, two types of stimuli were used, a continuous and a serial one. The best collection efficiency (57%) was obtained using the electroejaculator with the sine wave and circular electrodes, proceeding to serial stimuli. Based on these results, it can be suggested that for the collection of semen in agouti species (*Dasyprocta azarae*), electroejaculation apparatus that emits sine waves, endowed with a transrectal probe with circular electrodes associated with the use of serial stimuli, being used.

**Keywords:** electroejaculation; square wave; sine wave; semen; agoutis.

**Palavras-Chave:** eletroejaculação; onda quadrática; onda senoidal; sêmen; cutias.

### INTRODUÇÃO

Várias espécies do bioma caatinga têm sido predadas pela população local para serem utilizados como fonte alternativa de proteína animal devido a hábitos histórico-culturais e por apresentarem carne e pele com grande aceitação no mercado internacional (Bodmer et al., 1990). Assim, o interesse econômico por produtos oriundos de animais silvestres vem estimulando produtores a investirem em criações comerciais. Para tanto, o sucesso da utilização desses animais, implica em um bom conhecimento da biologia das espécies em cativeiro, inclusive de seu comportamento e reprodução.

Pouco ainda é conhecido acerca da fisiologia reprodutiva das cutias. No tocante à sua tecnologia de sêmen, foi demonstrada a possibilidade de coleta do seu ejaculado por meio de uma técnica de eletroejaculação (Mollineau et al., 2008), a qual necessita ainda ser aperfeiçoada.

A eletroejaculação apresentar fundamental importância na obtenção de sêmen de animais silvestres para estudos de conservação, formação de

bancos de germoplasma e aplicação de biotécnicas reprodutivas em sistemas de produção. Além da variação de acordo com o protocolo anestésico utilizado, a eletroejaculação, pode apresentar variações conforme os tipos de aparelhos, onde estes podem emitir diversos tipos de ondas e ainda possuir variação na disposição de seus eletrodos, e de acordo com a forma de estimulação, podendo ser com intervalos entre as séries de estímulos ou de forma contínua (Áxner & Linde-Forsberg, 1998).

Diante disso, o objetivo do presente estudo é estabelecer um protocolo de eletroejaculação eficiente para a obtenção de espermatozoides de cutias.

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 10 machos adultos de cutias da espécie. Em cada coleta, os animais foram inicialmente submetidos à contenção mecânica. Em seguida, para a contenção química, foi utilizado um protocolo de associação entre cetamina (35mg/kg) e xilazina (5mg/kg) previamente descrito para a espécie (Mollineau et al., 2010).

Para a coleta de sêmen, foram testados dois aparelhos de eletroejaculação, os quais possuíam eletrodos longitudinais e circulares e emitiam ondas quadráticas e senoidais respectivamente. Para ambos os aparelhos, foram testados dois tipos de estímulos, um contínuo com duração de 10 mim do início ao final do processo onde foram realizados dez estímulos em cada voltagem começando de 1V ate 12V, e outro seriado onde foram realizados intervalos de 5 mim entre cada série com 30 estímulos sendo 10 em cada voltagem começando de 1V e chegando até 12V. Os dados referentes a

eficiência da eletroejaculação foram analisados pelo teste exato de Fisher no programa estatístico SPSS 20.0 (Statistic Package Social Science). Valores de  $P < 0,05$  consideraram-se significativos.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi obtida melhor eficiência de coleta utilizando-se o eletroejaculador com onda senoidal e eletrodos circulares, procedendo-se estímulos seriados, de acordo com a Tabela 1.

Tabela 1. Eficiência de coleta de sêmen em cutias (*Dasyprocta azarae*) por eletroejaculação testando diferentes aparelhos e protocolos de estimulação. (n= 40).

Características do Eletroejaculador	Tipo de Estímulo	Ejaculados obtidos	Presença de espermatozoides
Onda senoidal e eletrodo circular	Seriado	7/10 (70%) <sup>b</sup>	4/7 (57%) <sup>a</sup>
Onda quadrática e eletrodo longitudinal	Seriado	8/10 (80%) <sup>ab</sup>	3/8 (37,5%) <sup>b</sup>
Onda senoidal e eletrodo circular	Contínuo	9/10 (90%) <sup>ab</sup>	1/9 (11,1%) <sup>c</sup>
Onda quadrática e eletrodo longitudinal	Contínuo	8/10 (90%) <sup>ab</sup>	2/8 (25,0%) <sup>b</sup>

Sobrescritos diferentes na mesma coluna significam diferença estatística.  $P < 0,05$

Vale ressaltar que o melhor resultado obtido no presente trabalho com relação a presença de espermatozoides no ejaculado, foi superior aos obtidos por Molineau et al. (2010), os quais utilizaram apenas cetamina ou a associação entre ketamina e xilazina, seguida de estímulos contínuos, utilizando eletrodos longitudinais, obtendo eficiência de 30% e 41,33% respectivamente. Com base nos resultados, pode-se sugerir que para a coleta de sêmen em cutias da espécie *Dasyprocta azarae* seja utilizado um aparelho de eletroejaculação que emita ondas senoidais, dotado de uma sonda transretal com eletrodos circulares, associado ao uso de estímulos seriados.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Axnér, E.; Holst Ström, B.; Linde-Forsberg, C. Morphology of spermatozoa in the cauda epididymidis before and after electroejaculation and a comparison with ejaculated spermatozoa in the domestic cat. *Theriogenology*, v.50, p.973-979, 1998.
- Bodmer R. E.; Bendayan N. Y.; Moya L.; Fang T. G. Manejo de ungulados en la Amazonia Peruana: Analisis de su caza y comercializacion. *Boletín de Lima*, 70, 49-56. 1990.
- Mollineau W. M.; Adogwa A. O.; Garcia G. W. A preliminary technique for electroejaculation of agouti (*Dasyprocta leporina*). *Animal Reproduction Science*, v.108, p.92-97, 2008.
- Mollineau W. M.; Adogwa A. O.; Garcia G. W. Liquid and frozen storage of agouti (*Dasyprocta leporina*) semen extended with UHT Milk, unpasteurized coconut water, and pasteurized coco-nut water. *Veterinary Medicine International*, pii: 702635, 2010.



## MONITORAMENTO ULTRASSONOGRÁFICO DO ESTRO EM CATETOS (*Pecari tajacu*) APÓS SINCRONIZAÇÃO UTILIZANDO ANÁLOGO DA PROSTAGLANDINA

[*Ultrasonographic estrus monitoring in captive collared peccaries (*Pecari tajacu*) after synchronization using a prostaglandin f2a analogue*]

Keilla Moreira Maia<sup>1\*</sup>, Gislayne Christianne Xavier Peixoto<sup>1</sup>, Aracely Rafaelle Fernandes Ricarte<sup>1</sup>, Moacir Oliveira Franco<sup>1</sup>, Alexandre Rodrigues Silva<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Conservação de Germoplasma Animal – LCGA, Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA, Mossoró, RN, Brasil. \*Autor para correspondência. E-mail: keillamaia@hotmail.com

**ABSTRACT** - The aim of this study was to use the ultrasonography for the estrous monitoring in captive female collared peccaries (*Pecari tajacu*) subjected to the synchronization using a prostaglandin analogue. Five adult females collared peccaries received two intramuscular administrations of 60 µg D-cloprostenol, at a nine days interval. They were monitored by ovarian ultrasound every 2 days. As a result, four female synchronized their estrous at  $9,5 \pm 0,5$  days after the second administration. Such females showed external signs of estrus. By the ultrasonography, the presence of anechoic follicles was detected in the ovary. According to these data, we suggest that ultrasonography along with the manifestation of external signs could be used for the monitoring of synchronized estrous in collared peccaries.

**Key words:** *Tayassu tajacu*; ecography; estrus synchronization.

**Palavras chaves:** *Tayassu tajacu*; ecografia; sincronização de estro.

### INTRODUÇÃO

Os catetos (*Pecari tajacu*) possuem um grande potencial para criação em cativeiro, em virtude da grande aceitação de sua carne e pele no mercado internacional (Nogueira & Nogueira Filho, 2011). Neste sentido, necessitam de alternativas para conservação da espécie em alguns biomas nos quais se encontram ameaçadas de extinção (Garcia et al., 2009). No intuito de se facilitar o manejo destes animais em cativeiro, tem-se procurado desenvolver protocolos de sincronização de estro (Silva et al., 2012). Haja vista o caráter não invasivo promovido pela técnica de ultrassonografia, objetivou-se nesse estudo, monitorar o desenvolvimento folicular ovariano nesta espécie, após sincronização de estro utilizando análogo da prostaglandina.

### MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi realizado no Centro de Multiplicação de Animais Silvestres (CEMAS) e no LCGA (UFERSA), utilizando-se cinco fêmeas adultas de cateto. Estas foram submetidas a um protocolo de sincronização de estro, com administração de 2 doses do análogo da prostaglandina D-cloprostenol

(60 µg), intervalo de 9 dias. A partir daí, foram monitoradas a cada dois dias por meio de ultrassonografia ovariana, utilizando-se um aparelho portátil (Aquila vet, Pie Medical®, Nutricell, Campinas, SP, Brasil), com transdutor microconvexo, identificando e mensurando os folículos a partir do diâmetro longitudinal e transversal. Adicionalmente, foi observada a ocorrência de alterações na genitália externa das fêmeas, características da demonstração de sinais de estro. Os dados foram expressos como média e desvio padrão (SD).

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a segunda aplicação, quatro dos cinco animais, demonstraram sinais de estro, como mucosa vaginal hiperêmica e presença de muco vaginal, por volta de  $9,2 \pm 0,5$  dias (Tabela 1). Esses resultados sugerem que catetos apresentam uma resposta tardia a essa droga em relação a outras espécies domésticas (Rensis et al., 2007). Tais mudanças verificadas na genitália externa foram previamente relatadas durante o estro natural dessa espécie em animais da Floresta Amazônica (Mayor et al., 2007). Ao exame ultrassonográfico, os folículos ovarianos foram identificados como

estrutura circular, regular, contendo líquido anecóico, medindo em média  $0,29 \pm 0,05 \times 0,32 \pm 0,07$  cm, no entanto, não foi possível o monitoramento do desenvolvimento folicular, nem o momento da ovulação. Essas dimensões

correspondem as descritas anteriormente para os folículos antrais ( $\sim 0,23$  cm), através de análise histológica, para a mesma espécie (Mayor et al., 2006).

Tabela 1. Intervalo entre a aplicação da segunda dose de cloprostenol e a manifestação do estro, diâmetro folicular por ultrassonografia e sinais externos durante o estro em fêmeas de cateto (*Pecari tajacu*) criadas em cativeiro sob clima semi-árido (n=5).

Animal	Dia da manifestação dos sinais de estro após a segunda dose de PGF-2 $\alpha$	Ultrassonografia	Sinais de estro	
		Diâmetro folicular (cm)	Vulva hiperêmica	Descarga de muco vaginal
1	10	0,40 x 0,43	+++	+++
2	8	0,34 x 0,40	+	+++
3	10	0,19 x 0,19	++	+++
4	-	-	-	-
5*	10	0,21 x 0,21	+++	+++
Média $\pm$ SD	9,5 $\pm$ 0,5	0,29 $\pm$ 0,05 x 0,32 $\pm$ 0,07		

\* Animal 5 também apresentou abertura vulvar.

## CONCLUSÕES

A partir dos dados encontrados no presente estudo, constatou-se que a ultrassonografia pode ser utilizada para identificar o estro em catetos (*Pecari tajacu*) após sincronização, juntamente com outros parâmetros (sinais externos), uma vez que essa técnica não é fidedigna pra monitorar a ovulação, pois não permite o acompanhamento das modificações na dinâmica ovariana.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Garcia, A. R; Kahwage, P. R; Ohashi, O. M. Aspectos reprodutivos de caimitus (*Tayassu tajacu*). *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, Belo Horizonte. v.33, n.2, 71-81.2009.

Mayor, P.; Galvez, H.; Guimarães, D. A; López-Gatius, F.; López-Béjar, M. Serum estradiol-17beta, vaginal cytology and vulval appearance as predictors of estrus cyclicity in the female

collared peccary (*Tayassu tajacu*) from the eastern Amazon region. *Animal Reproduction Science*. 97:165–174. 2007.

Mayor, P; Guimarães, D.A; Lopez-Gatius, F; Lopez-Bejar, M. First postpartum estrus and pregnancy in the female collared peccary (*Tayassu tajacu*) from the amazon. *Theriogenology* 66, 2001-2007. 2006.

Nogueira, S.S.C; Nogueira-Filho, S.L.G. Wildlife farming: an alternative to unsustainable hunting and deforestation in Neotropical forests? *Biodiversity Conservation*, 2011; 20:1385–1397.

Rensis, F; Lopez-Gatius, F. Protocols for synchronizing estrus and ovulation in buffalo (*Bubalus bubalis*): A review. *Theriogenology* 67, 209–216, 2007.

Silva, A.R.; Maia, K.M; Silva, M.A.; Peixoto, G.C.X.; Bezerra, J.A.B; Silva, A.M; Oliveira, M.F . Primeiro Sucesso na Sincronização de Estro Utilizando Análogo da Prostaglandina em Catetos (*Tayassu tajacu*). In: XXV REUNIÃO ANUAL DA SBTE, 2012, Cumbuco - Ceará. Foliculogênese, oogênese e superovulação, 2012.

## RECUPERAÇÃO OOCITÁRIA EM CATETOS (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758) UTILIZANDO O MÉTODO DE FATIAMENTO OVARIANO – RESULTADOS PRELIMINARES

[*Oocyte recovery in collared peccaries (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758) by the ovarian slicing method - Preliminary results*]

Dayse Ariane Soares Medeiros<sup>1\*</sup>, Livia Batista Campos<sup>1</sup>, Alessandra Fernandes Pereira<sup>2</sup>, Alexandre Rodrigues Silva<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratório de Conservação e Germoplasma Animal, Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFRSA, Mossoró, RN, Brasil. \*Autor para correspondência. E-mail: dayseariane@hotmail.com.

<sup>2</sup> Laboratório de Cultura Celular e Biotecnologia Animal, Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFRSA, Mossoró, RN, Brasil.

**ABSTRACT:** We aim to verify the efficiency of the slicing method for the oocytes retrieval from collared peccaries (*Pecari tajacu*) ovaries. Six ovaries derived from adult females were sliced on a Petri dish containing saline solution. Oocytes were collected, counted, and classified according to its viability. A total of 123 oocytes were obtained, being 41 per female on average. From that, a total of 109 were classified as viable presenting homogeneous cytoplasm and a well distributed number of Cumulus cells. In conclusion, slicing method can be efficiently used for oocyte retrieval in collared peccaries.

**Keywords:** *Tayassu tajacu*; ovarian slicing; oocyte.

**Palavras-Chave:** *Tayassu tajacu*; fatiamento ovariano; oócito.

### INTRODUÇÃO

O cateto (*Pecari tajacu*) é um animal silvestre que se adapta facilmente em cativeiro, sendo indicado para ser utilizado na exploração comercial (Nogueira Filho et al., 1999). Porém, estudos acerca da sua biologia reprodutiva ainda são escassos, havendo a necessidade de pesquisas nesta área, a fim de otimizar sua produção (Mayor et al., 2006). Assim, destaca-se a necessidade do desenvolvimento de técnicas reprodutivas como a produção *in vitro* (PIV), cujo sucesso depende da utilização de oócitos de boa qualidade, sendo estes dependentes do método de recuperação adotado (Rodriguez et al., 2006). Dentre os métodos de recuperação oocitária, destaca-se o método de fatiamento ovariano (*slicing*) que possibilita o acesso a folículos localizados profundamente dentro do córtex do ovário, resultando na recuperação de grande quantidade de complexos cumulus-oócito (COCs), além de permitir trabalhar com ovários provenientes de abatedouros (Bernardi, 2005).

Diante do exposto, o presente trabalho objetivou determinar a taxa de recuperação de oócitos em catetos (*Pecari tajacu*), utilizando-se o método de fatiamento ovariano.

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados seis ovários provenientes de três fêmeas de catetos (*Pecari tajacu*), abatidas devido o controle populacional que ocorre anualmente no Centro de Multiplicação de Animais Silvestres (CEMAS) da UFRSA. Os ovários foram transportados ao laboratório em solução salina e lavados na mesma, a 37°C. Posteriormente, foram colocados numa placa de Petri e procedeu-se a coleta oocitária através do método de fatiamento ovariano (*slicing*) (Chaves et al., 2011). Após serem coletados, os oócitos foram submetidos a identificação e classificados (Graus I, II, III e IV) quanto ao grau de viabilidade de acordo com homogeneidade do citoplasma e o número de camadas de células do cumulus não expandidas, utilizando-se uma lupa estereomicroscópica, em aumento de 40x. Os resultados foram expressos em média e desvio padrão, utilizando o programa Microsoft Excel.

### RESULTADOS

Foi possível obter um total de 123 oócitos pelo método de fatiamento ovariano (*slicing*), com uma média de 41 oócitos recuperados por animal. Desses, um total de 109 oócitos foi considerado

viável, sendo 10 classificados como grau I, 36 como grau II, e 63 grau III (Tabela 1). Estes resultados demonstram a eficiência deste método, que se mostrou rápido e prático para a obtenção de

oócitos de boa qualidade. Pode-se concluir que a técnica de fatiamento ovariano (*slicing*) pode ser utilizada para a recuperação de oócitos em catetos (*Pecari tajacu*).

Tabela 1. Taxa de oócitos recuperados de fêmeas (n=3) de catetos (*Pecari tajacu*), determinada pelo método de fatiamento de ovários.

Animal	Classificação dos oócitos				TOTAL
	Grau I	Viáveis Grau II	Grau III	Não viáveis Grau IV	
01	0	5	6	6	17
02	7	15	22	4	48
03	3	16	35	4	58
Média ±DP	3,3 ± 2,1	12 ± 7,7	21 ± 14,5	4,6 ± 1,4	123

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Bernardi M.L. Produção in vitro de embriões ovinos. *Acta Scientiae Veterinariae*, v.33, p.1-16, 2005.

Chaves R.M.; bezerra, F.Q.G. ; lima,P.F.; rabelo, M.C.; lopes,F.P.,oliveira,M.A.L. Maturação nuclear in vitro e morte celular por apoptose em oócitos de caprinos nos períodos seco e chuvoso. *Ciência Animal Brasileira*. v.12,p.593-601, 2011.

Mayor,P.; guimarães,D.A.; lópez-gatius,F.; lópez-bejar,M. First postpartum estrus and pregnancy in the female collared peccary

(*Tayassu tajacu*) from the Amazon. *Theriogenology*, v.66, p.2001–2007, 2006.

Nogueira-filho, S.L.G.; cunha-nogueira, S.S.; TAKECHI, S.A. Estrutura social de pecaris (Mammalia, Tayassuidae) em cativeiro. *Revista de Etologia*, v.1,p. 89-98, 1999.

Rodríguez C, anel L, alvarez M, anel E, boixo JC, chamorro CA, paz P. Ovum pick-up in sheep: a comparison between different aspiration devices for optimal oocyte retrieval. *Reproduction in Domestic Animals*, v.41, p.106-113, 2006.

# SINCRONIZAÇÃO DE ESTRO EM CATETOS (*Pecari tajacu*) UTILIZANDO ASSOCIAÇÃO DAS GONADOTROFINAS CORIÔNICAS EQUINA E HUMANA

[*Estrus synchronization in collared peccaries (*Pecari tajacu*) using equine and human gonadotropins association*]

Gislayne Christianne Xavier Peixoto<sup>1\*</sup>, Livia Batista Campos<sup>1</sup>, Erika Camila Gurgel Praxedes<sup>1</sup>, Thiberio Souza Castelo<sup>1</sup>, Ariana Lopes Correia de Paiva<sup>1</sup>, Alexandre Rodrigues Silva<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratório de Conservação de Germoplasma Animal, Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFRSA, Mossoró, RN, Brasil. \*Autor para correspondência. E-mail: gypeixoto@hotmail.com

**ABSTRACT-** The aim of this research was to test a protocol for estrous synchronization in collared peccaries. An association of eCG (400 UI) and hcG (200 UI) was administered to five adult females. After that, its efficiency was evaluated by the evaluation of clinical estrous signs, vaginal cytology and ovarian ultrasound every three days. As a result, animals showed clinical estrous signs and an increase in the percentage of superficial cells between the day 3 and 9. However, the predominance of this cell type was verified in only 3 animals ( $p < 0.05$ ), that also showed structures compatible to ovarian follicles at ultrasound. The hormonal association showed satisfactory results in synchronizing estrus in female collared peccary.

**Keywords:** collared peccary; synchronization; gonadotropin.

**Palavras-Chave:** cateto; sincronização; gonadotrofina.

## INTRODUÇÃO

Os catetos (*Pecari tajacu*) são mamíferos silvestres cuja população mundial tem sido classificada como estável (IUCN, 2013). Visto que se adaptam facilmente à reprodução em cativeiro, intervenções apropriadas podem auxiliar o melhoramento genético e acelerar o crescimento da produtividade comercial desses animais (Moretti et al., 2013). Para isso, pode-se vislumbrar a utilização de técnicas da reprodução, destacando-se o emprego da sincronização de estro e superovulação (Clarke et al., 2012), utilizando-se hormônios semelhantes aos produzidas endogenamente pela fêmea. Neste sentido, objetivou-se desenvolver um programa de sincronização de estro em fêmeas de cateto mantidas em cativeiro por uso da associação das gonadotrofinas equina (PMSG) e humana (HCG).

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 5 fêmeas de cateto ( $18 \pm 0,4$  meses;  $21,5 \pm 1,8$  Kg), híidas, mantidas em baia coletiva (20 x 30m), oriundas do Centro de Multiplicação de Animais Silvestres (CEMAS-UFRSA). Os animais receberam dose única de 5,0 mL de uma associação hormonal liofilizada composta por 400 UI de eCG e 200 UI de HCG

(Duogestál<sup>®</sup>, Intervet International B.V., Brasil), por via intramuscular. Durante 21 dias, a intervalos de 3 dias, a eficiência do protocolo foi avaliada pela observação de sinais clínicos de estro, como mucosa vaginal hiperêmica, abertura vulvar e presença de mucos vaginais. Foi também realizada a colpocitologia, identificando-se as proporções dos diferentes tipos celulares (células parabasais, intermediárias e superficiais nucleadas e anucleadas). Além disso, realizou-se o monitoramento ovariano por ultrassonografia transabdominal (Aquila vet, Pie Medical<sup>®</sup>, Nutricell, Campinas, Brazil), utilizando-se transdutor microconvexo (8MHz). A análise estatística foi realizada com Statview 5.0 (SAS Institute Inc., Cary, EUA). Os dados foram submetidos a ANOVA, e para comparação entre as médias dos tipos celulares foi utilizado o teste T de Student. Dados com  $p < 0,05$  foram considerados significativos.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todas as fêmeas (n=5) submetidas ao protocolo de sincronização apresentaram sinais clínicos de estro, como vulva discretamente edemaciada, presença de muco e presença de sangue no swab aos  $6 \pm 3$  dias após a administração das drogas. Tais características são similares àquelas descritas em

suínos domésticos (Knox et al. (2001). Entre os dias 3 e 9 após aplicação hormonal, ocorreu aumento da percentagem de células superficiais em todas as fêmeas. Contudo, em apenas 3 animais, correspondendo a 60%, foi observada predominância desse tipo celular, mostrando-se significativamente maior no dia 9 quando comparado as células intermediárias ( $p < 0,05$ ), caracterizando a existência de estro (Guimarães et al., 2011). Nestes, também foram observadas estruturas hipocóicas de contornos regulares e arredondadas medindo em média  $0,40 \pm 0,13$  cm, compatíveis com folículo ovariano (Maia, 2011). A duração média do estro foi de  $4,0 \pm 1,7$  dias, semelhante ao observado em fêmeas suínas submetidas ao mesmo protocolo de sincronização (Schwarz et al., 2013).

### CONCLUSÕES

A associação dos sinais clínicos, com as características celulares vaginais e os aspectos sonográficos do ovário, permitiram diagnosticar a fase de estro em 3 animais. Assim, a associação de 200UI de HCG e 400UI de PMSG, apresentou resultado satisfatório na sincronização de estro em fêmeas de catetos.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Clarke, P.M.R.; Henzl, S.P.; Barret, L.; Estrous synchrony in a nonseasonal breeder: adaptive strategy or population process? *Behavioral Ecology*, v.10 p.1-9, 2012.
- Guimarães, D.A.A.; Garcia, S.C.G.; Le Pendu, Y.; Albuquerque, N.I. Determinação do ciclo estral em catetos *Pecari tajacu*: aspectos colpocitológicos e clínicos. *Acta Amazonica*, v.41, n.4, p.583-588, 2011.
- Iucn, 2013: *Iucn Red List of Threatened Species*. Version 2013.2. <www.iucnredlist.org>. Downloaded on 14 February 2014.
- Knox, R.V.; Rodriguez-zas, S.L.; Miller, G.M.; Willenburg, K.L.; Robb, J.A. Administration of P.G. 600 to sows at weaning and the time of ovulation as determined by transrectal ultrasound. *J. Anim. Sci.*, v.79, p.796–802, 2001.
- Maia, K.M. *Fisiologia e controle do ciclo estral em fêmeas de cateto (Tayassu tajacu) mantidas em cativeiro no semi-árido brasileiro*. (Dissertação de mestrado). 92f. Universidade Federal Rural do Semi-árido. 2011.
- Moretti, A.S.; Martins, S.M.M.K.; Andrade, A.F.C.; Parazzi, L.J.; Oliveira, M.L.; Pharmacological control of oestrus cycle. *Ver. Bras. Reprod. Anim.* V.37, n.2, p.213-219, 201.
- Schwarz, T.; Murawski, M.; Ziecik, A.; Wierzchos, E.; Estradiol and LH secretion and ovulation rate in sows after PG600 treatment during weaning. *Reproductive Biology*, v.3, p.30-45, 2013.

## TESTE DE TERMORRESISTÊNCIA NA AVALIAÇÃO DOS ESPERMATOZOIDES EPIDIDIMÁRIOS DE CATETOS (*Pecari tajacu*) CRIOPRESERVADOS COM DIFERENTES DILUENTES

[Thermoresistance test for the evaluation of collared peccary (*Pecari tajacu*) epididymal sperm cryopreserved with different extenders]

José Artur Brilhante Bezerra<sup>1\*</sup>, Andréia Maria da Silva<sup>1</sup>, Patrícia da Cunha Sousa<sup>1</sup>, Thibério Souza Castelo<sup>1</sup>, Gabriela Liberalino Lima<sup>1</sup>, Alexandre Rodrigues Silva<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Conservação de Germoplasma Animal, Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA, Mossoró, RN, Brasil. \* Autor para correspondência. E-mail: artur\_brilhante@hotmail.com.

**ABSTRACT** – The aim of the present study was to evaluate the efficacy of different extenders on collared peccary epididymal sperm, using the thermoresistance test. Epididymal sperm from 12 animals were recovered using retrograde flushing method, using Tris or powdered coconut water (ACP) based extenders. Samples were cryopreserved, and the thawing was conducted after two weeks. The thermoresistance test conducted at evaluating sperm motility and vigor at 0, 15, 30, 45 and 60 min post-thawing. Immediately after thawing, Tris samples were significantly higher than ACP ones ( $P < 0.05$ ), but at 15 minutes for vigor and 30 min for motility, no differences were observed between the extenders. The mean values for Tris samples were higher than the ACP samples along the entire test. In conclusion, Tris-based extender provide better results, being the most recommended extender for collared peccary epididymal sperm cryopreservation.

**Keywords:** *Pecari tajacu*; sperm survival; freezing.

**Palavras-Chave:** *Pecari tajacu*; sobrevivência espermática; congelamento.

### INTRODUÇÃO

Dentre as espécies silvestres nativas da fauna brasileira, o cateto (*Pecari tajacu*) é uma das que tem despertado mais interesse para a exploração comercial (Nogueira & Nogueira-Filho, 2011). No entanto, pouco se sabe sobre os aspectos reprodutivos desses animais, tampouco sobre a criobiologia dos seus espermatozoides epididimários. No intuito de melhorar a avaliação espermática e prever a fertilidade de espermatozoides criopreservados, tem sido proposto o teste de termorresistência (TTR), que consiste na avaliação da longevidade dos espermatozoides após a descongelamento, através de uma simulação parcial *in vitro* do processo *in vivo* que os mesmos teriam no interior do trato reprodutor da fêmea (Barros et al., 2013). Assim, o presente trabalho teve por objetivo comparar a eficácia de diferentes diluentes utilizados na criopreservação de espermatozoides epididimários de catetos através da verificação da sobrevivência espermática pós-descongelamento por meio do TTR.

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados complexos epidídimo-vasos deferentes de doze catetos adultos submetidos ao abate programado para controle populacional do Centro de Multiplicação de Animais Silvestres da UFERSA. Os espermatozoides epididimários foram recuperados por meio da técnica de lavagem retrógrada, usando o Tris ou a água de coco em pó – ACP<sup>®</sup>-116c. Após a recuperação, o material foi avaliado e submetido ao protocolo de congelamento, previamente descrito para a espécie (Souza et al., 2012), com concentração final de 20% de gema de ovo e 6% de glicerol em ambos os diluentes. Após duas semanas, a descongelamento foi feita em banho-maria, a 37°C por 1 min, e os espermatozoides foram avaliados através do TTR, com avaliações de motilidade e vigor, em intervalos de 15 minutos, durante 60 minutos. Os dados de motilidade sofreram transformação angular em Arcoseno e análise de variância (ANOVA) seguida do teste t de Student. O vigor foi avaliado pelo teste não paramétrico de Mann-Whitney. O nível de significância considerado foi  $P < 0,05$ .

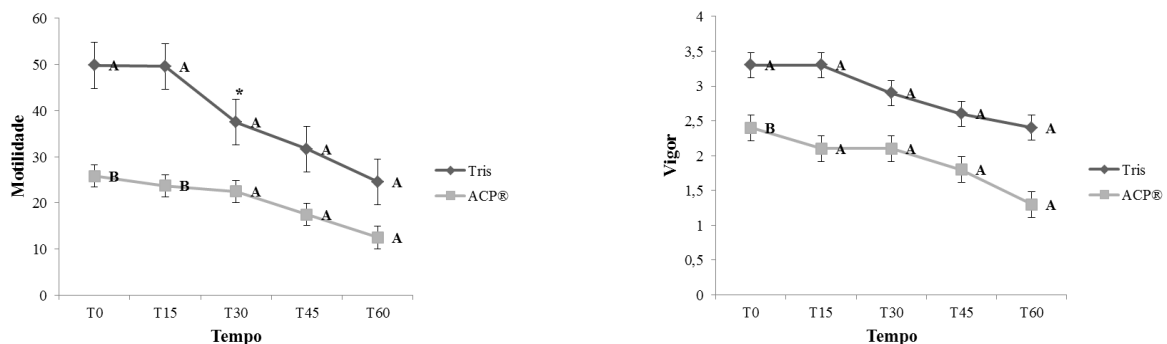
## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As médias para motilidade e vigor após a descongelação foram de  $25,8 \pm 5,1\%$  e  $2,4 \pm 0,3$  para as amostras criopreservadas com a ACP, e  $49,8 \pm 5,2\%$  e  $3,3 \pm 0,3$  para o Tris. Neste momento, os parâmetros foram significativamente superiores quando se utilizou o Tris ( $P < 0,05$ ). Os resultados do TTR estão representados na Fig. 1.

Souza et al. (2012), realizando o TTR a  $37^\circ\text{C}$  no ejaculado de catetos coletado por eletroejaculação,

e criopreservado com o Tris, observaram queda significativa na motilidade e vigor já nos primeiros 15 minutos de avaliação, sendo que ao fim dos 60 minutos do teste as amostras apresentaram motilidade abaixo de 10% e vigor espermático próximo a 1. Os resultados aqui obtidos foram superiores a estes, tendo sido observada queda significativa apenas na motilidade aos 30 minutos para o Tris, o que demonstra boa eficácia do protocolo de criopreservação empregado para os espermatozoides oriundos de epidídimo de catetos.

Figura 1. Motilidade e vigor dos espermatozoides epididimários de catetos criopreservados com Tris ou ACP, ao longo do teste de termorresistência a  $37^\circ\text{C}$  por 60 min. Letras maiúsculas diferentes no mesmo tempo indicam diferença estatística entre os tratamentos. \* indica diferença estatística dentro de um mesmo tratamento.



## CONCLUSÕES

O diluente à base de Tris proporcionou melhores valores pós-descongelação e ao longo do TTR, sendo o mais recomendado para a criopreservação de espermatozoides epididimários de catetos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Barros, M. H. C.; Shiomi, H. H.; Amorim, L. S.; Siqueira, J. B.; Pinho, R. O.; Lima, D. M. A.; Lopes, P. S.; Guimarães, S. E. F.; Guimarães J. D. Viabilidade espermática do sêmen congelado de

suínos da raça piau avaliada pelo teste de termorresistência. *Acta Veterinaria Brasilica*, v.7, n.2, p.164 - 170, 2013.

Souza, A. L. P.; Campos, L. B.; Silva, M. A.; Bezerra, J. A. B.; Oliveira, M. F.; Silva, A. R. Efeito da re-diluição pós-descongelação sobre a longevidade espermática de catetos (*Tayassu tajacu*). In: IV CONERA, Fortaleza, CE. Anais do IV CONERA. *Ciência Animal*, v. 1., p. 56-58, 2012.

Nogueira S. S. C.; Nogueira-Filho, S. L. G. Wildlife farming: an alternative to unsustainable hunting and deforestation in Neotropical forests? *Biodiversity and Conservation*, v. 20, p. 1385–1397, 2011.



## VALIDAÇÃO DE SONDAS FLUORESCENTES NA AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE DE ESPERMATOZOIDES EPIDIDIMÁRIOS DE CUTIAS (*Dasyprocta azarae*)

[Validation of fluorescent probes for viability evaluation of agouti (*Dasyprocta azarae*) epididymal sperm]

Luana G. P. Bezerra<sup>1\*</sup>, Gabriela L. Lima<sup>1</sup>, Clara Y. M. Costa<sup>1</sup>, Thibério S. Castelo<sup>1</sup>, Ana L. P. Souza<sup>1</sup>, Alexandre R. Silva<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratório de Conservação de Germoplasma Animal – LCGA, Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA. \* Autor para correspondência. E- mail: luana\_grasielly@hotmail.com.

**ABSTRACT** – The objective of this research was to validate the fluorescence technique for the assessment of cell membrane integrity of agouti epididymal sperm. After euthanasia, agouti epididymal sperm were evaluated for motility, vigor and concentration, and further divided in two aliquots. The first was kept as fresh (T100), and the other one was submitted to flash frozen for provoking membrane injury (T0). A third treatment was constituted by half T0 and T100, constituting T50. An association of propidium iodide and carboxyfluorescein diacetate was used for analyzing sperm membrane integrity under fluorescence microscopy. Results shows that  $98.5 \pm 0.8\%$  were present in T100, that was significantly differ than T50 ( $58.2 \pm 3.3\%$ ) and T0 ( $1 \pm 0, 7\%$ ). We suggest that PI-CFDA association can be efficiently used for sperm membrane evaluation in agoutis.

**Keywords:** propidium iodide; carboxifluorescein; *Dasyprocta aguti*.

**Palavras-Chave:** iodeto de propídio; carboxifluoresceína; *Dasyprocta aguti*.

### INTRODUÇÃO

Em razão da capacidade de marcação em regiões específicas, a utilização de sondas fluorescentes tem sido ampliada na avaliação da integridade e função de compartimentos de células espermáticas. A membrana plasmática é impermeável ao Iodeto de Propídio (IP), um fluoróforo que marca o DNA de células lesionadas. O Diacetato de Carboxifluoresceína (CFDA) é um éster que penetra a membrana plasmática intacta, resultando em um composto fluorescente verde. (Arruda et al., 2003). A cutia (*Dasyprocta aguti*) é um modelo experimental para o desenvolvimento de protocolos de reprodução assistida que posteriormente possam ser aplicados em espécies ameaçadas. (Wanderley, 2010). Mesmo com ampla distribuição geográfica e relativa abundância, existem poucos relatos relativos à análise de espermatozoides de cutias. Assim, este trabalho teve o objetivo validar a utilização de sondas moleculares fluorescentes na avaliação da viabilidade de espermatozoides epididimários de cutias (*Dasyprocta azarae*).

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 04 machos de cutia, provenientes do abate programado relativo ao controle populacional no Centro de Multiplicação de

Animais Silvestres (CEMAS) da UFERSA. Após a eutanásia dos animais, os complexos testículos-epidídimos foram coletados e transportados para o laboratório envoltos em gase umedecida com solução fisiológica aquecida a 37°C. Para obtenção dos espermatozoides, foi procedida a lavagem retrógrada com a injeção de 5 ml de diluente água de coco em pó – ACP. Os espermatozoides epididimários foram avaliados conforme sugerido pelo Colégio Brasileiro de Reprodução Animal - CBRA (Henry E Neves, 1998). Utilizou-se amostras na concentração de  $50 \times 10^6$  espermatozoides/mL que foram divididas em duas alíquotas: uma mantida viável e a outra submetida à congelamento rápida em nitrogênio líquido, seguida de descongelamento lento (*flash frozen*) por três vezes consecutivas para causar injúrias à membrana celular (Andrade et al., 2007). Três tratamentos foram realizados a partir destas alíquotas com as seguintes proporções de espermatozoides frescos e espermatozoides submetidos ao *flash frozen*: 100:0 (T100), 50:50 (T50) e 0:100 (T0). Em seguida, as amostras foram submetidas a uma solução com a associação dos fluoróforos CFDA e IP. Para cada amostra, 200 espermatozoides foram contados e classificados: cabeças espermáticas marcadas em verde (CFDA) foram consideradas possuidoras de plasmalema intacto, e as marcadas total ou parcialmente em vermelho (IP) foram consideradas

como não intactas. As análises estatísticas foram realizadas com o programa StatView 5.0 (SAS Institute Inc., Cary, EUA). Os resultados referentes às características espermáticas das cutias foram expressos na forma de média e desvio padrão. As diferenças entre os tratamentos foram analisadas utilizando-se o teste t de Student não pareado (ANOVA).

### RESULTADOS

Os espermatozoides apresentaram motilidade média de  $96,25 \pm 2,4\%$ , vigor 5 e concentração média de  $360 \pm 31,9 \times 10^6$  espermatozoides/ml. No tratamento T100, foram observadas  $98,5 \pm 0,8\%$  de células viáveis; em T50, verificaram-se  $58,2\% \pm 3,3$  de células viáveis; e em T0, a média de células viáveis foi de  $1\% \pm 0,7$ . Observou-se que a porcentagem de células com integridade de membrana plasmática foi superior em T100 quando comparada a T50 e T0 conforme o esperado, por consequência do tratamento *flash-frozen* a que foram submetidos, mostrando que a associação CFDA-IP foi adequada para demonstrar a viabilidade espermática.

### CONSIDERAÇÕES FINAIS

Sugere-se que a avaliação da viabilidade células espermáticas de cutias pode ser realizada de forma confiável através da associação das sondas fluorescentes CFDA e IP.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Andrade, A. F. C. et al. Fluorescent Stain Method for the Simultaneous Determination of Mitochondrial Potential and Integrity of Plasma and Acrosomal Membranes in Boar Sperm. *Reproduction In Domestic Animals*, Pirassununga, v. 42, n. 2, p.190-194, abr. 2007.
- Arruda, R. P.; Ball, B. A.; Bravance, C. G.; Liu, I. K. M. Determinação da integridade da membrana e acrossomo de espermatozoides de garanhões pela técnica de citometria de fluxo. *Acta Scientiae Veterinariae*, v.31, p. 226-227, 2003.
- Henry, M., Neves, J.P. *Manual de Exame Andrológico dos Animais Domésticos*. Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 49p., 1998
- Wanderley, L. S. et al. Criopreservação de tecido ovariano como ferramenta para a conservação de espécies de mamíferos ameaçadas de extinção. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, Fortaleza, out. 2010.

## VITRIFICAÇÃO DE TECIDO OVARIANO DE PREÁ (*Galea spixii spixii*) – RESULTADOS PRELIMINARES

[*Vitrification of cavies (*Galea spixii spixii*) ovarian tissue – preliminar results*]

Érica Camila Gurgel Praxedes<sup>1\*</sup>, Gabriela Liberalino Lima<sup>1</sup>, José Artur Brilhante Bezerra<sup>1</sup>, Ana Liza Paz Souza<sup>1</sup>, Moacir Franco de Oliveira<sup>1</sup>, Alexandre Rodrigues Silva<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratório de Conservação e Germoplasma Animal, Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFRSA, Mossoró, RN, Brasil. \*E-mail:ericamila\_38@hotmail.com.

**ABSTRACT-** The aim was to evaluate the effect of 3M dimetilsulfoxide (DMSO) on the morphological preservation of vitrified ovarian preantral follicles (FOPA) of cavies (*Galea spixii spixii*). Pairs of ovaries from two females (n=2) were collected. From each female, one ovary was immediately destined to morphological analysis, and the other was subjected to the solid surface vitrification procedure, and stored in cryobiologic containers. After two weeks, samples were rewarmed, and the histologic procedure was performed to morphological evaluation. The FOPAs were classified as morphologically normal or degenerate. A total of 200 FOPA were analyzed and a mean of 87% of morphologically normal FOPA was observed for control group. After vitrification the morphology of 57% FOPA remains preserved. In conclusion the use of 3M of dimetilsulfoxide was efficient for the preservation of in situ preantral follicles morphology after solid surface vitrification process of *Galea spixii spixii* ovaries.

**Keywords:** follicles; cryopreservation; vitrification; cavy.

**Palavras-Chave:** folículos; criopreservação; vitrificação; preá.

### INTRODUÇÃO

O Preá (*Galea spixii spixii*) é um roedor rústico, considerado uma fonte de proteína animal em algumas regiões do Brasil, tendo como principal foco da sua criação o manejo e a reprodução (Santos, et.al., 2009). Haja vista não estar sob ameaça de extinção, o preá pode ser utilizado como modelo experimental em estudos para a conservação de outras espécies. Visando a conservação e multiplicação de espécie silvestres, técnicas ligadas a reprodução vem sendo desenvolvidas, como a criopreservação de tecido ovariano, considerada um método simples e efetivo para conservação do material genético feminino (Carvalho et., al., 2011a). Dentre os métodos de criopreservação, a vitrificação vem ganhando destaque, uma vez que permite a solidificação de uma amostra utilizando baixas temperaturas sem a formação de cristais de gelo, consistindo em uma alternativa às injúrias causadas pela congelação lenta (Liebermann et. al., 2002).

Nesse contexto, o objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos do uso do dimetilsulfóxido (DMSO) como crioprotetor sobre a morfologia dos folículos ovarianos pré-antrais vitrificados de preás.

### MATERIAL E MÉTODOS

Pares de ovários de duas fêmeas sexualmente maduras, provenientes do Centro de Multiplicação de Animais Silvestres da UFRSA, foram coletados após eutanásia, e lavados em álcool 70% e meio essencial mínimo (MEM). Para cada par de ovários, um foi imediatamente fixado em solução Carnoy por 12 horas, para avaliação da morfologia. O ovário contralateral foi submetido ao processo de vitrificação de acordo com Carvalho et., al., (2011b) em superfície sólida, colocado em solução constituída de MEM acrescido de soro fetal bovino, 0,25 M de sacarose e 3 M de DMSO, e finalmente acondicionado em criotubos e mantido em botijão criobiológico. Após duas semanas de acondicionamento, as amostras foram reaquecidas, sendo realizada a remoção do crioprotetor e fixação em Carnoy (12h) para análise da morfologia folicular. Após a confecção dos blocos de parafina, estes foram seccionados (7µm), montados em lâminas que foram com hematoxilina e eosina e analisadas sob microscopia de luz (40x). A avaliação consistiu em classificar os folículos ovarianos pré-antrais (FOPA) em normais ou degenerados normais ou degenerados, considerando-se a presença ou ausência de corpos

picnóticos, retração citoplasmática e organização das células da granulosa. Ainda, de acordo com a categoria folicular, estes foram classificados como primordiais, primários e secundários, de acordo com o formato e número de camadas das células da granulosa. Para cada amostra 50 folículos foram analisados. Os resultados foram expressos somente em média (resultados preliminares).

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram examinados um total de 200 FOPA (50 folículos para cada tratamento). Uma média de 87% de folículos morfolologicamente normais foi observada no grupo controle fresco. Após a vitrificação e reaquecimento, verificou-se a preservação de 57% de FOPAs os quais apresentavam oócito com núcleo arredondado e centralizado sem sinais de picnose, citoplasma uniforme, sem sinais de retração e células da granulosa bem organizadas em camadas ao redor do oócito. Resultados semelhantes foram obtidos por Wanderley, et., al., (2012) ao utilizar a criopreservação lenta na conservação de tecido ovariano de cutias (*Dasyprocta azarae*) quando se utilizou 1,5M de DMSO, obtendo uma média de 60,6% de folículos morfolologicamente normais após vitrificação.

### CONCLUSÃO

O uso de 3M de dimetilsulfóxido se mostrou eficiente para a preservação da morfologia de folículos ovarianos pré-antrais vitrificados em

superfície sólida, in situ de preás (*Galea spixii spixii*) Vale ressaltar que este foi o primeiro estudo descrevendo o processo de criopreservação de gametas femininos nesta espécie, o que abre caminhos para a condução de estudos cada vez mais profundos sobre este processo.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Carvalho, A. A.; Faustino, L. R.; Figueiredo, J. R.; Rodrigues, A. P. R.; Costa, A. P. R.; vitrificação: uma alternativa para a preservação de embriões e material genético de fêmeas mamíferas em criobancos. *Acta Veterinaria Brasílica*, v.5, n.3, p. 236-248, 2011a.
- Carvalho, A. A.; Faustino, L. R.; Figueiredo, J. R.; Rodrigues, A. P. R.; Costa, A. P. R.; Influence of vitrification techniques and solution on the morphology and survival of preantral after in vitro culture of caprine ovarian tissue. *Theriogenology*, v. 76, p.933-941, 2011b.
- Liebermann J. & Tucker M.J. Effect of carrier system on the yield of human oocytes and embryos as assessed by survival and developmental potential after vitrification. *Reproduction*. 124(4):483-489, 2002.
- Santos, P. R. S.; Oliveira, M. F.; Menezes, D. J. A.; Rodrigues, M. N.; Neto, A. C. A.; *Anatomia Microscópica dos órgãos genitais de preás adultos (Galea spixii) criados em cativeiro*, UNESP-Dracena, SP. In: VI Encontro de Zootecnia, Dracena, 22 a 24 de setembro de 2009.
- Wanderley L. S.; Luiz, H. K. M., Faustino, I. R., Lima, I. M. T., Lopes, C. A. P., Silva, A. R.; Bao, A. N.; Campello, C. C.; Codrigues, A. P. R.; Figueiredo, J. R.; Ultrastructural features of agouti (*Dasyprocta aguti*) preantral follicles cryopreserved using dimethyl sulfoxide, ethylene glycol and propanediol. *Theriogenology*; v 77, n. 2, p. 260-267, 2012.

## **Biotécnicas Fundamentais**

## ANÁLISE MORFOMÉTRICA DO TESTÍCULO DE RATOS WISTAR TRATADOS COM *Ipomoea setifera*

[Morphometric analysis of testis of rats treated with *Ipomoea setifera*]

Antonio Gomes Costa Neto de Sousa<sup>1</sup>, Suellen Bezerra de Sousa<sup>1\*</sup>, Ana Kelen Felipe Lima<sup>1</sup>, Obede Rodrigues Ferreira<sup>1</sup>, Viviane Mayumi Maruo<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia – EMVZ – UFT. \*Autor para correspondência. E-mail: suu.medvet@hotmail.com

**ABSTRACT:** This work aimed to evaluate the toxic effects of the administration of the crude extract (CE) of *I. setifera* for 30 days on the reproductive system of Wistar rats. 30 male Wistar rats were used. The group I (control) was treated with saline (N = 15) and group II received the CE *I. setifera* (N = 15). There was an increase in the relative weigh to the testes, epididymis, prostate and seminal vesicles, suggesting the toxic action of the components of *I. setifera*. Morphometric analysis of the testes showed an increase in the average diameter of the seminiferous tubules ( $83.63 \pm 0.84$ ) and the height of the germinal epithelium ( $15.86 \pm 0.15$ ) in mice treated with CE *I. setifera* when compared to the control group ( $78.88 \pm 1.03$ ,  $13.07 \pm 0.35$ ). This study demonstrated that administration of EB of *I. setifera* causes reproductive toxicity in male Wistar rats.

**Keywords:** ipomea; intoxication; reproductive.

**Palavras-Chave:** ipomea; intoxicação; reprodutor.

### INTRODUÇÃO

As doenças infectocontagiosas e as toxicoses estão entre os vários obstáculos para vencer o desafio do aumento da produtividade animal. Huerza et al. (2007), usando ratas prenhes como modelo experimental, observaram que houve diminuição do ganho de peso destes animais no período de pós-implantação, com a administração de diferentes concentrações do extrato aquoso de *I. carnea*. A administração de 5% de *I. setifera*, durante 60 dias, para ratos machos produziu nas fêmeas não tratadas que acasalaram com os machos tratados, aumento nos pontos de reabsorção fetal, porcentagens de perdas pré e pós-implantação, redução na taxa de viabilidade fetal e taxa de fertilidade (Falcão & Maruo, 2010). Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos tóxicos da administração do extrato bruto de *I. setifera* sobre o sistema reprodutor de ratos Wistar machos.

### MATERIAL E MÉTODOS

As folhas *I. setifera* foram coletadas no assentamento Barra Bonita no município de Carmolândia-TO, de agosto a outubro de 2012, e encaminhadas à Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia –UFT, e foram levadas à estufa ventilada para a estabilização (55° C por 72 horas). Em

seguida, 600 g das folhas de *I. setifera* foram submetidas à percolação através da imersão em álcool 97% por 72 horas. Após esse período, o material foi filtrado em filtro de papel, e armazenado em frasco âmbar, em refrigeração. O filtrado foi submetido à concentração parcial em rotaevaporador, sob pressão reduzida à 45° C, até a eliminação do álcool e obtenção do extrato bruto (EB).

Foram utilizados 30 machos de ratos da linhagem Wistar, mantidos individualmente em gaiolas, em ambiente com temperatura controlada (22° a 24°C) e com iluminação em ciclo claro/escuro de 12 horas cada. Água e ração (Nuvital®) foram fornecidas diariamente. Os animais foram divididos de forma aleatória em dois grupos de 15 animais cada, onde o grupo I foi tratado com solução fisiológica (controle). Já o grupo II recebeu o EB de *I. setifera*, sendo administrado 1 g por dia do EB nos animais, via gavagem, por 30 dias.

Ao final do experimento, foi realizada a avaliação histopatológica testicular, além da mensuração e obtenção do peso relativo de testículos, epidídimo, próstata e vesícula seminal. O peso relativo foi dado pela seguinte fórmula: Peso relativo do órgão = (peso do órgão / peso vivo) x 10. O diâmetro médio testicular foi obtido a partir da mensuração

do diâmetro tubular, utilizando 20 secções transversais de túbulos seminíferos que apresentavam contorno regular, em microscópio de luz com objetiva de 20x (LEICA DME®). Nas mesmas secções avaliadas, foi mensurada a altura do epitélio seminífero, a qual foi tomada da túnica própria até o lúmen tubular. O valor para o diâmetro tubular médio e altura do epitélio seminífero foram obtidos a partir da média de duas medidas tomadas de forma diametralmente opostas (Takashiba et al., 2011).

Na análise estatística, foi utilizado o teste t de Student para os dados paramétricos. Os dados não paramétricos foram analisados pelo teste de Mann-Whitney, com nível de significância de  $p < 0,05$ .

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

A avaliação histopatológica demonstrou descamação celular nos túbulos seminíferos dos testículos. Houve aumento do peso relativo dos testículos, epidídimo, próstata e vesícula seminal, o que sugere a ação tóxica dos componentes das folhas de *I. setifera* sobre esses tecidos. Alterações no peso testicular podem refletir edema, e no epidídimo essas alterações são sugestivas de redução da produção espermática, podendo estar associada à infamação e edema (Sellers et al., 2007). A análise morfométrica dos testículos demonstrou aumento no diâmetro médio dos túbulos seminíferos ( $83,63 \pm 0,84$ ) e na altura do epitélio germinativo ( $15,86 \pm 0,15$ ) de ratos tratados com o EB de *I. setifera* quando comparados ao grupo controle ( $78,88 \pm 1,03$ ;  $13,07 \pm 0,35$ ). O aumento no peso relativo do testículo (controle  $0,87 \pm 0,01$ g; grupo tratado  $1,02 \pm 0,03$ g) corrobora com o estudo morfométrico dos túbulos seminíferos de ratos tratados com a planta, realizado neste trabalho. A determinação do peso relativo dos

órgãos reprodutivos de machos é uma importante ferramenta na avaliação de risco reprodutivo em estudos experimentais, uma vez que os túbulos seminíferos e os elementos germinativos representam 98% da massa testicular (Sellers et al., 2007).

### CONCLUSÃO

A administração do Extrato Bruto de *I. setifera* provoca toxicidade reprodutiva em ratos Wistar machos. Novos estudos devem ser conduzidos, visando elucidar os mecanismos de toxicidade das folhas de *I. setifera* em ruminantes, bem como identificar os compostos tóxicos da referida planta.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Barbosa R. C.; Riet-Correa F; Lima, E. F.; Medeiros R. M. T.; Guedes, K. M. R.; Gardner D. R.; Molyneux, R. J.; Melo, L. E. H. Experimentals wainsonin epoisoning in goats ingesting *Ipomoea sericophylla* and *Ipomoea riedelii* (Convolvulaceae). *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 27, p. 409-414, 2007.
- Falcão, A. A. B. A; Maruo, V. M. *Toxicidade de Ipomoea setifera Poir.* In: VI Seminário de Iniciação Científica da UFT, 2010, Palmas. VI Seminário de Iniciação Científica da UFT, 2010. CD-ROM.
- Hueza, I. M.; Guerra, J.L.; Haraguchi, M.; Gardner, D.R.; Asano, N.; Ikeda, K.; Górnaiak, S.L. . Assessment of the perinatal effectsof maternal ingestion of *Ipomoea carnea* in rats. *Dand Toxicology Pathology*, v. 58, n. 6, p. 439-446, 2007.
- Sellers, R.; Morton, D.; Michael, B; Roome, N.; Johnson,J.; Yano, B. L; Perry, R; Schafer, K. Society of Toxicologic Pathology Position Paper: Organ Weight Recommendations for Toxicology Studies. *Toxicologic Pathology*, v. 35, p. 751-755, 2007.
- Takashiba, K. S.; Segatelli, T. M.; Moraes, S.M.F.; Natali, M.R.M. Morfometria testicular de ratos Wistar obesos sedentários e submetidos a treinamento físico. *Acta Scientiarum Health Sciences*, v. 3, p. 25-33, 2011.

## AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE REPRODUTIVA E METABÓLICA DAS SEMENTES E FOLHAS DE *MIMOSA VERRUCOSA* EM RATAS (*Rattus norvegicus albinus*)

[Evaluation of reproductive toxicity and metabolic seeds and leaves of mimosa verrucosa in rat (*Rattus norvegicus albinus* vr. Wistar)]

Alcir Martins Pereira<sup>1\*</sup>, Francisco Humberto da Silva Ribeiro<sup>1</sup>, Yuri Rodrigues Pinheiro<sup>1</sup>, Sabrina Thabla Pereira Lopes<sup>1</sup>, Silvana Maria Medeiros de Sousa Silva<sup>1</sup>, Marcos Daniel de Sousa Ferreira<sup>1</sup>

<sup>1</sup>UFPI/CCA. \*Autor para correspondência. E-mail: alcir\_martins@hotmail.com.

**ABSTRACT** - In Brazil, *Mimosa tenuiflora* has teratogenic effects. Tests have indicated that ingestion of seeds (Medeiros et al. 2008) Plant for pregnant females caused various types of malformations. This research aimed to study reproductive toxicity and metabolic toxicity of the seeds of this plant in rats. These were divided into 3 groups, Group 1 received a commercial diet mixed with 10% *Mimosa verrucosa* and seed corn starch, Group 2 received commercial feed, 20% more seed and 10% of corn starch. And the third group (control) received a commercial diet and 10% of corn starch. On the 20th day of gestation, the rats underwent cesarean section, and evaluated the gravid uterus and its contents. Once were sacrificed for assessment of ovarian, liver, kidney and spleen. It is concluded that the seed of *Mimosa verrucosa* affects pregnant rats, causing toxic effects to the developing embryo leading to an increased number of resorptions and the internal organs showed no significant differences between the treated groups and the control group.

**Keywords:** metabolic; *Mimosa tenuiflora*; rats; reproductive; toxicity.

**Palavras-Chave:** metabólito; *Mimosa tenuiflora*, ratos, reprodução; toxicidade.

### INTRODUÇÃO

No nordeste do Brasil a *Mimosa tenuiflora*, tem merecido destaque devido a recente comprovação teratogênica. Testes in vivo, realizados em caprinos para avaliar a ação teratogênica desta planta, indicaram que a ingestão de sementes (Medeiros et al., 2008) da planta, por fêmeas gestantes, causou vários tipos de malformações fetais. Entretanto, há outras espécies de *Mimosa* existentes no semiárido que não foram estudadas e que podem ser tóxicas para os animais, como por exemplo, a *Mimosa verrucosa*. Considerando os prejuízos que as plantas tóxicas provocam e a escassez de trabalhos científicos que visam testar a toxicidade de plantas suspeitas de causarem problemas reprodutivos e metabólicos a presente pesquisa teve como objetivo estudar a toxicidade reprodutiva e metabólica da *Mimosa verrucosa* em ratas.

### MATERIAL E MÉTODOS

As sementes de *Mimosa verrucosa* foram coletadas do município de Campo Maior e processadas em Teresina. As ratas foram divididas em 3 grupos de 6 animais: Grupo 1 recebeu ração com 80% da ração

comercial moída com 10% de sementes *Mimosa verrucosa* trituradas e 10% de amido de milho em água morna; Grupo 2 recebeu ração com 70% da ração comercial mais 20% de sementes trituradas e 10% de amido de milho; Grupo 3 (controle) recebeu ração com 90% de ração comercial e 10% de amido de milho. No 20º dia de gestação, as ratas foram submetidas à cesariana, para retirada e avaliação do útero gravídico e seus conteúdos. Em seguida, foram eutanasiadas para avaliação dos ovários, fígado, rins e baço. Foi feita a ANOVA e em seguida, empregado o teste Tukey para análise das médias, com nível de significância crítico para todas as análises estatísticas realizadas de  $p < 0,05$  (5%).

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1, são observadas as massas absolutas dos órgãos internos, estas não demonstraram diferenças significativas, entre os grupos tratados e o grupo controle. No entanto, a massa dos rins, no grupo controle foram inferiores aos dos grupos tratados, com isso, sugere-se a possível ocorrência de alteração na função renal causada pelo consumo das rações contendo *Mimosa verrucosa* (Adebayo



et al., 2003).

Tabela 1. Médias seguidas de desvio padrão (DP) da Massa corporal relativa dos órgãos de ratas expostas aos Tratamentos com ração peletizada contendo 10% e 20% de sementes de *Mimosa verrucosa* e Grupo controle.

Variáveis	Tratamentos		
	Controle (n=6)	10% (n=6)	20 % (n=6)
<b>Fígado</b>	3,057 ± 0,356 a	3,355 ± 0,730 a	3,255 ± 0,130 a
<b>Rins</b>	0,419 ± 0,055 b	0,539 ± 0,076 a	0,508 ± 0,021 a
<b>Baço</b>	0,289 ± 0,075 a	0,271 ± 0,113 a	0,244 ± 0,035 a
<b>Útero</b>	1,276 ± 0,045 a	0,851 ± 0,507 a	1,076 ± 0,184 a
<b>Ovários</b>	0,044 ± 0,003 a	0,039 ± 0,006 a	0,037 ± 0,007 a
<b>Útero+Fetos</b>	19,699 ± 2,491 a	9,384 ± 7,185 b	11,817 ± 2,002 b
<b>Feto</b>	1.311 ± 0.256a	0.527 ± 0.415 b	0.803 ± 0.064 b
<b>Placenta</b>	0.093 ± 0.020 b	0.152 ± 0.119 ab	0.218 ± 0.024 a

O peso do útero somado ao de fetos e somente o peso dos fetos, demonstraram que o valor da média das massas dos dois grupos tratados apresentaram valores inferiores ao grupo controle. Segundo Wolfsegger et al., (2009) a alteração de peso de um órgão pode ser indicativo um efeito tóxico direto de um dos componentes presentes nos extratos de planta sobre este órgão. Os resultados observados sobre os parâmetros gestacionais (Tabela 2)

mostram que não ocorreu diferença significativa sobre o número de fetos, corpos lúteos, placentas, malformações, quantidade de fetos mortos e do número de implantações, indicando que as sementes da planta em estudo, não apresentaram efeito tóxico sobre o desenvolvimento embrionário antes da implantação, que pudessem provocar a perda do embrião, conforme foi observado por Maganha et al., (2006).

Tabela 2. Registro da média seguido do desvio padrão (DP) dos dados coletados após cesariana das ratas expostas aos Tratamentos com ração peletizada contendo 10% e 20% de sementes de *Mimosa verrucosa* e Grupo controle.

Variáveis	Tratamentos		
	Controle (n=6)	10% (n=6)	20 % (n=6)
<b>Nº de fetos</b>	10,833 ± 7,527 a	7,000 ± 5,513 a	9,333 ± 0,816 a
<b>Nº implantações</b>	10,833 ± 0,752 a	7,333 ± 5,750 a	10,167 ± 1,329 a
<b>Nº de Reabsorções</b>	0,0 ± 0,0 b	0,333 ± 0,516 ab	0,833 ± 0,752 a
<b>Nº corpos luteos</b>	12,167 ± 1,722 a	7,167 ± 5,671 a	11,333 ± 0,516 a
<b>Nº placentas</b>	11,167 ± 0,752 a	7,000 ± 5,513 a	9,333 ± 0,816 a
<b>Malformações</b>	0,0 ± 0,0 a	0,0 ± 0,0 a	0,0 ± 0,0 a
<b>Fetos Mortos</b>	0,1667 ± 0,408 a	0,0 ± 0,0 a	0,0 ± 0,0 a

Analisando a Tab.2 observa-se que houve aumento no número de reabsorções no grupo que recebeu a ração contendo 20% das sementes de *Mimosa verrucosa*, sendo superior ao grupo controle e igual estatisticamente ao grupo tratado a 10%, podendo ser evidenciado que as sementes de *Mimosa sp* pode provocar efeito tóxico para o desenvolvimento do embrião.

### CONCLUSÃO

Conclui-se que as sementes da *Mimosa verrucosa* afetam ratas gestantes, provocando efeito tóxico ao desenvolvimento do embrião levando ao aumento no número de reabsorções. E que os órgãos internos

não demonstraram diferenças significativas, entre os grupos tratados e o grupo controle.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adebaio, j.o. Effect of ethanolic extract of *Khaya senegalensis* on some biochemical parameters of rats kidney. *Journal Ethnopharmacology*, n.88, p.69-72, 2003.
- Medeiros, r. M. T.; figueiredo, a. P. M.; benicio, t. M. A.; dantas, f. P. M.; riet-correa, f. Teratogenicity of *Mimosa tenuiflora* seeds to pregnant rats. *Toxicol*, v. 51, p.316-319, 2008.
- Wolfsegger, m. J.; jaki, t.; dietrichi, b.; kunzler, j. A.; barker, k. A none statistical analysis of organ weights in non-clinical toxicological studies. *Toxicology and Applied Pharmacology*, n.240, p.117-122, 2009.

## AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA DO AUTOTRANSPLANTE OVARIANO PARA A REGIÃO SUBCAPSULAR RENAL EM CAMUNDONGAS BALB-C

[*Macroscopic evaluation of ovarian autograft to the renal subcapsular in Balb-c female mice*]

Mikael Almeida Lima<sup>1\*</sup>, Muriel Magda Lustosa Pimentel<sup>2</sup>, Fernanda Araujo dos Santos<sup>2</sup>, Roberta Gonçalves Izzo<sup>1</sup>, Ana Carolina Guimarães Teixeira<sup>1</sup>, Marcelo Barbosa Bezerra<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Aluno de Graduação do Curso de Medicina Veterinária – UFERSA, Mossoró-RN. \* Autor para correspondência. E-mail: mikalima@live.com.

<sup>2</sup> Aluna do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal – UFERSA, Mossoró-RN.

<sup>3</sup> Professor do Departamento de Ciências Animais – UFERSA, Mossoró-RN.

**ABSTRACT** – The aim of this study was to demonstrate the possibility of autologous ovarian transplantation development grafted under renal capsule. Thus, we used 26 Balb-C mice after autografting small pieces of cortical ovary in the subcapsular portion of the left kidney. The cortex of the right ovary was fragmented and transplanted in the specific location. After 30 days, all females were euthanized and grafts removed. Development of the fragments was observed in 69.2% of the animals, and in 88.8% there was junction of fragments and 27.7% observed bleeding points (indicative of follicular growth and ovulation). These results demonstrated that the autologous ovarian allocated on the renal subcapsular region is viable, feasible and satisfactory technique.

**Keywords:** transplantation; autologous; ovarian cortex; Balb-C female mice.

**Palavras-Chave:** transplante; autólogo; córtex ovariano; camundongas Balb-C.

### INTRODUÇÃO

O autotransplante ovariano denomina-se como uma intervenção cirúrgica caracterizada pela introdução do ovário inteiro ou fragmentos de tecido ovariano que, com ou sem reanastomose vascular, são transplantados no organismo do próprio animal, podendo estar próximo ou distante da posição anatômica original (Macedo et al., 2011).

O desenvolvimento da técnica, a fragmentação do tecido e a estabilização das funções ovarianas estão intimamente relacionados com o local no qual deve ser implantado o córtex ovariano. Nos critérios de escolha do local que servirá como sítio receptor, características como a vascularização do local, a capacidade de desenvolvimento dos folículos no sítio, a possibilidade de concepção natural, a facilidade do procedimento, acesso conveniente para a coleta de oócitos e volume de tecido a ser transplantado, são pontos que devem ser levados em consideração (Demeestere et al., 2009). A região subcapsular do rim foi escolhida como sítio receptor por oferecer muitas vantagens em relação à manutenção do tecido transplantado, sendo da mesma origem embriológica do trato

reprodutivo e também, devido ao suporte vascular de 20 a 25% do débito cardíaco (Christie; Bjorling, 1998).

Visando esclarecer e padronizar as técnicas citadas anteriormente, este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de utilizar o transplante ovariano em camundongas *Balb-c* como modelo experimental, avaliando macroscopicamente o transplante do córtex ovariano na região subcapsular do rim esquerdo.

### MATERIAL E MÉTODOS

Vinte e seis camundongas Balb-C foram submetidas a ovariossalpingectomia bilateral. O ovário esquerdo foi utilizado para controle histológico o córtex do ovário direito foi fragmentado em pequenas amostras de 1 mm<sup>3</sup> e reimplantado na região subcapsular renal. Após 30 dias, as fêmeas foram eutanasiadas (nº protocolo CEUA: 23091.004792/2013-48) e os transplantes colhidos.

Para a análise macroscópica, foram observadas características relacionadas tanto ao tecido ovariano

quando ao tecido renal. Os critérios avaliados foram: fácil localização, presença de pontos hemorrágicos, presença de corpo lúteo, regressão do tecido transplantado e união dos fragmentos. Os dados obtidos foram expressos descritivamente através do uso de porcentagem.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

A recuperação dos transplantes ocorreu em 69,2% das fêmeas. Do restante, 26,9% não tiveram seu transplantes identificados e em 3,9% não houve desenvolvimento. Em todas as fêmeas observou-se aderência do rim com a parede abdominal, sem a presença de processo inflamatório. Acredita-se que a aderência ocorreu devido ao processo fisiológico de cicatrização.

Tabela 1. Valores proporcionais e porcentagem de achados macroscópicos de acordo com os critérios estabelecidos.

<b>Critério</b>	<b>Proporção/porcentagem</b>
Fácil localização	18/18 (100%)
Presença de pontos hemorrágicos	5/18 (27,77%)
Presença de corpo lúteo	0/18 (0%)
Regressão do tecido transplantado	2/18 (11,11%)
União dos tecidos	16/18 (88,88%)

### CONCLUSÕES

Pode se afirmar que o transplante autólogo ovariano alocado na região subcapsular renal é viável, demonstrando ser um procedimento praticável e satisfatório. Supõe-se que os animais transplantados desse experimento apresentaram desenvolvimento de folículos devido a posterior presença de pontos hemorrágicos nos fragmentos durante o período de recuperação.

Na análise macroscópica, foram avaliados alguns aspectos no momento da recuperação dos tecidos. Características como presença de pontos hemorrágicos e união dos tecidos comprovam a eficiência do sítio em garantir crescimento folicular e permanência dos transplantes, respectivamente (Tabela 1). A eleição da região subcapsular renal como sítio receptor de tecidos ovarianos ocorre devido a este sítio prevenir a retenção do tecido ovariano até que haja coaptação dos tecidos. Ademais, é sabido que o parênquima renal propicia uma melhor vascularização, evitando assim o crescente distanciamento do tecido transplantado do suprimento sanguíneo (Aerts et al., 2010).

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aerts, J. M. J.; Martinez-Madrid, B.; Leroy, J. L. M. R.; Aelst, S. V.; Bols, P. E. J. Xenotransplantation by injection of a suspension of isolated preantral ovarian follicles and stroma cells under the kidney capsule of nude mice. *Fertility and Sterility*. v. 94, n. 2, 2010.
- Christie, B. A.; Bjorling, D. E. Rins. In: Slatter, D. *Manual de Cirurgia de Pequenos Animais*. 2 ed, v.2, São Paulo: Manole, 1998, p 1698-1713.
- Demeestere, P. Simon, S. Emiliani, A. Delbaere, Y. Englert. Orthotopic and heterotopic ovarian tissue transplantation. *Human Reproduction Update*, v.15, n. 6 p. 649–665, 2009.
- Macedo, M. F.; Bezerra, M. B.; Vicente, W. R. R. Transplante ovariano: aplicações na reprodução de animais domésticos, silvestres e humanos. *Acta Veterinaria Brasilica*, v. 5, n. 1, p. 1-7, 2011.

## EFEITO DO GOSSIPOL SOBRE O DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO INICIAL EM CAMUNDONGOS FÊMEAS

[Effect of gossypol on early embryonic development in female mice]

Valesca Barreto Luz<sup>1\*</sup>, Ivana Cristina Lelis Gadelha<sup>2</sup>, Benito Soto-blanco<sup>5</sup>, Mikael Almeida Lima<sup>3</sup>, Marcelo Barbosa Bezerra<sup>4</sup>, Luiz Augusto Vieira Cordeiro<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Bolsista PNPd-CAPES. \*Autor para correspondência. E-mail: valesca\_barreto@hotmail.com.

<sup>2</sup> Aluna de pós graduação da Universidade Federal Rural do Semi-Árido.

<sup>3</sup> Aluno de graduação da Universidade Federal Rural do Semi-Árido.

<sup>4</sup> Professor da Universidade Federal Rural do Semi-Árido.

<sup>5</sup> Professor Adjunto II da Universidade Federal Minas Gerais.

**ABSTRACT:** It is known that some plant toxins affect the reproductive performance of females among these stands out gossypol. This study aimed to determine whether gossypol affects the survival of mouse embryos. Embryos derived from superovulated nulliparous females were cultured in HTF medium microdroplets (30 µl) supplemented with 10 µg/ml of gossypol (10% of total medium) and 10% fetal bovine serum in 5% CO<sub>2</sub> at 37 °C for 24 hours. Another group without gossypol were performed, named as control. After the cultivation, the embryos were incubated for 15 minutes in 100 µL solution of a Lucifer Yellow, Calcein and Hoechst fluorescent dye. The embryos from gossypol incubated group showed disuniform and degenerated blastomeres. In conclusion, gossypol (10 µg / ml) affects embryonic survival and cell viability of female mice.

**Keywords:** gossypol; embryo toxicity; female mice.

**Palavras-Chave:** gossypol; toxicidade embrionária; camundongos fêmeas.

### INTRODUÇÃO

O resíduo da extração do óleo do algodão é um importante alimento para animais, por ser uma fonte de proteína de alta qualidade e de outros componentes importantes, como o cálcio, fósforo, ferro e vitaminas, além do seu valor energético. No entanto, estes subprodutos possuem um fator antinutricional, o gossipol. Este é um pigmento fenólico de coloração amarelada, produzido pelas glândulas de pigmento encontradas nas raízes, talos, folhas e sementes das plantas pertencentes ao gênero *Gossypium*. Os efeitos do gossipol são cumulativos, e podem surgir abruptamente após um período variável de ingestão. Especificamente sobre a reprodução animal seus efeitos incluem a redução na qualidade do sêmen, interferência no ciclo estral das fêmeas e interrupção do desenvolvimento embrionário precoce (Soto-Blanco et al., 2008). Além disso, o gossipol reduz a ovulação e a concentração de progesterona circulante, provavelmente devido à capacidade dessas toxinas de inibir a resposta dos ovários às gonadotrofinas hipofisárias (Soto-Blanco et al., 2008; Gadelha et al., 2011). Apesar destes estudos, ainda não foi verificado se o gossipol afeta o desenvolvimento de embriões de camundongos fêmeas cultivados *in*

*vitro*. Portanto, o objetivo deste trabalho foi verificar o efeito do gossipol sobre o desenvolvimento *in vitro* de embriões de camundongos fêmeas.

### MATERIAL E MÉTODOS

Para tanto, fêmeas nulíparas foram anteriormente superovuladas, utilizando-se o seguinte protocolo: 20 UI de gonadotrofina coriônica equina (eCG). Em seguida, 48 a 52 horas após, 20UI de gonadotrofina coriônica humana (hCG), ambas administradas intraperitonealmente. Imediatamente após a administração de hCG, as fêmeas foram alojadas nas gaiolas dos machos na proporção de 1:1. Na manhã seguinte, as fêmeas que apresentavam espermatozoides no lavado vaginal foram consideradas prenhes e no dia 0 da gestação (D<sub>0</sub>). No dia 2 (D<sub>2</sub>), as fêmeas prenhes foram anestesiadas (xilazina e quetamina) e sacrificadas por deslocamento cervical para a colheita de embriões nas fases de 2-8 células. Após necropsia para remoção das tubas, estas foram imersas em meio Human Tubal Fluid modificado (HTFm) com 25mM HEPES e 20% soro fetal bovino (SFB). Os embriões foram retirados da tuba por meio de lavagens sequenciais com o auxílio de uma seringa

de 5 mL acoplada a agulha 30G contendo meio de cultura HTFm suplementado com SBF e HEPES. O líquido perfundido pelas tubas foi recolhido em placas de Petri de 60x10 mm estéreis e examinado sob microscopia de luz invertida, para a seleção e coleta dos embriões. Os embriões selecionados quanto ao número de blastômeros e qualidade morfológica de suas células, foram transferidos para novo meio de cultivo HTF sem HEPES suplementado com 10% de soro fetal bovino. Para o cultivo, lotes de 3 embriões foram recolhidos e depositados em microgotas (30 µl) de meio suplementado em placas de 35x10 mm. Foram testadas para nesses embriões somente o meio sem a adição de gossipol (grupo controle), e a concentração 10 µg/ml de gossipol (grupo gossipol) adicionada à gota. Estas gotas, foram imersas em óleo mineral e cultivados em estufa com 5% de CO<sub>2</sub> a 37 °C, por 24 horas. Após o cultivo, os embriões foram incubados por 15 minutos em gotas de 100 µl com os fluoróforos *Yellow Lucifer* (90 µl) e *Calceína* (5 µl) para a detecção de membranas rompidas, e de células em processo de morte celular, respectivamente. Além disso, foi utilizado o corante *Hoechst 33342* (5 µl) para verificar a configuração da cromatina.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Evidenciou-se a presença de blastômeros nos embriões incubados e corados do grupo controle, sendo visualizadas também as cromatinas. No grupo tratamento (10 µg/ml de gossipol) os embriões corados apresentaram blastômeros morfológicamente irregulares e degenerados, tipicamente característicos do padrão necrótico. Não foi observada condensação da cromatina e formação dos corpos apoptóticos, descartando desta forma a possibilidade de um processo apoptótico. Semelhante ao presente trabalho, Villaseñor et al.

(2008) também observaram que o gossipol afetou o desenvolvimento embrionário de vacas leiteiras tanto *in vivo* como *in vitro* após o consumo deste presente no algodão pima (*Gossypium barbadense*). Outro estudo mostrou, que novilhas alimentadas com gossipol possuíam menos blastômeros e o tempo de desenvolvimento destes era mais prolongado, comprovando sua ação tóxica embrionária (Lin et al., 1994).

### CONCLUSÃO

O gossipol (10 µg/ml) afeta a viabilidade e a sobrevivência de embriões de camundongos fêmeas.

### AGRADECIMENTOS

Ao técnico Francisco Alexandre de Araújo Almeida e a doutoranda Gabriela Liberalino Lima pelo suporte técnico.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Gadelha, I. C. N.; Nascimento, A. H.; Rangel, A.H.N.; Silva, A. R.; Soto-Blanco B. Efeitos do gossipol na reprodução animal. *Acta Veterinaria Brasilica*, v.5, n. 2, p.129-135, 2011.
- Soto-Blanco, B. *Gossipol e fatores anti-nutricionais* da soja. In: SPINOSA, H. S.; GÓRNIAC, S.L.; PALERMO NETO, J. (eds.) *Toxicologia aplicada à veterinária*. São Paulo: Manole, 2008. p. 531-545.
- Lin, Y. C.; Coskun, S.; Sanbuissho, A. Effects of in vitro bovine oocyte maturation and steroidogenesis in bovine granulosa cells. *Theriogenology*, v. 41, p. 1601-1611, 1994.
- Villaseñor, M.; Coscioni, A.C.; Galva, K. N.; Chebel, R. C.; Santos, J. E. P. Gossypol disrupts embryo development in heifers. *Journal of Dairy Science*, v. 91, p. 3015-3024, 2008.

## EFEITO DO GOSSIPOL SOBRE O DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO PRECOCE EM RATAS

*[Effect of gossypol on early embryonic development in rats]*

Ivana Cristina Nunes Gadelha<sup>1\*</sup>, Valesca Barreto Luz<sup>2</sup>, Luiz Augusto Vieira Cordeiro<sup>3</sup>, Nayanna Brunna da Silva Fonsêca<sup>1</sup>, Michelly Fernandes de Macêdo<sup>3</sup>, Benito Soto-Blanco<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Aluno de pós graduação da Universidade Federal Rural do Semi-Árido. \*Autor para correspondência. E-mail: ivanacris@bol.com.br.

<sup>2</sup> Bolsista PNPd-CAPES.

<sup>3</sup> Professor (a) da Universidade Federal Rural do Semi-Árido.

<sup>4</sup> Professor Adjunto II da Universidade Federal Minas Gerais.

**ABSTRACT**-The toxic effects of gossypol causes a decline in reproductive performance in both males and females of various animal species. This study aimed to determine whether gossypol affects the survival of mouse embryos. Embryos derived from superovulated nulliparous females were cultured in HTF medium microdroplets (30 µl) supplemented with 10 µg/ml of gossypol (10% of total medium) and 10% fetal bovine serum in 5% CO<sub>2</sub> at 37 °C for 24 hours. Another group without gossypol were performed, named as control. After the cultivation, the embryos were incubated for 15 minutes in 100 µL solution of a Lucifer Yellow, Calcein and Hoechst fluorescent dye. The embryos from gossypol incubated group showed necrotic pattern, indicating a relation between gossypol dose/effect damaging the rat embryo survival.

**Keywords:** gossypol; embryo; toxicity.

**Palavras-Chave:** gossypol; embrião; toxicidade.

### INTRODUÇÃO

O gossypol é um pigmento amarelo presente em plantas da família Malvaceae, especialmente nas sementes das plantas do gênero *Gossypium*. Na alimentação animal, o farelo e a torta (resultante da prensa da semente do algodão), representa a segunda fonte de proteína para a alimentação animal. Já foi verificado que os efeitos tóxicos do gossypol representam um declínio no desempenho reprodutivo, tanto em machos como em fêmeas de várias espécies animais. Em fêmeas os efeitos metabólicos incluem anorexia, redução da taxa de crescimento, aumento dos níveis séricos de FSH, aumento de LH, redução de estrógeno, redução de progesterona, aumento do tempo do ciclo estral, ciclos estrais irregulares (Adams, 1995; Gadelha et al., 2011, Gu et al, 1990; Soto-Blanco, 2008). No entanto, ainda não foram verificados seus efeitos nocivos em embriões de ratas, modelo experimental de escolha por homologia à fisiologia humana.

Diante disto, este trabalho teve por objetivo verificar se o gossypol afeta a integridade e a viabilidade celular em embriões de ratas.

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas seis fêmeas nulíparas *Wistar*, previamente superovuladas com 40 UI de gonadotrofina coriônica equina e 40UI de gonadotrofina coriônica humana, após 48 a 52 horas, administradas intraperitonealmente. Imediatamente após a administração de hCG, as fêmeas foram alojadas nas gaiolas dos machos na proporção de 1:1. Na manhã seguinte, as fêmeas que apresentavam espermatozoides no lavado vaginal foram consideradas prenhes e no dia 0 da gestação (D<sub>0</sub>). No dia 2 (D<sub>2</sub>), as fêmeas prenhes foram anestesiadas (xilazina e quetamina), as tubas uterinas foram removidas por laparotomia e imediatamente imersas em meio Human Tubal Fluid modificado (HTFm) com 25mM HEPES e 20% soro bovino fetal, para a colheita de embriões nas fases de 2-8 células e em seguida, sacrificadas por deslocamento cervical.

Os embriões foram retirados da tuba por meio de lavagens sequenciais com o auxílio de uma seringa de 5mL acoplada a uma agulha 30G – BD contendo meio de cultura HTF suplementado com SBF e HEPES. O líquido perfundido pelas tubas foi recolhido em placas de Petri de 60X10 mm estéreis e examinado sob microscopia de luz invertida, para

a seleção e coleta dos embriões. Os embriões selecionados quanto ao número de blastômeros e qualidade morfológica de suas células, foram transferidos para novo meio de cultivo HTF sem HEPES suplementado com 10% de soro fetal bovino. Para o cultivo, lotes de 3 embriões foram recolhidos e depositados em microgotas (30 µl) de meio suplementado em placas de 35 x 10 mm. Foram testadas para essa espécie somente o meio constituindo o grupo controle e a concentração de gossipol a 10% (SIGMA) adicionada a gota. Estas gotas foram imersas em óleo mineral e cultivados em estufa com 5% de CO<sub>2</sub> a 37°C, por 24 horas. Após o cultivo, os embriões foram incubados por 15 minutos em gotas de 100 µl com os fluoróforos *Yellow Lucifer* (90 µl) e *Calceína* (5 µl) para a detecção de membranas rompidas, e de células em processo de morte celular, respectivamente. Além disso, foi utilizado o corante *Hoechst 33342* (5 µl) para verificar a para evidenciar ácidos nucleicos.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os cinco embriões do grupo controle, incubados e corados apresentaram evidência dos padrões dos blastômeros, sendo visualizadas também as cromatinas, desta forma, os embriões apresentavam-se normais. No grupo incubado na presença de gossipol 10% (4 embriões), podemos observar que todos os embriões sofreram degeneração, apresentando padrões necróticos. Não foram observadas outras alterações como relacionadas à apoptose como formação de *blebbings*, apenas o padrão típico de degeneração da organização morfológica e lise celular, condizentes com o processo necrótico. Nossos resultados estão de acordo com os de Villaseñor et al., 2008 os quais verificaram que o consumo de gossipol presente no algodão pima (*Gossypium*

*barbadense*) por vacas leiteiras reduziu o desenvolvimento de embriões *in vivo* e *in vitro*.

### CONCLUSÕES

Este trabalho evidenciou o efeito deletério do gossipol na performance reprodutiva dos animais, afetando a viabilidade e a sobrevivência dos embriões de ratas, o que pode ser uma evidência de uma ação similar em humanos e que deve ser mais profundamente explorado.

### AGRADECIMENTOS

Ao técnico Francisco Alexandre de Araújo Almeida e a doutoranda Gabriela Liberalino Lima pelo suporte técnico e Kizzy Millenn de Freitas Mendonça Costa responsável pelo Biotério de ratas da Universidade do Estado do Rio Grande do Norte.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adams, N. R. Detection of the effects of phytoestrogens on sheep and cattle. *Journal of Animal Science*, v.73, p.1509-1515, 1995.
- Gadelha, I. C. N.; Nascimento, A. H.; Rangel, A.H.N.; Silva, A. R.; Soto-Blanco B. Efeitos do gossipol na reprodução animal. *Acta Veterinaria Brasilica*, v.5, n. 2, p.129-135, 2011.
- Gu, Y.; Lin, Y. C.; Rikihisa, Y. Inhibitory effect of gossypol steroidogenesis pathways in cultured bovine and luteal cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, v. 169, 1990.
- Soto-Blanco, B. Gossipol e fatores anti-nutricionais da soja. In: SPINOSA, H. S.; GÓRNIAC, S.L.; PALERMO NETO, J. (eds.) *Toxicologia aplicada à veterinária*. São Paulo: Manole, p. 531-545, 2008.
- Villaseñor, M.; Coscioni, A.C.; Galva, K. N.; Chebel, R. C.; Santos, J. E. P. Gossypol disrupts embryo development in heifers. *Journal of Dairy Science*, v. 91, p.3015-3024, 2008.

## ESPERMATOGÊNESE EM CAMUNDONGOS PORTADORES DA DISTROFIA MUSCULAR DE DUCHENNE

*[Spermatogenesis in mice carriers of Duchenne Muscular Dystrophy]*

**Janine Karla França da Silva Braz<sup>1\*</sup>, Vilessa Lilian de Araújo Gomes<sup>1</sup>, Naianne Kelly Clebis<sup>1</sup>, Moacir Franco de Oliveira<sup>2</sup>, Carlos Eduardo Bezerra de Moura<sup>1</sup>, Danielle Barbosa Morais<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN. \*Autor para correspondência. E-mail: jani\_karla@yahoo.com.br.

<sup>2</sup> Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA.

**ABSTRACT** – This research aimed to characterize the spermatogenesis of carriers of DMD mice. Fragments of testis were fixed in 4% paraformaldehyde for 24 hours and processed for histological analysis. The spermatogenesis was evaluated by the morphology tubular method. Only a stage by tubular cross section was found. The stage VIII was the most frequent in both groups, with spermatogonia, primary spermatocytes in leptotene and pachytene, round and elongated spermatids and Sertoli cells. This research revealed no apparent changes in the spermatogenesis of DMD mice, and the application of quantitative analysis is needed later.

**Keywords:** spermatogenesis; seminiferous epithelium; Duchenne Muscular Dystrophy; mdx mice.

**Palavras-Chave:** espermatogênese; epitélio seminífero; Distrofia Muscular de Duchenne; camundongo mdx.

### INTRODUÇÃO

Estudos utilizando camundongos mdx<sup>3cv</sup>, portadores da Distrofia Muscular de Duchenne (DMD), mostraram alterações nos flagelos de espermatozoides com consequente diminuição da motilidade e redução na sua fecundidade (Hernández-González et al., 2005).

A DMD é marcada por lesões celulares resultantes do estresse oxidativo. Esse fenômeno pode intensificar a apoptose de células germinativas (Rao & Shaha, 2000), porém são escassas na literatura informações acerca do impacto da DMD sobre a espermatogênese. Neste sentido, esse trabalho tem como objetivo principal realizar a caracterização da espermatogênese de camundongos portadores da DMD.

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 20 camundongos machos, sendo 10 distróficos da linhagem C57BL/10Mdx e 10 não-distróficos (controle) provenientes dos Biotérios da FIOCRUZ/ Rio de Janeiro e do ICB/USP e FMVZ/USP, respectivamente. Este estudo foi aprovado pelo CEUA do ICB/USP (Parecer nº 164/2011 da CEUA/ICB/USP).

A eutanásia foi realizada em câmara de dióxido de carbono hermeticamente fechada. Em seguida os

testículos foram coletados e fixados em paraformaldeído 4% por 24 h. Os fragmentos testiculares foram processados seguindo etapas histológicas de rotina para inclusão em parafina histológica. Imagens foram obtidas em microscópio OLYMPUS para análises conforme o método da morfologia tubular descrito por Berndtson (1977).

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os animais de ambos os grupos expuseram epitélio seminífero (ES) com organização semelhante ao descrito para outros roedores, como preá (Santos et al., 2011), cutia (Assis Neto et al., 2003), rato, hamster chinês (Haaster & De Rooij, 1993) e capivara (Paula et al., 2002). Foram observadas as diferentes associações celulares que compõem cada um dos 8 estádios do ciclo do epitélio seminífero (CES), sendo encontrado apenas um estágio por secção transversal tubular, semelhante ao observado em outros mamíferos (Costa et al., 2004).

Houve prevalência do estágio VIII observada no ES de ambos os grupos, indicando que esse é o estágio de maior duração dentro do CES (Morais et al., 2013). Esse resultado foi semelhante ao encontrado em préas púberes (Santos et al., 2011). No estágio VIII foram observadas as células típicas que compõem os estádios: espermatogônias, espermátocitos primários em leptóteno e em



paquíteno, espermátides arredondadas e alongadas e células de Sertoli.

### CONCLUSÃO

A análise qualitativa do ES de camundongos distróficos e não distróficos não revelou alterações aparentes no parênquima testicular, sendo necessária a aplicação de análises quantitativas a fim de se inferir com mais precisão sobre a espermatogênese de camundongos portadores da DMD.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Assis Neto, A. C.; Carvalho, M. A. M.; Melo, M. I. V.; Miglino, M. A.; Oliveira, M. F.; Mariana, A. N. B. Fases do desenvolvimento e diferenciação testicular em cutias (*Dasyprocta aguti*) criadas em cativeiros. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v. 40, n.1, p.71-79, 2003.

Berndtson, W. E. 1977. Methods for quantifying mammalian spermatogenesis: a review. *Journal of Animal Science*, v.44, n.5, p. 818-883, 1977.

Costa, D. S.; Henry, M.; Paula, T. A. R. Espermatogênese em catetos (*Tayassu tajacu*). *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.56, n.1, p.46-51, 2004.

Haaster, L. H. V.; Rooij, D. G. Spermatogenesis is accelerated in the immature djungarian and Chinese hamster and rat. *Biology of Reproduction*, v.49, p.1229-1235, 1993.

Hernández-González, E. O.; Mornet, D.; Rendon, A.; Martínez-Rojas, D. Absence of dp71 in mdx<sup>3cv</sup> mouse spermatozoa alters flagellar morphology and the distribution of ion channel and nNos. *Journal of Cell Science*, v.118, p.137-145, 2004

Morais, D. B.; Paula, T. A. R.; Barros, M. S.; Balarini, M. K.; Freitas, M. B. D.; Matta, S. L. P. Stages and duration of the seminiferous epithelium cycle in the bat *Sturnira lilium*. *Journal of Anatomy*, v.222, p.372-379, 2013.

Paula, T.A.R., Costa, D. S., Matta, S. L. P. Avaliação histológica quantitativa do testículo de capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) adultas. *Bioscience Journal*, v.18, n.1, p.121-136, 2002.

Rao, A. V.; Shaha, C. Role of glutathione S-transferases in oxidative stress-induced male germ cell apoptosis. *Free Radical Biology and Medicine*, v.29, n.10, p.1015–1027, 2000.

Santos, P. R. S.; Carrara, T. V. B.; Silva, L. C. S.; Silva, A. R.; Oliveira, M. F.; Assis Neto, A.C. Caracterização morfológica e frequência dos estádios do ciclo do epitélio seminífero em preás (*Galea spixii* Wagler, 1831) criados em cativeiro. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.31, n.1, p.18-24, 2011.

## HISTOLOGIA TESTICULAR DE CAMUNDONGOS PORTADORES DA DISTROFIA MUSCULAR DE DUCHENNE

*[Testicular histology of mice carriers of Duchenne Muscular Dystrophy]*

**Janine Karla França da Silva Braz<sup>1\*</sup>, Vilessa Lilian de Araújo Gomes<sup>1</sup>, Naianne Kelly Clebis<sup>1</sup>, Moacir Franco de Oliveira<sup>2</sup>, Carlos Eduardo Bezerra de Moura<sup>1</sup>, Danielle Barbosa Morais<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN. \*Autor para correspondência. E-mail: jani\_karla@yahoo.com.br.

<sup>2</sup> Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA.

**ABSTRACT** – This research aimed to characterize the spermatogenesis of carriers of DMD mice. Fragments of testis were fixed in 4% paraformaldehyde for 24 hours and processed for histological analysis. The spermatogenesis was evaluated by the morphology tubular method. Only a stage by tubular cross section was found. The stage VIII was the most frequent in both groups, with spermatogonia, primary spermatocytes in leptotene and pachytene, round and elongated spermatids and Sertoli cells. This research revealed no apparent changes in the spermatogenesis of DMD mice, and the application of quantitative analysis is needed later.

**Keywords:** spermatogenesis; seminiferous epithelium; Duchenne Muscular Dystrophy; mdx mice.

**Palavras-Chave:** espermatogênese; epitélio seminífero; Distrofia Muscular de Duchenne; camundongo mdx.

### INTRODUÇÃO

Estudos utilizando camundongos mdx<sup>3cv</sup>, portadores da Distrofia Muscular de Duchenne (DMD), mostraram alterações nos flagelos de espermatozoides com consequente diminuição da motilidade e redução na sua fecundidade (Hernández-González et al., 2005).

A DMD é marcada por lesões celulares resultantes do estresse oxidativo. Esse fenômeno pode intensificar a apoptose de células germinativas (Rao & Shaha, 2000), porém são escassas na literatura informações acerca do impacto da DMD sobre a espermatogênese. Neste sentido, esse trabalho tem como objetivo principal realizar a caracterização da espermatogênese de camundongos portadores da DMD.

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 20 camundongos machos, sendo 10 distróficos da linhagem C57BL/10Mdx e 10 não-distróficos (controle) da linhagem C57BL/10 provenientes dos Biotérios da FIOCRUZ/ Rio de Janeiro e do ICB/USP e FMVZ/USP, respectivamente. Este estudo foi aprovado pelo CEUA do ICB/USP (Parecer nº 164/2011 da CEUA/ICB/USP).

A eutanásia foi realizada em câmara de dióxido de carbono hermeticamente fechada. Em seguida os testículos foram coletados e fixados em paraformaldeído 4% por 24 h. Os fragmentos testiculares foram processados seguindo etapas histológicas de rotina para inclusão em parafina histológica. Imagens foram obtidas em microscópio OLYMPUS para análises conforme o método da morfologia tubular descrito por Berndtson (1977).

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os animais de ambos os grupos apresentaram epitélio seminífero (ES) com organização semelhante ao descrito para outros roedores, como preá (Santos et al., 2011), cutia (Assis Neto et al., 2003), rato, hamster chinês (Haaster & De Rooij, 1993) e capivara (Paula et al., 2002). Foram observadas as diferentes associações celulares que compõem cada um dos 8 estádios do ciclo do epitélio seminífero (CES), sendo encontrado apenas um estágio por secção transversal tubular, semelhante ao observado em outros mamíferos (Costa et al., 2004).

Houve prevalência do estágio VIII no ES de ambos os grupos, indicando que esse é o estágio de maior duração dentro do CES (Morais et al., 2013), semelhante ao encontrado em préas púberes (Santos et al., 2011). Foram observadas as células típicas que compõem este estágio: espermatogônias,

espermátocitos primários em leptóteno e em paquíteno, espermátides arredondadas e alongadas e células de Sertoli. Esta maior prevalência do estágio VIII pode estar relacionada a uma elevada produção espermática, uma vez que este é o estágio final de maturação das espermátides.

### CONCLUSÃO

A análise qualitativa do ES de camundongos distróficos e não distróficos não revelou alterações aparentes no parênquima testicular, sendo necessária a aplicação de análises quantitativas a fim de se inferir com mais precisão sobre a espermatogênese de camundongos portadores da DMD.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Assis Neto, A. C.; Carvalho, M. A. M.; Melo, M. I. V.; Miglino, M. A.; Oliveira, M. F.; Mariana, A. N. B. Fases do desenvolvimento e diferenciação testicular em cutias (*Dasyprocta aguti*) criadas em cativeiros. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v. 40, n.1, p.71-79, 2003.
- Berndtson, W. E. 1977. Methods for quantifying mammalian spermatogenesis: a review. *Journal of Animal Science*, v.44, n.5, p. 818-883, 1977.
- Costa, D. S.; Henry, M.; Paula, T. A. R. Espermatogênese em catetos (*Tayassu tajacu*). *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.56, n.1, p.46-51, 2004.
- Haaster, L. H. V.; Rooij, D. G. Spermatogenesis is accelerated in the immature djungarian and Chinese hamster and rat. *Biology of Reproduction*, v.49, p.1229-1235, 1993.
- Hernández-González, E. O.; Mornet, D.; Rendon, A.; Martínez-Rojas, D. Absence of dp71 in mdx<sup>3cv</sup> mouse spermatozoa alters flagellar morphology and the distribution of ion channel and nNos. *Journal of Cell Science*, v.118, p.137-145, 2004.
- Morais, D. B.; Paula, T. A. R.; Barros, M. S.; Balarini, M. K.; Freitas, M. B. D.; Matta, S. L. P. Stages and duration of the seminiferous epithelium cycle in the bat *Sturnira lilium*. *Journal of Anatomy*, v.222, p.372-379, 2013.
- Paula, T.A.R., Costa, D. S., Matta, S. L. P. Avaliação histológica quantitativa do testículo de capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) adultas. *Bioscience Journal*, v.18, n.1, p.121-136, 2002.
- Rao, A. V.; Shaha, C. Role of glutathione S-transferases in oxidative stress-induced male germ cell apoptosis. *Free Radical Biology and Medicine*, v.29, n.10, p.1015-1027, 2000.
- Santos, P. R. S.; Carrara, T. V. B.; Silva, L. C. S.; Silva, A. R.; Oliveira, M. F.; Assis Neto, A.C. Caracterização morfológica e frequência dos estágios do ciclo do epitélio seminífero em preás (*Galea spixii* Wagler, 1831) criados em cativeiro. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.31, n.1, p.18-24, 2011.

## MACROSCOPIA DE TECIDO CORTICAL OVARIANO AUTOTRANSPLANTADO PARA PERIMÉTRIO E REGIÃO SUBCUTÂNEA ABDOMINAL EM CAMUNDONGAS BALB-C

[*Macroscopy of ovarian cortical tissue autografted to perimetrium and abdominal subcutaneous region in Balb-c female mice*]

**Fernanda Araujo dos Santos<sup>1\*</sup>, Muriel Magda Lustosa Pimentel<sup>1</sup>, Nayara Almeida do Carmo<sup>2</sup>, Roberta Gonçalves Izzo<sup>3</sup>, Michelly Fernandes de Macedo<sup>4</sup>, Marcelo Barbosa Bezerra<sup>4</sup>**

<sup>1</sup> Aluna do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal – UFERSA, Mossoró-RN. \* Autor para correspondência: E-mail: nanda\_asantos@hotmail.com.

<sup>2</sup> Mestre em Ciência Animal – UFERSA, Mossoró-RN.

<sup>3</sup> Aluno de graduação do curso de Medicina Veterinária, – UFERSA, Mossoró-RN.

<sup>4</sup> Professor do departamento de Ciências Animais, – UFERSA, Mossoró-RN.

**ABSTRACT** - The aim of this study was to evaluate the macroscopy of ovarian autotransplantation performed in perimetrium and abdominal subcutaneous region of Balb-c mice. Thus, we used 8 Balb-c mice that were randomly subdivided into 2 groups: G1 – ovarian tissue grafted in perimetrium and G2 – ovarian tissue grafted in abdominal subcutaneous region. After 30 days, grafts were recovered in 75% of mice in each group. Thus, we can conclude that the receptor sites were viable ovarian autotransplantation in mice.

**Keywords:** transplantation; ovarium; Balb-c female mice; macroscopic evaluation.

**Palavras-Chave:** transplante; ovário; camundongas Balb-c; avaliação macroscópica.

### INTRODUÇÃO

O ato de introduzir cirurgicamente o ovário inteiro ou fragmentos menores de tecido ovariano de um animal nele mesmo, próximo ou distante de sua posição anatômica original é definido como autotransplante ovariano (Macedo et al., 2011).

O sucesso da técnica, o desenvolvimento dos fragmentos e a recuperação das funções ovarianas de acordo com o objetivo almejado estão intimamente relacionados com a escolha do sítio receptor devendo-se levar em consideração também a vascularização do local, a capacidade de permitir o desenvolvimento folicular, possibilidade de concepção natural, facilidade do procedimento, acesso conveniente para a coleta de oócitos e volume de tecido transplantado (Demeestere et al., 2009).

Para avaliar o sucesso do transplante de ovário, uma das ferramentas utilizadas é a realização da avaliação macroscópica por laparotomia ou imediatamente post-mortem, que pode indicar dados como taxa de recuperação dos transplantes, tamanho e aspecto do fragmento de tecido transplantado. Portanto, o objetivo desse trabalho

foi avaliar macroscopicamente o autotransplante ovariano realizado no subcutâneo abdominal e perimétrio de camundongas Balb-c.

### MATERIAL E MÉTODOS

Oito camundongas Balb-c, foram submetidas à ovariossalpingectomia bilateral. Amostras de córtex ovariano de aproximadamente 1 mm<sup>3</sup> foram isoladas e encaminhadas para transplante em ambos os grupos. O grupo I (G1, n = 4) recebeu o transplante no perimétrio e grupo II (G2, n = 4) com amostras sobre o tecido subcutâneo, na região abdominal. Trinta dias após a cirurgia, as fêmeas foram eutanasiadas (protocolo CEUA 23091.002332/2013-85) e os transplantes avaliados e retirados. Os dados relativos à macroscopia dos tecidos receptor e transplantados foram expressos descritivamente.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

A recuperação dos transplantes ocorreu em 75% das camundongas em ambos os grupos G1 e G2 (Tabela 1). Além disso, todos os transplantes retirados se apresentavam circundados por tecido conjuntivo e não foi observada macroscopicamente

neovascularização em ambos os grupos. Acredita-se que os transplantes não recuperados foram reabsorvidos, pois foram observadas faixas fibrosas de tecido branco (tecido conjuntivo) no local do transplante, achados semelhantes foram descritos por Weissman et al. (1999) ao avaliar os transplantes de córtex ovariano para região subcutânea de mulheres.

Os transplantes retirados do grupo G1 apresentavam tamanho médio de  $5,83 \pm 2,92 \times 2,67 \pm 0,67$  mm. Por outro lado, os tecidos colhidos do G2, apresentaram-se encapsulados em um

fragmento único, com tamanho médio de  $3,67 \pm 1,76 \times 2,33 \pm 0,58$  mm. O aumento no tamanho dos fragmentos observado no grupo I pode ser consequência do desenvolvimento do tecido transplantado derivados do aumento de tamanho folicular e da proliferação de fibroblastos, efeito esse diferente do já relatado por outros estudos com criopreservação e xenotransplante, cujos autores observaram redução do tamanho dos fragmentos (Huang et al., 2010) ou nenhuma mudança no tamanho (Wang et al., 2002). Assim sendo, em condições de autotransplante a fresco, o aumento é esperado.

Tabela 1. Características dos fragmentos ovarianos transplantados e recuperados 30 dias após a inserção de acordo com os sítios receptores.

Grupos experimentais	Tamanho do frag.	Quant. de frag./animal	Total transplantado (animais)	Total recuperado (animais)	Total encapsulado
G1 (n = 4)	3 mm <sup>2</sup>	1	4	3	3
G2 (n = 4)	1 mm <sup>2</sup>	3	4	3	3

G1 – transplante no perimétrio; G2 – transplante no subcutâneo.

### CONCLUSÕES

Conclui-se que o perimétrio e o subcutâneo abdominal foram sítios receptores viáveis para o desenvolvimento de amostras de córtex ovarianos de camundongas, quando autotransplantadas a fresco.

### REFERÊNCIAS

Demeestere, I., Simon, P., Emiliani, S., Delbaere, A., Englert, Y. Orthotopic and heterotopic ovarian tissue transplantation. *Human Reproduction Update*, v. 15, n. 6, p.649-665, 2009.

Huang, K. Y., De Groot, S. A., Woelders, H., Van Der Horst, G. T., Themmen, A. P., Colenbrander, B., Fentener Van Vlissingen, J. M. Functionality of cryopreserved juvenile ovaries from

mutant mice in different genetic background strains after allotransplantation. *Cryobiology*, v. 60, n. 2, p.129-137, 2010.

Macedo, M. F.; Bezerra, M. B.; Vicente, W. R. R. Transplante ovariano: aplicações na reprodução de animais domésticos, silvestres e humanos. *Acta Veterinaria Brasilica*, v. 5, n. 1, p.1-7, 2011.

Wang, H., Mooney, S., Wen, Y., Behr, B., Polan, M. L. Follicle development in grafted mouse ovaries after cryopreservation and subcutaneous transplantation. *American journal of obstetrics and gynecology*, v. 187, n. 2, p. 370-374, 2002.

Weissman, A., Gotlieb, L., Colgan, T., Jurisicova, A., Greenblatt, E. M., Casper, R. F. Preliminary experience with subcutaneous human ovarian cortex transplantation in the NOD-SCID mouse. *Biology of Reproduction*, v. 60, n. 6, p. 1462-1467, 1999.

## OPINIÃO DE ALUNOS DO CURSO DE BIOLOGIA UECE/FAFIDAM SOBRE A REPRODUÇÃO *IN VITRO* COMO ALTERNATIVA PARA A CONSERVAÇÃO DE ESPÉCIES

[Opinion of students of biology on reproduction *in vitro* as an alternative for the conservation of species]

Andresa Pereira da Silva<sup>1\*</sup>, Nayara de Castro Chaves<sup>2</sup>, Carlos Antônio Sombra Junior<sup>3</sup>, Wendell Saldanha Paulino<sup>4</sup>, Katiane Queiroz da Silva<sup>5</sup>, Maria Vanessa da Costa de Deus<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Iniciação Científica Voluntária, Graduada em Tecnologia em Agronegócio do Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia IFCE– Campus Limoeiro do Norte-Ce. \*Autor para correspondência. E-mail: andresa\_pereira08@hotmail.com

<sup>2</sup> Graduada do curso de Licenciatura Plena em Ciências Biológicas na Universidade Estadual do Ceará UECE/FAFIDAM.

<sup>3</sup> Graduando do curso de Licenciatura Plena em Ciências Biológicas na Universidade Estadual do Ceará UECE/FAFIDAM.

<sup>4</sup> Aluno do curso Técnico em Meio Ambiente do Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia IFCE– Campus Limoeiro do Norte-Ce.

<sup>5</sup> Professora Msc. em Zootecnia da Universidade Estadual do Ceará departamento Ciências biológicas UECE/FAFIDAM.

<sup>6</sup> Aluna de graduação Bacharelado em Agronomia do IFCE – Campus Limoeiro do Norte-Ce.

**ABSTRACT** - The overexploitation of the environment is causing the extinction of large numbers of species. Therefore, an alternative method to alleviate this problem would be the reproduction *in vitro*. This study was conducted through a structured questionnaire on the relevance of *in vitro* reproduction of animals as a method for the conservation of species, with 35 students who were attending the VII and VIII semester course Full Degree in Biological Sciences in the Faculty Philosophy Don Aureliano Matos (FAFIDAM/UECE). The questionnaire contained five questions, in which three and two some were only objective and other objective and discursive. The first point to be questioned was whether the *in vitro* reproduction or would not an efficient method for the conservation of species, and found that the majority (86 %) considered it efficient. As for the more conducive to reproduction *in vitro* site, 57 % of students cited the zoo, while 43 % cited the breeder. For some difficulties in this process, some said it could be the lack of financial resources (51 %), followed by lack of interest from agencies and professionals (23 %) and the lack of space (17 %) and lack prepared for reintroduction of animals in nature (9 %). The small mammals were mentioned by most respondents (60 %) as the most favorable group for the method of *in vitro* fertilization. Finally, we asked about the relevance of *in vitro* fertilization, asking that classify as very relevant or very relevant, and it was observed that 91 % regarded it as very important, while 9 % considered it relevant.

**Keywords:** extinction; reproduction *in vitro*; conservation.

**Palavras-Chave:** extinção; reprodução *in vitro*; conservação.

### INTRODUÇÃO

A extinção de espécies, muitas vezes, é um processo natural e gradual que tem como objetivo manter equilíbrio do número de especiações e mutações para o desenvolvimento de novas espécies. No entanto, a exploração excessiva do meio ambiente está conduzido em um elevado número de espécies à extinção (Costa; Martins, 2008).

Uma das alternativas para a conservação de espécies animais em extinção refere-se à reprodução *in vitro*, que auxiliará no aumento do número de indivíduos que poderão fazer parte de

programas de reintrodução ou acréscimo de espécies diretamente no meio ambiente. Contudo, essa reprodução e conseqüentemente reintrodução devem ser realizadas juntamente com a conservação e restauração do habitat natural desses indivíduos (Costa & Martins, 2008).

Devido a grande biodiversidade do Brasil, os recursos genéticos animais, tanto exóticos como nativos, constituem um dos mais promissores seguimentos da economia do país, assim, a reprodução *in vitro* vem a ser uma das importantes ferramentas disponíveis aos programas de melhoramento e conservação de recursos genéticos animais (Rumpf, 2007).

## MATERIAL E MÉTODOS

A presente pesquisa foi realizada através da aplicação de questionário estruturado sobre a relevância da reprodução *in vitro* de animais como método para a conservação de espécies, com 35 alunos que estavam cursando o VII e VIII semestre no curso de Licenciatura Plena em Ciências Biológicas na Faculdade de Filosofia Dom Aureliano Matos (FAFIDAM/UECE). O questionário continha cinco perguntas, em que, três eram apenas objetivas e as duas eram objetivas e discursivas.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi questionado aos entrevistados o que achavam sobre a reprodução *in vitro* para a conservação de espécies, se eles a consideravam como um meio eficiente ou não, e o que se constatou foi que a maioria (86%) considerou-o como sendo meio eficiente.

Quanto ao local mais propício para a reprodução *in vitro*, 57% dos alunos citaram o zoológico, enquanto 43% citaram o criadouro. Os que citaram o zoológico apontaram algumas justificativas, como por exemplo, sobre ele ser um lugar onde há uma variedade de espécies, além de já haver um trabalho de conservação de espécies em extinção, sendo assim o local ideal.

A maior dificuldade da reprodução *in vitro* em cativeiro, segundo os entrevistados, seria a falta de recursos financeiros (51%), seguido de falta de interesse de órgãos e profissionais (23%), além da

falta de espaço (17%) e da falta de preparado para a reintrodução dos animais na natureza (9%).

Outro ponto abordado na entrevista era quais grupos de animais seriam mais favoráveis para o método de reprodução *in vitro*. O grupo mais apontado foi o dos mamíferos de pequeno porte (60%), que segundo os entrevistados, apresentam maior facilidade ao processo, e também por apresentarem muitas espécies em extinção. Foram citados também os mamíferos de grande porte (20%), seguido de peixes (11%) e aves (9%).

Em relação à relevância do processo de reprodução *in vitro*, 91% a consideravam muito relevante, enquanto 9% a classificaram como pouco relevante.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Por meio deste trabalho foi possível ter uma ideia da visão que o estudante de Ciências Biológicas tem a respeito da reprodução *in vitro*, sendo ela, segundo a maioria dos estudantes, um método muito relevante e eficiente. Outro ponto observado é a associação que é feita entre o tema “conservação de espécies” e o zoológico, este sendo o local mais apontado pelos estudantes para esse método da reprodução *in vitro*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Costa, P. M.; Martins, C. F. Conservação de recursos genéticos animais através de biotécnicas de reprodução. *Universidade Ciências da Saúde*, v. 6, n. 1, p. 39-55, 2008.
- Rumpf, R. Avanços metodológicos na reprodução *in vitro* em embriões. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 36, suplemento especial, p. 229-233, 2007.

## RETORNO À CICLICIDADE EM CAMUNDONGAS BALB-C APÓS AUTOTRANSPLANTE OVARIANO

[Return to ovarian cyclicity after autotransplantation in Balb-c female mice]

**Fernanda Araujo dos Santos<sup>1\*</sup>, Muriel Magda Lustosa Pimentel<sup>1</sup>, Parmênedes Dias de Brito<sup>2</sup>, Roberta Gonçalves Izzo<sup>3</sup>, Michelly Fernandes de Macedo<sup>4</sup>, Marcelo Barbosa Bezerra<sup>4</sup>**

<sup>1</sup> Aluna do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal – UFERSA, Mossoró-RN. \* Autor para correspondência: nanda\_asantos@hotmail.com.

<sup>2</sup> Mestre em Ciência Animal – UFERSA, Mossoró-RN.

<sup>3</sup> Aluna de graduação do curso de Medicina Veterinária, – UFERSA, Mossoró-RN.

<sup>4</sup> Professor (a) do departamento de Ciências Animais, – UFERSA, Mossoró-RN.

**ABSTRACT** - The ovarian autotransplantation consists to insert surgically the entire ovary or small fragments from the same animal in himself, near or far from their original anatomical position. The aim of this study was to evaluate the vaginal cytology of Balb-c mice subjected to ovarian autograft in subcutaneous abdominal and perimetrium. For this, we used 12 adult female mice divided equally and randomly into 3 groups: G1 - control group, G2 – mice grafted at perimetrium and G3 - mice grafted subcutaneously. The return of cyclicity occurred in 75% of mice in G2 and 50% in G3. Thus, we conclude that ovarian tissue autografted subcutaneously and in perimetrium is feasible, with best results with perimetrium.

**Keywords:** transplantation; ovary; subcutaneous site; perimetrium site; estrous cycle.

**Palavras-Chave:** transplante; ovário; sítio subcutâneo; sítio perimétrico; ciclo estral.

### INTRODUÇÃO

A técnica de autotransplante ovariano pode ser indicada para restauração da fertilidade de mulheres e crianças que enfrentaram uma falha prematura dos ovários resultante de tratamentos quimioterápicos contra o câncer (Demeestere et al., 2009) e em estudos que visem o desenvolvimento ovariano a partir da fisiologia ou da administração de fármacos.

Para avaliar o sucesso do transplante de ovário, pode-se utilizar avaliação macroscópica e microscópica do transplante após colheita e citologia vaginal. Esta última consiste na avaliação não invasiva e pode confirmar a presença de atividade do tecido ovariano transplantado a partir da observação da mudança das células durante os dias de observação. Portanto, o objetivo desse trabalho foi avaliar a citologia vaginal de camundongas Balb-c submetidas ao autotransplante ovariano no subcutâneo abdominal e no perimétrico.

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas doze camundongas Balb-c, divididas aleatoriamente em três grupos experimentais com 4 animais em cada grupo. O

grupo I (G1) foi composto por animais que serviram como controle, grupo II (G2) foi composto por animais que receberam o fragmento ovariano no perimétrico, grupo III (G3) formado por animais que tiveram o tecido subcutâneo abdominal como sítio receptor. O córtex do ovário direito foi fragmentado e reimplantado nos locais especificados de acordo com os grupos. Cinco dias após a cirurgia, foi iniciado o lavado vaginal nas fêmeas, sendo este procedimento realizado a cada 12 horas, durante 25 dias. Após esse período, as fêmeas foram eutanasiadas e os transplantes retirados. As médias da duração das fases do ciclo estral foram comparadas pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na citologia vaginal dos animais dos grupos G1, G2 e G3, foram observadas as quatro fases do ciclo estral (proestro, estro, metaestro e diestro). No grupo G2 observou-se que 75% das fêmeas tiveram retorno da ciclicidade, ocorrendo o primeiro ciclo em  $240 \pm 48$  horas após a realização do transplante. No grupo G3, apenas 50% das fêmeas manifestaram o retorno do ciclo estral, que ocorreu  $264 \pm 96$  horas após a realização do transplante.



Todos os grupos tiveram o diestro como fase predominante (Tabela 1).

O retorno à ciclicidade das fêmeas transplantadas ocorreu mais rapidamente (8 - 14 dias) do que o observado em estudo anterior realizado com alotransplante ovariano de camundongas Balb-c (19 - 23 dias), independente da idade dos ovários doadores (ovário fetal de 16 dias) (Cox et al., 1996).

As fêmeas não apresentaram o ciclo estral no tempo normal para a espécie (96-120 horas) (Santos,

2002), tendo o grupo G1 apresentado ciclo com duração de 192±96 horas, grupo G2 de 240±96 horas e grupo G3 de 216±96 horas.

As fêmeas transplantadas tiveram aumento na duração do ciclo estral, sendo esse resultado observado nos animais do grupo controle (G1) também. A provável explicação para esse aumento, é que fêmeas alojadas em gaiolas, sem a presença de machos, podem ter tido o diestro como fase predominante.

Tabela 1. Duração (h) das fases do ciclo estral em função do local do transplante ovariano em camundongas Balb-c.

Grupos experimentais	Proestro	Estro	Metaestro	Diestro
G1(n = 4)	38 ± 12 <sup>ab</sup>	27 ± 20 <sup>ab</sup>	6 ± 2 <sup>ac</sup>	123 ± 30 <sup>aA</sup>
G2(n = 3)	45 ± 15 <sup>ab</sup>	25 ± 16 <sup>ab</sup>	7 ± 6 <sup>ac</sup>	139 ± 48 <sup>aA</sup>
G3(n = 2)	42 ± 6 <sup>ab</sup>	93 ± 51 <sup>ab</sup>	5 ± 2 <sup>ac</sup>	129 ± 39 <sup>aA</sup>

G1 – grupo controle; G2 – transplante no peritônio; G3 – transplante no subcutâneo.

Letras maiúsculas e minúsculas indicam diferença significativa dentro das linhas e dentro da coluna, respectivamente (Teste de Tukey(p<0,05)).

## CONCLUSÃO

Conclui-se que após realização do autotransplante ovariano há retorno à ciclicidade, sendo menor o tempo transcorrido até o retorno para os transplantes realizados no peritônio.

## REFERÊNCIAS

Cox, S. L.; Shaw, J.; Jenkin, G. Transplantation of cryopreserved fetal ovarian tissue to adult recipients in mice. *Journal of Reproduction and Fertility*, v. 107, n. 2, p. 315-322, 1996.

Demeestere, P. Simon, S. Emiliani, A. Delbaere, Y. Englert. Orthotopic and heterotopic ovarian tissue transplantation. *Human Reproduction Update*, v.15, n. 6 p. 649–665, 2009.

Macedo, M. F.; Bezerra, M. B.; Vicente, W. R. R. Transplante ovariano: aplicações na reprodução de animais domésticos, silvestres e humanos. *Acta Veterinaria Brasilica*, v. 5, n. 1, p. 1-7, 2011.

Santos, B. F. *Criação e manejo de camundongos*. In: Andrade A, Pinto SC, Oliveira RS. Animais de laboratório: criação e experimentação. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2002. p.115-8.

## RETORNO DO ESTRO EM CAMUNDONGAS BALB-C SUBMETIDAS AO AUTOTRANSPLANTE OVARIANO SOB A CÁPSULA RENAL

[*Estrus return in Balb-c female mice submitted to ovarian autografting under renal capsule*]

Roberta Gonçalves Izzo<sup>1\*</sup>, Fernanda Araujo dos Santos<sup>2</sup>, Ana Carolina Guimarães Teixeira<sup>1</sup>, Nyanne de Oliveira dos Santos<sup>1</sup>, Parmênedes Dias de Brito<sup>3</sup>, Marcelo Barbosa Bezerra<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Aluna de graduação do curso de Medicina Veterinária – UFERSA, Mossoró-RN. \*Autor para correspondência. E-mail: roroizzo@hotmail.com.

<sup>2</sup> Aluna do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal – UFERSA, Mossoró-RN.

<sup>3</sup> Mestre em Ciência Animal – UFERSA, Mossoró-RN.

<sup>4</sup> Professor do departamento de Ciências Animais – UFERSA, Mossoró-RN.

**ABSTRACT** - The aim of this study was to evaluate the vaginal cytology of Balb-c mice subjected to ovarian autograft under the kidney capsule. Thus, we used 36 adult female mice divided into 2 groups: GI – control group, GII – mice grafted. The return of cyclicity occurred in 62.5% of mice. Thus, we conclude that ovarian tissue autografted under the kidney capsule is feasible and the estrus return can be expected from the eighth day onwards.

**Keywords** – autograft; mice; vaginal cytology.

**Palavras-Chave:** autotransplante; camundonga; citologia vaginal; ciclo estral.

### INTRODUÇÃO

Na realização do autotransplante ovariano, o local de implantação é de grande importância (Demeestere et al., 2009) e por esse motivo a região subcapsular renal vem sendo largamente utilizada, pois oferece vantagens em relação à manutenção do tecido ovariano transplantado tais como temperatura e aporte vascular adequado ao desenvolvimento do transplante. Além disso, ambos os tecidos possuem a mesma origem embriológica (Christie; Bjorling, 1998).

O sucesso dessa técnica é visto através do desenvolvimento de pequenas amostras de córtex com retomada das funções ovarianas, que podem ser observados através de citologia vaginal. Nesta avaliação pode-se observar a ocorrência de ciclo estral e mudança nas fases do mesmo nas fêmeas submetidas ao transplante (CRESTANA, 2006). Dessa forma, este trabalho objetivou avaliar o retorno da ciclicidade de camundongas Balb-c submetidas ao autotransplante ovariano sob a cápsula renal.

### MATERIAL E MÉTODOS

Trinta e seis camundongas adultas da linhagem Balb-c foram divididas aleatoriamente em dois

grupos. O grupo I (GI, n = 10) composto por animais que serviriam como controle e grupo II (GII, n = 26) composto por animais que foram submetidos à ovariossalpingectomia bilateral. O córtex do ovário direito foi dividido em peças de aproximadamente 1 mm<sup>3</sup> e reintroduzidos sem reanastomose vascular sob a cápsula renal. Cinco dias após a cirurgia, iniciaram-se os lavados vaginais com solução salina a 0.9% nas fêmeas a cada 12 horas, durante 25 dias. Os esfregaços foram avaliados a fresco, sem coloração, e observados sob microscopia de luz em aumento de 20x para observação das características celulares, de acordo com o ciclo ovariano. As médias da duração das fases do ciclo estral foram comparadas pelo teste de Tukey (p < 0,05).

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em todas as fêmeas do experimento observou-se o seguinte padrão citológico: no proestro, presença de células epiteliais nucleadas e anucleadas; estro, células de descamação e/ou queratinizadas; metaestro, além das células observadas nas duas fases anteriores, havendo também a presença de leucócitos que estão normalmente aumentados na parede uterina durante o estro; e no diestro, grande concentração de leucócitos e muco. Todos os

grupos tiveram o diestro como fase predominante (Tabela 1).

Observou-se que 62,5% das fêmeas transplantadas apresentaram retorno da ciclicidade, sendo a primeira manifestação a partir de 192 horas (oito dias), com média de  $276 \pm 85$  horas (aproximadamente 11,5 dias) após a realização do transplante.

Neste estudo, as fêmeas avaliadas não apresentaram o ciclo estral no tempo normal para a espécie, que varia de 96 a 120 horas (Santos, 2002). O grupo I apresentou ciclo com duração de  $192 \pm 96$  horas e o grupo II de  $282 \pm 160$  horas. Tal diferença pode ser atribuída à variação existente entre os indivíduos e

no caso do GII mais tempo necessário para o reestabelecimento das funções do tecido ovariano, além disso, deve ser considerado o fato das fêmeas estarem alojadas em gaiolas sem os machos, tendo assim o diestro como fase predominante.

Outro achado interessante deveu-se à maior duração do estro nos animais transplantados em que foram observadas que quatro das 26 fêmeas utilizadas (15,3%) demonstraram persistência na fase do estro com variação de 300 a 432 horas, alterando consideravelmente o tempo médio do estro no GII. Curiosamente, essas fêmeas prosseguiram para as fases subsequentes mesmo após o tempo, indicando ser um processo temporário ainda que tardio.

Tabela 1. Duração (h) das fases do ciclo estral em função do local do transplante ovariano em camundongas Balb-c.

Grupos experimentais	Proestro	Estro	Metaestro	Diestro
GI (n = 10)	$38 \pm 12^{aB}$	$27 \pm 20^{bB}$	$6 \pm 2^{aC}$	$123 \pm 30^{bA}$
GII (n = 26)	$55 \pm 36^{aC}$	$229 \pm 128^{aB}$	$6 \pm 11^{aC}$	$307 \pm 127^{aA}$

GI – grupo controle; GII – grupo transplantado.

Letras maiúsculas e minúsculas indicam diferença significativa dentro das linhas e dentro da coluna, respectivamente (Teste de Tukey ( $p < 0,05$ )).

## CONCLUSÕES

Conclui-se que o estro pode ser observado a partir de oito dias após o autotransplante ovariano sob a cápsula renal de camundongas Balb-C, achado importante para a determinação do tempo mínimo do estro e para avaliação hormonal indireta, devido aos estrógenos produzidos a partir de folículos transplantados.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Crestana, F.M. *Autotransplantação de ovário no subcutâneo e consumo folicular em gatas domésticas (FELIS CATUS)*. UBERLÂNDIA, MINAS GERAIS, 2006;
- Christie, B. A.; Bjorling, D. E. Rins. In: SLATTER, D. *Manual de Cirurgia de Pequenos Animais*. 2 ed., v.2, São Paulo: Manole, 1998, p. 1698-1713.
- Demeestere, I., Simon, P., Emiliani, S., Delbaere, A., Englert, Y. Orthotopic and heterotopic ovarian tissue transplantation. *Human Reproduction Update*, v. 15, n. 6 p. 649-665, 2009.
- Santos, b. F. Criação e manejo de camundongos. In: Andrade A, Pinto SC, Oliveira RS. *Animais de laboratório: criação e experimentação*. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2002. p.115-8.

## **Bovinos**

## ASPIRAÇÃO FOLICULAR EM OVÁRIOS BOVINOS DA REGIÃO SEMIÁRIDA: TEMPO DE TRANSPORTE X QUALIDADE OOCITÁRIA

[Follicular aspiration in bovine ovaries of the semi-arid region: transport time x oocyte quality]

Érika Almeida Praxedes<sup>1</sup>, Joelma Martins Pereira de Lima<sup>1\*</sup>, Laysa Ohana Alves de Oliveira<sup>1</sup>, Fernanda Araujo dos Santos<sup>2</sup>, Alessandra Fernandes Pereira<sup>3</sup>, Marcelo Barbosa Bezerra<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Aluna de graduação do curso de Biotecnologia – UFERSA. \* Autor para correspondência. E-mail: mrsjoelminha@hotmail.com.

<sup>2</sup> Aluna do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal – PPCA/UFERSA.

<sup>3</sup> Professor do Departamento de Ciências Animais – UFERSA.

**ABSTRACT** – The selection of competent oocytes for *in vitro* maturation is a limiting factor for obtaining good results of the *in vitro* production of embryo (PIV). The test with brilliant cresyl blue (BCB) is conducted with the aim of minimizing the probability the use of oocytes that are not in stage of development and therefore are not useful for PIV. Bovine ovaries from slaughterhouses were divided into two groups: a) ovaries transported for 4 h (T4) and for 9 h (T9) after slaughter at 35-37°C. The oocytes were categorized according to the number of layers of *cumulus* cells (G-I to G-IV) for further incubation with BCB. After incubation, the structures were washed two times in PBS and evaluated under stereomicroscope, as blue (viable) and colorless (non-viable) oocytes. T4 oocytes exhibit increased oocytes stained grades I and II, while T9 stained regardless of the degree of its structure. Thus, we can conclude that the time between the aspiration and the beginning of the maturation process may compromise oocyte competence.

**Keywords:** brilliant cresyl blue (BCB); bovine; oocytes; ovary.

**Palavras-Chave:** azul cresil brilhante (BCB); bovino; oócitos; ovário.

### INTRODUÇÃO

A recuperação de oócitos é realizada a partir da aspiração de folículos ovarianos bovinos provenientes de abatedouros. Contudo, fêmeas abatidas apresentam variações na resposta reprodutiva e seus oócitos são normalmente heterogêneos em termos de qualidade, desenvolvimento e competência (Alm et al., 2005). Oócitos em crescimento possuem uma atividade elevada da enzima Glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH), mas que está diminuída em oócitos que atingiram seu crescimento final. Sabe-se que essa enzima possui a capacidade de degradar o corante Azul Cresil Brilhante (BCB) no interior do oócito, tornando seu citoplasma incolor (Heleil et al., 2010). Assim, esse corante facilita a seleção de oócitos completamente crescidos (corados em azuis) daqueles em crescimento (incolors). O tempo de transporte do abatedouro até o laboratório onde será realizado o experimento pode interferir na viabilidade dos oócitos e nas próximas etapas da produção *in vitro* (Leivas et al., 2004; Tessmann et al., 2004). Dessa forma, objetivo do presente estudo foi comparar dois períodos de transporte de ovários

bovinos sobre as características quantitativas e qualitativas de oócitos utilizando o teste do BCB.

### MATERIAL E MÉTODOS

Os ovários foram transportados do Abatedouro até o Laboratório de Transplantes Gonadais e Produção *in vitro* de Embriões (LTG-PIVE) em solução salina aquecida (35-37°C), em dois períodos de transporte: o primeiro grupo, com aspiração realizada 4 h após o abate (T4) e o segundo 9 h após o abate (T9). Os procedimentos de aspiração foram realizados com o auxílio de bomba de aspiração a vácuo com pressão de 50 mgHg em folículos de 2 a 8 mm. Ao final da aspiração, o líquido folicular foi mantido em repouso por cerca de 10 min, após o qual o sobrenadante foi descartado e o sedimento contendo os oócitos foi depositado em uma placa de petri e avaliados sob estereomicroscópio quanto à sua morfologia, de acordo com a homogeneidade do citoplasma e número de camadas de células do *cumulus*, em grau I a grau IV (G1-GIV). Para posterior incubação com o corante Azul Cresil Brilhante (BCB) todos os oócitos foram incubados em função do grau, em

gotas aquecidas de BCB (10-15 estruturas/gota) por 90 min à 38,5°C. Ao final da incubação, as estruturas foram lavadas 2x em fosfato tampão salino (PBS) e avaliadas em estereomicroscópio como estruturas azuis (viáveis) e incolores (não viáveis).

## RESULTADOS

Após três repetições, um total de 50 ovários divididos em T4 (n=25) e T9 (n=25) resultaram em 127 e 137 oócitos, perfazendo uma média de 5,1 e 5,5 oócitos/ovário para os grupos T4 e T9, respectivamente. Os oócitos de graus I e II, os de maior interesse para a produção *in vitro* de embriões, somaram 75 estruturas (59,1%) em T4, ao passo que no momento T9 houve 56 estruturas (~40,8%). Os resultados com BCB demonstraram que houve coloração nos graus I a III em 64 oócitos dos 127 observados (50,4%) no T4, ao passo que houve reação de coloração no T9 independente do grau da estrutura.

## CONCLUSÃO

Os resultados apresentados corroboram com a hipótese de que os oócitos corados com BCB

possam estar completamente desenvolvidos e àqueles não corados são estruturas ainda em desenvolvimento. Mais informações sobre o metabolismo da G6PDH precisam ser esclarecidos, sobretudo em diferentes condições de manutenção oocitária.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alm, H., Toner, H., Lohrke, B., Viergutz, B., Ghoneim, I. M., Kanitz, W. Bovine blastocyst development rate *in vitro* is influenced by selection of oocytes by brilliant cresyl blue staining before IVM as indicator for glucose-6-phosphate dehydrogenase activity. *Theriogenology*. v.63, p.2194-2205, 2005.
- Leivas, F. G.; Brun, D. S.; Mezzalira, A.; Pilla, L. F. C.; Bernardi, M. L.; Rubin, M. I. B.; Silva, C. A. M. Transporte de oócitos bovinos em meio de maturação sem controle de atmosfera gasosa. *Ciência Rural*, v. 34, n. 1, p. 219-224, 2004
- Heleil, B., Kuzmina, T., Novikova, N., Torner, H., Alm, H. Effect of prolactina on development competence bovine oocytes selected by brilliant cresyl blue staining. *Journal of Reproduction and Infertility*. v.1, n.1, p.1-7, 2010.
- Tessmann, J. V. *Transporte-Maturação de oócitos bovinos em palhetas*. 2004. 33f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS.

## ATUAÇÃO DAS CÉLULAS DO *CUMULUS* NA FERTILIZAÇÃO *IN VITRO* DE OÓCITOS BOVINOS

[Action of cumulus cells on in vitro fertilization of bovine oocytes]

Pábola Santos Nascimento<sup>1\*</sup>, Maiana Silva Chaves<sup>1</sup>, Elizabete Teixeira<sup>1</sup>, Antonio Santana dos Santos Filho<sup>2</sup>, Cláudio Coutinho Bartolomeu<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal Rural de Pernambuco, Garanhuns-PE, Brasil. \*Autor para correspondência. E mail: ccbartol@gmail.com.

<sup>2</sup>Instituto Agronômico de Pernambuco, Recife-PE, Brasil.

**ABSTRACT** - The cumulus cells are key structures related to oocyte training. Be present at the moment of fertilization, according to their functions seems to help the results of cleavage rate. However, to relate them to the characteristics of sperm, their presence is questionable. This experiment evaluated through matured and divided into two treatments (T1 and T2), bovine oocytes if there is a positive influence of the withdrawal of a portion of cumulus cells leaving only a layer of these cells prior to in vitro fertilization at the meeting of sperm with oocyte production and reduces the dirt contamination and hence the plate. The technique was not significantly ( $p > 0.05$ ) cleavage rate, but in practice the alternatives generated in vitro. However more research was needed seeking higher rates of development and other factors that affect the process.

**Keywords:** blastocyst; cumulus; IVF.

**Palavras-Chave:** blastocisto; cumulus; FIV.

### INTRODUÇÃO

As células do *cumulus* são estruturas fundamentais relacionadas à capacitação oocitária (Hafez, 2004). O fato de estar presente no momento da fertilização, de acordo com suas funções de captação do oócito pelas fimbrias, atração e seleção de espermatozoides, auxílio na capacitação espermiática, reação acrossomal e penetração, e prevenção do endurecimento precoce da zona pelúcida (Campos et al, 2011), parecem auxiliar nos resultados da taxa de clivagem. Entretanto, ao relacioná-las às características dos espermatozoides submetidos a capacitação espermiática na fertilização *in vitro*, que sugerem uma relação direta entre redução do gasto energético e menor taxa de fertilização, sua presença torna-se questionável (Agarwal et al., 2005).

O presente experimento avaliou se há influência positiva da retirada de uma porção das células do *cumulus* deixando apenas uma camada dessas células antes da fertilização *in vitro*.

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados oócitos bovinos provenientes de ovários de abatedouro do Município de Arcoverde - PE, coletados imediatamente após o abate, e

transportados até o Laboratório de Reprodução e Melhoramento Genético Animal do Instituto Agronômico de Pernambuco- IPA em Arcoverde-PE, em garrafa térmica com solução fisiológica e gentamicina de 40mg, à uma temperatura de 37°C. Folículos de 2 a 8 mm de diâmetro foram aspirados, e após seleção dos oócitos classificados como Grau 1, seguiram para maturação por 24 horas em estufa úmida com atmosfera de 5% CO<sub>2</sub> à 38,5°C. Em seguida foram divididos em dois tratamentos: T1 desnudados após a maturação, antes da fertilização, e T2 desnudados após a maturação e fertilização. Para a fertilização foi utilizada uma palheta de sêmen de um único touro da raça Girolando 5/8, descongelada a 37°C/30min e os espermatozoides foram capacitados pelo método de lavagem por centrifugação. Oócitos e espermatozoides foram incubados por 18 horas sob as mesmas condições descritas anteriormente. Decorrido esse período, os possíveis zigotos foram lavados e colocados em meio SOF e retornaram à estufa para se desenvolverem. A taxa de clivagem foi avaliada no D3 considerando o dia da fertilização como D0.

Os dados obtidos foram analisados estatisticamente pelo Teste Qui-quadrado ao nível de 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O resultado mostrou que a técnica não alterou significativamente ( $P>0,05$ ) a taxa de clivagem ( $T1=85\%$ ;  $T2=94\%$ ), isto é, a taxa de clivagem não sofreu interferência entre a presença ou não do *cumulus* antes da fertilização o que difere da maioria dos estudos os quais afirmam que a integridade das células do *cumulus* adjacentes ao oócito resulta em melhores taxas de fecundação e desenvolvimento embrionário (Lonergan, 1994).

De acordo com Maia e Bicudo (2009), a manipulação do sêmen em bovinos é um fator que ativa a produção de espécies ativas de oxigênio (ROS) pelos espermatozoides, deixando-os passivos ao declínio de sua motilidade e viabilidade o que leva a crer que quanto mais rápida e fácil ocorra à fecundação melhores as taxas de clivagem, o que não foi visto neste trabalho. Cabe ressaltar que a retirada de algumas camadas das células do *cumulus*, deixando o oócito com apenas uma camada (desnudamento parcial mecânico), foi mais fácil quando realizada antes da fertilização, talvez pela menor produção de ácido hialurônico por estas células deixando o meio menos viscoso.

A não diferença estatística entre os tratamentos deste estudo pode trazer uma opção no uso da técnica em laboratórios, pois, a partir dele, sua

utilização se faz possível antes ou após a fertilização a depender da disponibilidade do técnico.

## CONCLUSÃO

Concluimos que as camadas de células que são preservadas durante o desnudamento antes da fertilização são suficientes para desempenhar suas funções e permitir a fecundação, podendo, essa técnica, ser utilizada como melhor convém aos laboratórios de produção *in vitro*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agarwal, A.; Prabakaran, S. A. Oxidative stress and antioxidants in male infertility: a difficult balance. Review article. *Iranian Journal of Reproductive Medicine*, n.1, p. 1-8, 2005.
- Campos, C. O. et al, 2011. Acesso em 03 de janeiro de 2014. Disponível em: <<http://files.bvs.br/upload/S/0100-7254/2011/v39n4/a2484.pdf>>
- Hafez, E. S. E.; Hafez B. Transporte e sobrevivência de gametas. In: Hafez, E.S.E. & Hafez, B., *Reprodução Animal*. Barueri-SP, p.83-96, 2004.
- Lonergan, P., The application of in vitro fertilization techniques to the prediction of bull fertility. *Reprod. Dom. Anim.* v. 29, p.12-21, 1994.
- Maia, M.S.; Bicudo S.D. Radicais livres, antioxidantes e função espermática em mamíferos: uma revisão. *Revista Brasileira Reprodução Animal*, Belo Horizonte, v.33, 2009.



## AVALIAÇÃO DE PROTOCOLOS DE IATF EM VACAS MISTIÇAS SOB EFEITO DO ESTRESSE TÉRMICO CRIADAS NO SEMIÁRIDO NORDESTINO

[Evaluation of protocols in IATF mestizo cows under effect of heat stress created in northeastern semiarid]

José Maria Freire de Medeiros<sup>1\*</sup>, Leonardo Lelis de Macedo Costa<sup>3</sup>, Valesca Barreto Luz<sup>2</sup>, Priscila Silvana Bertavello<sup>4</sup>, Luiz Augusto Vieira Cordeiro<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, RN. \*Autor para correspondência. E-mail para contato: jm.freire@bol.com.br.

<sup>2</sup> PNPd-CAPEs, Brasil.

<sup>3</sup> Depto. Ciências Animais da Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, RN.

<sup>4</sup> Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade do Estado do Rio Grande do Norte, Mossoró, RN.

**ABSTRACT-** Heat stress is a factor of economic losses linked to low results in pregnant cows. Artificial insemination results can be intensively harmed in regions with high ambient temperatures, like the Brazilian semiarid. This study aimed to determine the impact of heat stress on time fixed artificial insemination protocols (TFAI) in heifers. Five different TFAI protocols were performed in groups of 12 heifers under heat stress. In all groups, the mean rectal temperature was equal to or above the limit physiologically accepted of 39.2 ° C. In the period of treatment, it was observed a mean of 70.00 ± 2.0% for relative humidity and air temperature with a mean of 27.5 ± 2.0 ° C. These environmental parameters directly interfered in rectal temperature and may have affected the results of pregnant/artificial insemination that was above 25% in all treatments.

**Keywords:** heatstress; TFAI; bovines

**Palavras-Chave:** estresse térmico; IATF; bovinos.

### INTRODUÇÃO

A inseminação artificial (IA) é a biotécnica da reprodução que permite o maior ganho zootécnico para o rebanho bovino leiteiro. A associação desta biotécnica com protocolos de indução do estro, que lançam mão da manipulação endócrina dos animais por utilização de hormônios, permite sincronizar o estro de um rebanho e facilitam o manejo e planejamento de uma propriedade, programando a data de inseminação, daí advém o nome da biotécnica como inseminação artificial por tempo fixo (IATF)(Gonçalves et al., 2008). O uso destes protocolos em vacas sob estresse térmico tem mostrado ser eficiente em aumentar a taxa de prenhez após o parto. Alguns estudos realizados têm mostrado uma melhora com o uso de protocolos de inseminação em torno de 8% em comparação ao método tradicional, por meio do qual é feita somente observação visual de estro (Hansen, 2005). No entanto, ainda não foram realizados tais protocolos em animais submetidos ao desconforto térmico.

O objetivo deste trabalho foi estudar o impacto do estresse térmico sobre protocolos de IATF na região semiárida nordestina em animais não confinados.

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 60 novilhas mestiças, levando-se em conta o peso corpóreo entre 252-483 kg de peso vivo e a idade entre 2-4 anos, mantidas em piquetes sem sombra. Os animais foram alimentados com volumoso em sistema de manejo com alternância de piquetes com capim Tifton 85, sal mineral e água *ad libitum*. Os animais foram divididos em 5 grupos experimentais, de 12 animais cada, os quais foram submetidos, aos tratamentos: G1 (Dia 0 (D0): inserção de P4 + benzoato de estradiol (BE); D10: remoção de P4+eCG e aplicação de BE; D11: IA). G2: (8 dias antes do D0 (-8D) aplicação de D-cloprostenol; - 6D e D0: GnRH; D7: aplicação de D-cloprostenol e GnRH; D9 e D10: IA). G3 (D0: inserção de P4+GnRH; D7: remoção do P4 e aplicação do D-cloprostenol; D8: GnRH e IA). G4 (semelhante ao grupo 2, no entanto, a IA foi realizada no D9. G5 (D0: implante de P4 + BE; D9:

remoção de P4 + D-cloprostenol; D11: aplicação de BE e 24h depois IA). Durante o experimento foram avaliados a temperatura retal assim como dos parâmetros ambientais, temperatura do ar, umidade relativa e carga térmica radiante. A IA foi realizada entre os dias 15-27 de março de 2013. O diagnóstico de gestação feito por ultrassonografia, 30-60 dias após a IA. Os dados foram submetidos ao teste de Tukey a 5% de significância.

### RESULTADOS

Observamos que os dados médios de temperatura retal das vacas tratadas nos diferentes protocolos romperam o limite de 39,2°C, e sua oscilação acompanhou a dos valores médios de umidade relativa, em torno de 90%. A temperatura do ar durante o período experimental variou de 21,5°C a 38,5°C. A carga térmica radiante apresentou média de 550 Wm<sup>-2</sup>, sendo o valor máximo de 600 Wm<sup>-2</sup>. A taxa de prenhez, variou de 20 a 25%, mas não houve diferença estatística entre os resultados dos tratamentos. O protocolo 4 foi completamente

ineficaz nas condições do semiárido pois não houve confirmação de prenhez.

### CONCLUSÃO

A mensuração da temperatura retal dos animais evidenciou que os animais mantiveram-se constantemente sob estresse térmico, diretamente influenciados pelos fatores ambientais. Este desafio aos animais resultou em baixos resultados em prenhez para todos os protocolos porém, apenas o protocolo Cosynch foi completamente ineficaz para aquela realidade de manejo.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Gonçalves, P. B. D.; Oliveira, M. A. L.; Mezzalira, A.; Montagner, M. M., Visitin, J.A.; Costa, L.F.S. Produção *in vitro* de embriões. In: *biotécnicas aplicadas à reprodução animal*. São Paulo: Roca, 2008. p. 261-291.

Hansen, P. J. *Managing the heat-stressed cow to improve reproduction*. Proceedings of the 7 th western dairy management conference, p. 9-11, 2005.

## AVALIAÇÃO DO EFEITO DA MELATONINA SOBRE O GRAU DE QUALIDADE DE EMBRIÕES BOVINOS PRODUZIDOS *IN VITRO*

[Evaluation of the effect of melatonin on the quality grade of bovine embryos produced in vitro]

Luiz Harliton Cavalcante Monteiro Mota<sup>1</sup>, Felipe Pereira da Silva Barçante<sup>1\*</sup>, Ícaro Oliveira Torres de Souza<sup>1</sup>, Yndyra Nayan Teixeira Carvalho<sup>1</sup>, Savio Ruan Sampaio de Sousa<sup>1</sup>, José Adalmir Torres de Souza<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratório de Biotecnologia da Reprodução Animal - LBR, UFPI. \*Autor para correspondência. E-mail: felipebarçante@veterinario.med.br.

**ABSTRACT** - The present study evaluated the effect of melatonin on the degree of embryonic quality during the process of in vitro production of embryos. 512 cumulus-oocyte complexes of type I and II were submitted to in vitro production of embryos with 0 and 100 µM of melatonin in the maturation medium. There was no difference relative to the rate of cleavage 36.44% vs 32.93% and total viable embryos 16.44% vs 12.16% ( $p < 0.05$ ). Likewise, there was no difference in the degree of embryonic quality ( $p < 0.05$ ). Therefore, the medium supplemented with melatonin was not able to improve the cleavage rate, total viable embryos and quality of embryos fertilized in vitro.

**Keywords:** ROS; antioxidant; blastocyst; embryo quality.

**Palavras-Chave:** ROS; antioxidante; blastocisto; qualidade embrionária.

### INTRODUÇÃO

A qualidade e a integridade do oócito podem influenciar o sucesso da fertilização *in vitro*, assim como a competência do desenvolvimento até a fase de blastocisto. No entanto, durante o processo de ovulação, são produzidas dentro dos folículos espécies reativas de oxigênio (ROS), que levam ao estresse oxidativo, prejudicando o desenvolvimento *in vitro* dos oócitos até a fase de blastocisto (Papis et al., 2007). A melatonina que é conhecida por modular a função ovariana em mamíferos, atua também como uma eliminadora dos ROS, agindo como um potente antioxidante, evitando o estresse oxidativo durante a maturação oocitária e no desenvolvimento embrionário (Tsantarliotou et al., 2007). Diante disso, o objetivo desse trabalho foi avaliar os efeitos na melatonina adicionada ao meio de maturação *in vitro*, sobre a qualidade durante o desenvolvimento embrionário em bovinos.

### MATERIAL E MÉTODOS

O projeto foi desenvolvido no Laboratório de Biotecnologia da Reprodução Animal (LBR), da UFPI, durante o período de abril a junho de 2013. Os ovários foram obtidos de fêmeas bovinas abatidas em frigoríficos de Teresina-PI. No laboratório, os complexos *cumulus-oócitos* (CCOs) foram recuperados por aspiração e classificados de

acordo com a qualidade morfológica em Graus I, II, III e IV. Foram selecionados 512 CCOs de grau I e II, para maturação.

Os CCOs selecionados, foram maturados com 0 e 100 µM de melatonina, acrescido ao meio de maturação (Nutricell®), suplementado com 10% de SFB (Soro Fetal Bovino), sob óleo mineral em incubadora a 38,5 °C, por 22 horas, em 5% de CO<sub>2</sub> em ar. Após as 22 horas, os CCOs maturados foram transferidos para o meio de fecundação (Nutricell®) suplementado com Heparina e PHE (Nutricell®). O sêmen foi descongelado e submetido ao gradiente de Percoll. Em seguida foi determinada a concentração espermática e ajustada para 25 x 10<sup>6</sup> espermatozoides vivos/mL. Após a FIV, os prováveis zigotos foram transferidos para o meio SOF (Nutricell®) suplementado com 5% de SFB e mantidos em estufa à temperatura de 38,5 °C, em 5% de CO<sub>2</sub>, durante 7 dias. No quinto dia de cultivo foi realizado o (*feeding*). A avaliação da taxa de clivagem foi realizada com 48 horas de início da FIV e a formação de blastocisto após 168 horas. As taxas de clivagem e de blastócitos foram avaliadas pelo teste não-paramétrico de Qui-Quadrado ( $\chi^2$ ), e a comparação das medias pelo teste de Student-Newman-Keuls (SNK), ao nível de 5% de probabilidade. Os dados foram avaliados pelo programa SAS (Statistical Analysis System), versão 9.0 (SAS 2002).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente estudo, não houve diferença na taxa de clivagem (Tab. 1), 36,44% para 0  $\mu$ M de melatonina no meio de MIV e 32,93% para 100  $\mu$ M de melatonina no meio de MIV ( $p < 0,05$ ). Da mesma forma não houve diferença no Total de embriões viáveis (Tab. 1), 16,41% para 0  $\mu$ M de melatonina no meio de MIV e 12,16% para 100  $\mu$ M de melatonina no meio MIV ( $p < 0,05$ ). Com relação aos graus de qualidade embrionária (GI, GII, GIII)

(Tab.1), também não houve diferença significativa em ( $p < 0,05$ ). Esses resultados corroboram com Adona et al., (2008), onde a adição de 100  $\mu$ M de melatonina no meio de maturação *in vitro*, não interferiu na taxa de clivagem e nos diversos estágios de desenvolvimento embrionário. No entanto, esses resultados discordam com estudos em que a concentração de melatonina de 1 pM e 100  $\mu$ M aumentou o desenvolvimento embrionário em bovinos (TAN et al., 1993).

Tabela 1. Taxa de clivagem, total de embriões viáveis e grau de qualidade embrionária em meio suplementado com melatonina

	0 $\mu$ M	100 $\mu$ M
Taxa de Clivagem (%)	36,44 $\pm$ 13,50 <sup>a</sup> (100/281)	32,93 $\pm$ 10,26 <sup>a</sup> (93/277)
Total de Embriões Viáveis (%)	16,41 $\pm$ 5,13 <sup>a</sup> (44/281)	12,16 $\pm$ 6,55 <sup>a</sup> (36/277)
GI	1,50 $\pm$ 0,63 <sup>a</sup>	1,37 $\pm$ 0,50 <sup>a</sup>
II	2,62 $\pm$ 0,88 <sup>a</sup>	2,31 $\pm$ 1,25 <sup>a</sup>
GIII	1,68 $\pm$ 0,87 <sup>a</sup>	1,56 $\pm$ 0,81 <sup>a</sup>

\*Médias, seguidas da mesma letra minúscula na mesma linha não difere entre si pelo teste de SNK ( $p < 0,05$ ).

GI=Grau 1; GII=Grau 2; GIII=Grau 3

## CONCLUSÕES

Os meios suplementados com melatonina não foram capazes de melhorar a primeira divisão embrionária após a fecundação *in vitro*. Como da mesma forma não melhoraram o grau de qualidade embrionária, produzindo taxas de embriões viáveis similares aos obtidos pelos sistemas tradicionais de PIV.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adona, P. R., Pires, P. R., Quetglas, M. D. Schwarz, K. R., Leal, C. L. Nuclear maturation kinetics and *in vitro* embryo development of cattle oocytes prematured with butyrolactone I combined or not combined with roscovitine. *Animal Science Reproduction*, v. 104, p. 389-397, 2007
- Papis, K., Poleszczuk, O., Wenta-Muchalska, E., Modlinski, J. Melatonin effect on bovine embryo development *in vitro* in relation to oxygen concentration. *Journal Pineal Research*, v. 43, p. 321-236, 2007.
- Tan, D. X., Chen, L. D., Poeggeler, B., Manchester, L. C. Melatonin: A potent, endogenous hydroxyl radical scavenger. *Endocrinology*, v. 1, p. 57-60, 1993.
- Tsantarliotou, M. P., Attanasio, L., De Rosa, A., Boccia, L., Pellerano, G., Gasparrini, B. The effect of melatonin on bovine *in vitro* embryo development. *Italian Journal Animal Science*, v. 6, p. 88-489, 2007.

## AVALIAÇÃO DO EFEITO DO ESTRESSE TÉRMICO SOBRE A EXPRESSÃO DO ESTRO INDUZIDO EM NOVILHAS PURAS HOLANDESAS

[Evaluation of the effect of heat stress on expression of estrus induced in heifers pure Holandesas]

Irani Passos Fontenele<sup>1\*</sup>, Airamita Karla Lucas Ferreira<sup>2</sup>, Valesca Barreto Luz<sup>3</sup>, Leonardo Lelis de Macedo Costa<sup>2</sup>, Francisco Alexandre de Araújo Almeida<sup>2</sup>, Luiz Augusto Vieira Cordeiro<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Bolsista PICI. \*Autor para correspondência. E-mail: iranfonte@hotmail.com.

<sup>2</sup>Universidade Federal Rural do Semi-Árido.

<sup>3</sup>PNPD-CAPEs, Brasil.

**ABSTRACT-** The seasonal reduction in reproductive efficiency as a result of heat stress, one of the most serious problems in inter-tropical areas of the world for dairy cattle. This study aimed to verify the influence of heat stress on the estrous cycle of Holstein heifers. Ten Holstein heifers was maintained on a ambient with direct insolation during hormonal treatment for fixed time artificial insemination. Another group was maintained on a barn, on shade. The hormonal treatment was based on progesterone, estradiol, prostaglandin and gonadotropin. Rectal temperature and the radiant, air and room temperature from the ambient was measured every 4 hours. At the time of insemination (day 9) was observed by ultrasonography a smallest area on the follicles from animals exposed under direct insolation, compared to stabled, suggesting that heat stress exerts influence on follicular growth.

**Keywords:** thermic stress; follicle diameter; bovine.

**Palavras-Chave:** estresse térmico; diâmetro folicular, bovino.

### INTRODUÇÃO

O estudo da influência dos fatores abióticos sobre os animais deve ser associado à análise das condições de manejo e das características particulares de cada animal ou rebanho (espécie, raça, idade, sexo, estado fisiológico) que, juntos, podem interferir nos padrões de comportamento, favorecendo situações de estresse (Grant & Albright, 1995). A temperatura de conforto é aquela na qual se torna dispensável qualquer atividade metabólica por parte do animal para aquecer ou esfriar o corpo, na qual o metabolismo animal é mínimo (Oliveira et al., 2003). Para bovinos da raça Holandesa, os limites térmicos ambientais da zona de conforto variam de  $-1^{\circ}\text{C}$  a  $21^{\circ}\text{C}$  e o limite de umidade relativa ideal para animais domésticos varia de 60 a 70% (Müller, 1989). A referência fisiológica para a temperatura retal está entre  $38,0^{\circ}\text{C}$  a  $39,3^{\circ}\text{C}$  para animais leiteiros (Robinson, 1999). É conhecido que o estresse térmico em bovinos de corte causa uma diminuição da duração do estro e um aumento na incidência de ovulação silenciosa (Hafez, 2003). Por estes motivos, este trabalho, tem por objetivo avaliar a influência do

estresse térmico sobre o diâmetro folicular de novilhas holandesas.

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas vinte novilhas Holandesas levando-se em conta o peso corpóreo e a idade, sendo estas nulíparas com escore corporal no intervalo entre 3 e 4. A alimentação baseou-se em volumoso, sal mineral e água *ad libitum* e ração concentrada do cocho. Quinze dias antes do experimento estas foram separadas do rebanho e divididas em 2 grupos. O grupo 1 foi mantido estabulados, ou seja, na sombra e o grupo 2 encontrava-se soltos em piquete, com insolação direta. Ambos os grupos foram submetidos a tratamento hormonal para realização de inseminação artificial por tempo fixo: dia 0 as novilhas receberam um dispositivo intravaginal de liberação de progesterona (CIDR<sup>®</sup>, Pfizer, Brasil) e aplicação de 0,75 de cipionato de estradiol (ECP, Pfizer, Brasil) intramuscular. No oitavo dia o CIDR<sup>®</sup> foi retirado e aplicou-se 0,530 mg de cloprostenol sodium (PGF2 $\alpha$ , Ciosin<sup>®</sup>, Schering-Plough, Brasil) por via intra-dérmica na mucosa vaginal e 200UI de gonadotrofina coriônica equina

(ECG), por via intramuscular. No nono dia aplicou-se 1,0 mg de cipionato de estradiol (ECP, Pfizer, Brasil) intramuscular para inseminação 18 horas depois. Após observação de sinais clínicos de estro como liberação de muco pela vagina, vulva edemaciada, repetidas tentativas de saltar sobre as outras fêmeas do grupo. No momento da inseminação foi realizada a mensuração dos folículos com o auxílio de um ultrassom. Durante todo o protocolo hormonal foi avaliada a temperatura retal assim como os parâmetros ambientais, temperatura radiante, temperatura do ar e ambiente, coletados a cada 3 horas. Os dados foram submetidos ao teste de *t de studenty* a 5% de significância.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

O grupo 1 apresentou médias de temperatura retal variando entre 38,2°C a 39,1°C e o grupo 2 foram de 38,3°C a 39,2°C, destacando-se que nesse grupo uma novilha sob insolação atingiu 39,7°C, esse resultado excedendo o limite fisiológico descrito por Robinson (1999) de 39,5°C. A temperatura ambiental a qual estavam submetidos os animais do grupo 1 foi de 23,7°C a 35,7°C enquanto no grupo 2 variou de 30,0°C a 46,2°C. Quanto à temperatura do ar, no estábulo variou de 26 a 35°C e no piquete descoberto variou entre de 27°C a 37°C. A média da área dos folículos ovarianos submetidos do grupo sob insolação foi  $0,727 \pm 0,311 \text{ cm}^2$ , já dos animais estabulados foi de  $0,778 \pm 0,569 \text{ cm}^2$ ,

porém, os resultados oriundos dos dois grupos não diferiram estatisticamente entre si.

### CONCLUSÃO

Mesmo com as variações de temperatura ambiente em mais de 10°C entre os grupos sob sombreamento e insolação e temperatura do ar com diferença aproximada de 2 °C, não houve diferença estatística entre as mensurações da área folicular das novilhas submetidos ao protocolo de IATF. Este resultado mostra que o protocolo é efetivo em promover o crescimento folicular mesmo sob condições de estresse térmico.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Grant, R. J.; Albright, J. L. Feeding behavior and management factors during the transition period in dairy cattle. *Journal Animal Science*, v.73, p. 2791-2803, 1995.
- Hafes, E. S. E. *Reprodução animal*. 7 ed. São Paulo: Manole, 2004.
- Müller, P. B. *Bioclimatologia aplicada aos animais domésticos*. Porto Alegre: Sulina, 1989. 262p.
- Oliveira, P. A. V.; Paulo, R. M.; Tinôco, I. F. F. Efeito da temperatura no desempenho zootécnico de suínos em crescimento e terminação nos sistemas de camas sobrepostas e piso concretado. In: Congresso brasileiro de veterinários especialistas em suínos, 2003, Anais... Concórdia: EMBRAPA Suínos e Aves, 2003. p. 401.
- Robinson, E. N. *Termorregulação*. In: CUNNINGHAM, J. G. Tratado de fisiologia veterinária. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. p. 427-435.

## CARACTERIZAÇÃO DO MANEJO REPRODUTIVO DE VACAS LEITEIRAS NO MUNICÍPIO DE QUIXERAMOBIM-CE, BRASIL

[Characterization of reproductive management of dairy cows in the municipality of Quixeramobim-CE, Brazil]

Wendell Fellipe de Souza Alves\*<sup>1</sup>, Deygnon Cavalcanti Clementino<sup>1</sup>, Fabrício Brandão Pereira<sup>1</sup>, Ícaro Coutinho Cosmo<sup>2</sup>, Wagner Dias Coelho de Oliveira<sup>3</sup>, Leilson Rocha Bezerra<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Graduando do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Piauí/Campus Professora Cinobelina Elvas; \* Autor para correspondência. E-mail: wendellfellipe2010@hotmail.com.

<sup>2</sup>Graduando do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural do Semiárido-UFERSA.

<sup>3</sup>Aluno do Programa de Pós-graduação em Zootecnia da UFPI-CPCE.

<sup>4</sup>Professor Adjunto do Curso de Zootecnia do Campus Professora Cinobelina Elvas-CPCE.

**ABSTRACT-** The objective of this study was to characterize the reproductive management of dairy cows in the municipality of Quixeramobim-CE. Twenty milk farms in the municipality of Quixeramobim were interviewed regarding the reproductive management. The results show that 30.0% of cattle used to produce milk are crossbred. The uncontrolled natural breeding predominates in 50.0%. The use of artificial insemination was performed in 5.0% of the farms studied, below even the national average, which is 7.8%. As for natural mating 70.0% used during whole year, still the most widespread strategy for multiplying herd and 65.0% said that they have no criterion, so that the heifer is covered first. In view of the above, the dairy cattle in Quixeramobim has a lot to improve the reproductive context, targeting the growth and development of this activity in the region.

**Keywords:** cattle; milk; management; reproductive.

**Palavras-Chave:** bovinocultura; leite; manejo; reprodutivo.

### INTRODUÇÃO

No contexto mundial, o Brasil possui um rebanho significativo de bovinos em produção de leite. Nesse contexto o estado do Ceará apresenta-se com 550.000 animais em lactação (IBGE, 2011).

O sucesso dos sistemas de produção de bovinos depende, dentre outros fatores da taxa de reprodução do rebanho. Apesar da importância da pecuária de leite para a economia do país e dos avanços tecnológicos, o setor ainda necessita de maiores adaptações no setor produtivo para atender ainda mais o mercado (Santin, 2010). Diante do contexto o objetivo do trabalho foi caracterizar o manejo reprodutivo de vacas leiteiras no município de Quixeramobim-CE.

### MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado em visita acompanhada de questionário, onde foram entrevistados 20 produtores de leite do Município de Quixeramobim-CE, quanto ao padrão racial dos animais utilizados na exploração leiteira, bem como quanto ao manejo reprodutivo. Os produtores foram

questionados em relação ao tipo de manejo reprodutivo utilizado na propriedade (monta natural, monta natural controlada ou inseminação artificial), e aos critérios adotados para a primeira cobertura das novilhas.

O estudo compreendeu a criação de um banco de dados, para realização de análise tabular associada ao estudo descritivo. Com isso pôde-se elaborar o perfil reprodutivo dos rebanhos, com auxílio do programa MS Excel®.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi constatada a exploração de diversas raças para atividade leiteira, uma vez que (6/20) 30,0% destas são oriundas de cruzamentos entre raças diversas, nem sempre com aptidão leiteira. Dentre as fêmeas leiteiras com raça definida, destacam-se as Holandesas, Girolando e Gir, que correspondem respectivamente a (9/20) 45,0%, (4/20) 20,0% e (1/20) 5,0% do quantitativo de matrizes.

O sistema predominante de acasalamento utilizado é a monta natural não controlada (10/20) 50,0%, vale destacar que (9/20) 45,0% dos produtores

utilizam monta natural controlada, sendo que apenas (1/20) 5,0% dos produtores adotam o uso da inseminação artificial, sendo inferior, inclusive, à média nacional, que é de 7,8% (Asbia, 2009). O uso de outras biotecnologias da reprodução não foi observado, com exceção de uma única propriedade, onde o uso da inseminação artificial é uma ferramenta de alto potencial para a disseminação do material genético do rebanho (Galli; Lazzari, 2008).

A estação de monta reprodutiva é adotada somente por (6/20) 30,0% dos produtores, (14/20) 70,0% utilizavam a monta natural durante ano inteiro, sendo ainda a estratégia mais difundida para multiplicação do rebanho, o conhecimento da proporção touro: vacas é relevante, sendo que o maior percentual dos proprietários adota um touro para a cobertura anual 16 a 20 fêmeas, índice este que se aproxima daquele normalmente empregado em sistemas de produção de bovinos de corte (Santos et al., 2004).

Quanto aos critérios para o primeiro cruzamento (13/20) 65,0% afirmaram não possuir nenhum critério, (3/20) 15,0% utilizam o peso, (4/20) 20% usam a idade como condições básicas para que a novilha seja coberta pela primeira vez. A eficiência reprodutiva de um rebanho é um dos componentes mais importantes no desempenho econômico de

uma propriedade de produção de leite (Leite et al., 2001).

## CONCLUSÕES

Tendo em vista o exposto, a bovinocultura leiteira em Quixeramobim tem muito a melhorar no âmbito reprodutivo, visando o crescimento e desenvolvimento desta atividade na região, consolidando-a como bacia leiteira.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Instituto Brasileiro De Geografia E Estatística – IBGE. Produção da Pecuária Municipal, v. 37, p.1-55, 2011.

Galli, C.; Lazzari, G. The manipulation of gametes and embryos in farm animals. *Reproduction in Domestic Animals*, v.43, Supl 2, p.1-7, 2008.

Leite, T. E.; Moraes, J. C. F.; Pimentel, C. A. Eficiência produtiva e reprodutiva em vacas leiteiras. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.31, n.3, p.467-472, 2001.

Santin, T. *Inseminação Artificial em Tempo Fixo em Bovinos de Corte*. 2010. 27p. Pós-graduação (Especialista em Produção e Reprodução de Bovinos) – Instituto de Pós-Graduação em Medicina Veterinária.

Santos, M. D.; Torres, C. A. A.; Ruas, J. R. M.; Guimarães, J. D.; Silva Filho, J. M. Potencial reprodutivo de touros da raça Nelore submetidos a diferentes proporções touro: vaca. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.56, n.4, p.497-503, 2004.



## COMPARAÇÃO ENTRE OS MÉTODOS GRADIENTE DE PERCOLL E LAVAGEM NA PRODUÇÃO DE EMBRIÕES UTILIZANDO SÊMEN DE TOUROS DA RAÇA 5/8 GIROLANDO

[Comparison between the methods Percoll gradient and Wash in the production of embryos using semen from 5/8Girolando bulls]

Elizabete Julia da Silva<sup>1</sup>, Maiana Silva Chaves<sup>1</sup>, Pábola Santos Nascimento<sup>1</sup>, Elizabete Teixeira<sup>1</sup>, Antonio Santana dos Santos Filho<sup>2</sup>, Cláudio Coutinho Bartolomeu<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal Rural de Pernambuco, Garanhuns-PE, Brasil. \* Autor para correspondência. E-mail: ccbartol@gmail.com.

<sup>2</sup> Instituto Agronômico de Pernambuco, Recife-PE, Brasil.

**ABSTRACT** - The aim of the present study was to compare two methods of sperm capacitation, Percoll gradient (GP) and Wash by centrifugation (LC), by observing the production of viable blastocysts in D7 using semen samples from 5/8 Girolando bulls, being evaluated the cleavage rate at D3 and the presence of blastocysts in D7. The data were analyzed by Chi-square. The results of *in vitro* production presented no statistical difference ( $P>0.05$ ). Blastocyst rates were around 20%, but there was a numerical difference between bulls corroborating other studies where other breeds were used. From this work, we conclude that for sperm capacitation of 5/8 Girolando bulls the two methods can be used as both methods presented similar results.

**Keywords:** blastocyst; cattle; sperm capacitation; 5/8 Girolando.

**Palavras-Chave:** blastocisto; bovinos; capacitação espermática; 5/8 Girolando.

### INTRODUÇÃO

A influência dos métodos de capacitação espermática na produção *in vitro* (PIV) tem sido extensivamente estudada. A partir dessas técnicas de preparação do sêmen, obtemos células espermáticas com maior motilidade, removemos o plasma seminal, o crioprotetor, os agentes infecciosos e os debrís celulares, (Henkel & Schill, 2003), além de possibilitar estudos envolvidos com os seus mecanismos de preparo, como análises de impactos sob características originais da amostra no resultado da produção de embriões *in vitro* (Carreira, 2008). Dentre as técnicas utilizadas, existem o Gradiente de Percoll (GP), seletivo, mais utilizado e demonstrando bons resultados, e a Lavagem por centrifugação (LC), mais simples e com boa taxa de recuperação (Olivares et al., 2013).

O objetivo foi comparar os métodos GP e LC a partir da PIV de embriões bovinos utilizando sêmen de touros da raça 5/8 Girolando.

### MATERIAL E MÉTODOS

Os ovários bovinos foram coletados no matadouro do Município de Pedra - PE, imediatamente após o

abate, e transportados até o Laboratório de Reprodução e Melhoramento Genético Animal do Instituto Agronômico de Pernambuco- IPA em Arcoverde-PE, em garrafa térmica com solução fisiológica e gentamicina de 40mg, à uma temperatura de 37°C. Folículos de 2 a 8 mm de diâmetro foram aspirados, e selecionados os oócitos classificados como Grau 1, que seguiram para maturação durante 24 horas em estufa úmida com 5% de CO<sub>2</sub> à 38,5°C. O sêmen não sexado de dois touros da raça 5/8 Girolando foi capacitado pelos métodos de GP a 90%, e pelo método de LC. Cada tratamento fertilizou gotas contendo 15 oócitos cada. As palhetas de sêmen foram descongeladas em descongelador eletrônico à 37°C durante 30 segundos. A dose inseminante foi de 2 milhões de espermatozoides/mL. Em seguida, as placas contendo oócitos e espermatozoides foram para a estufa ficando incubadas por 18 horas. Decorrido esse período, os possíveis zigotos foram lavados e colocados em placas com meio SOF e retornaram à estufa para desenvolvimento. Foi estipulado como D0 o dia da fertilização; D3, observação da taxa de clivagem e realização do feeding; D7, quantificação de blastocistos. Os dados obtidos foram analisados estatisticamente pelo Teste Qui-quadrado ao nível de 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foi observada diferença significativa ( $P > 0,05$ ) entre a quantidade de blastocistos viáveis no D7 utilizando os métodos LC e GP, com 20% de 13%, respectivamente.

Marques et. al., (1990), utilizando outras raças afirmaram haver uma variabilidade elevada na taxa de fertilização *in vitro* associada ao fator touro, vindo a corroborar o resultado alcançado nesse trabalho com a raça 5/8 Girolando, onde um dos touros (T2) utilizados manteve mais estável o nível do desenvolvimento embrionário independente do método quando comparado ao T1.

## CONCLUSÃO

Concluimos que para capacitação do sêmen de touros 5/8 Girolando os dois métodos podem ser utilizados por apresentarem resultados semelhantes.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Carreira, J. T. *Avaliação da integridade do acrossoma, membrana citoplasmática, potencial mitocondrial, cromatina e produção de embriões in vitro de sêmen bovino com altos índices de gota citoplasmática proximal*. 2008. 57p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Curso de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista " Julio de Mesquita Filho".

Henkel, R.R.; Schill, W.B. Sperm preparation for ART. *Reproduction Biology and Endocrinology*, v.1, p.108, 2003.

Marques, C.C.; Baptista, M.C.; Pereira, R.M.; Vasques, M.I.; Lopes Da L.F. C.; Horta A.E.M. *Influência do sêmen de diferentes touros sobre as taxas de fertilização in vitro e desenvolvimento de embriões em co-cultura*. 1995.

Olivares, C.C.S.; Brandão F.Z.; Fonseca J.F.; Camargo L.S.A. Estabelecimento de protocolos para seleção e indução da capacitação espermática em caprinos. Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, 20, 2013, Uberlândia, MG. *Anais...* Belo Horizonte: CBRA, 2013. (CD-ROM). ISSN: 1984-8471.

## CRIOPRESERVAÇÃO DE ESPERMATOZOIDES EPIDIDIMÁRIOS DE BOVINOS NELORE EM DILUENTE TRIS SUPLEMENTADO COM EXTRATO DE *Mauritia Flexuosa*

[Epididymal sperm freezing from nelore bulls in tris supplemented with *Mauritia flexuosa* extract]

Walber Vinícius dos Reis Vieira, Danilo de Sousa Lima, Homero da Rocha Batista, Daniela Kunkel, Ney Rômulo de Oliveira Paula, Janaína de Fátima Saraiva Cardoso\*

Universidade Federal do Piauí- UFPI. \*Autor para correspondência. E-mail: janainadefatima@hotmail.com

**ABSTRACT** - This study aimed to evaluate the feasibility of using the crude extract of *Mauritia flexuosa* as an additive to Tris extender for bovine epididymal spermatozoa conservation. Nelore bulls testes pairs (n = 30) from slaughterhouses were used. Spermatozoa were recovered from epididymis and placed in 15 ml tubes containing Tris extender. The samples were diluted in Tris containing 20% egg yolk and 7% glycerol (control group), according Ansari et al. (2010) or Tris extender containing 7% glycerol and 5% crude extract (*Mauritia flexuosa*). In conclusion, the use of extender containing *Mauritia flexuosa* extract allows the bull epididymal spermatozoa survival after thawing. Improving the *M. flexuosa* extract is needed before it can be successfully used for bull epididymal spermatozoa freezing.

**Keywords:** cryopreservation; Nelore; spermatozoa; epididymis; Buriti.

**Palavras-Chave:** criopreservação, Nelore, espermatozoide, epidídimo, Buriti.

### INTRODUÇÃO

A palmeira buriti é uma das mais importantes espécies nativas com potencial econômico na América Latina (TAVARES et al., 2003). Seu fruto apresenta-se rico em vitamina A, B e C, proteínas e marcante conteúdo de lipídios e carotenoides (CARNEIRO e CARNEIRO, 2011). Estas características o qualificam com potencial para o desenvolvimento de diluentes seminais ou aditivos com propriedades crioprotetoras em processos de criopreservação celular.

A coleta de espermatozoides do epidídimo pode ser a única opção que existe para preservar gametas masculinos de animais de alto valor genético mortos inesperadamente ou de espécies ameaçadas de extinção (FICKEL et al., 2007).

Diante desse contexto, este trabalho tem como objetivo, avaliar a viabilidade do uso do extrato bruto de *Mauritia flexuosa* como aditivo ao diluente Tris para a conservação de espermatozoides epididimários de bovinos.

### MATERIAL E MÉTODOS

Obteve-se o extrato bruto de buriti (*Mauritia flexuosa*) a partir do tritramento da polpa

desidratada artesanalmente, filtração e diluição. Foram coletados 30 pares (n=30) de testículos de bovinos Nelore oriundos de abatedouros da cidade de Bom Jesus-PI. Os espermatozoides foram recuperados da cauda do epidídimo pelo método de fluxo retrógrado após higienização, dissecação, incisão e pressão manual em tubos de 15 mL contendo diluente Tris. Após a recuperação, as amostras foram homogeneizadas e avaliadas os seguintes parâmetros: motilidade, vigor, morfologia espermática. As amostras foram diluídas em Tris contendo 20% de gema de ovo e 7% de glicerol (grupo controle) ou diluente Tris contendo 7% de glicerol e 5% de extrato bruto de (*Mauritia flexuosa*) e congeladas segundo Ansari et al. (2010). As amostras foram descongeladas em banho-maria a 37°C por 1 minuto e realizada a avaliação espermática *in vitro*. Os resultados foram analisados quanto à distribuição normal e submetidos ao teste T student a 5% de significância.

### RESULTADOS

Após a diluição, não foi verificada diferença entre os grupos testados. O uso do diluente contendo 5% de extrato de *M. flexuosa* possibilitou a sobrevivência espermática ao processo de congelação-descongelação. Contudo, a motilidade e

vigor nas amostras de sêmen foram mais bem preservadas no grupo controle após a descongelação (tabela 1) revelando que faz-se necessário um aperfeiçoamento do aditivo de modo que os efeitos benéficos do extrato sobreponha seus

efeitos tóxicos para que o mesmo possa ser utilizado comercialmente. A morfologia espermática foi preservada de forma similar nos grupos testados.

Tabela 1. Motilidade, vigor e morfologia de espermatozoides bovinos epididimários criopreservados em Tris contendo 5% extrato de *Mauritia flexuosa*.

Parâmetros	Pós-diluição		Pós-Descongelação	
	Controle	5% Extrato	Controle	5% Extrato
<b>Motilidade (%)</b>	63,6 ± 2,46 <sup>a</sup>	63,6 ± 2,47 <sup>a</sup>	40,23 ± 4,23 <sup>a</sup>	27,73 ± 3,02 <sup>b</sup>
<b>Vigor (0-5)</b>	3,1 ± 0,15 <sup>a</sup>	3,1 ± 0,16 <sup>a</sup>	2,56 ± 0,14 <sup>a</sup>	1,96 ± 0,16 <sup>b</sup>
<b>Espermatozoides Normais (%)</b>	71,5 ± 7,36 <sup>a</sup>	70,6 ± 6,6 <sup>a</sup>	72,7 ± 5,1 <sup>a</sup>	70,2 ± 6,7 <sup>a</sup>

<sup>ab</sup> Letras diferentes entre colunas no mesmo tempo de avaliação apresentam diferença significativa (P<0,05).

### CONCLUSÃO

O uso do diluente contendo extrato de *Mauritia flexuosa* possibilita a sobrevivência de espermatozoides bovinos epididimários ao processo de descongelação.

Faz-se necessário um aperfeiçoamento do aditivo para que o mesmo possa ser usado com sucesso para a criopreservação de espermatozoides epididimários de bovinos.

### APOIO

Setor de Reprodução Animal do Hospital Veterinário Universitário, CPCE- UFPI

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ansari, M.S.; Bushra, A.R.; Andrabi, S.M.H.; Ullah, N.; Akhter, S. Cryopreservation Of Sahiwal Bull Epididymal Spermatozoa. *Pakistan J. Zool.*, V. 42, N.6, P.741-743, 2010.
- Carneiro, T. B.; Carneiro, J.G.M. Frutos e polpa desidratada buriti (*Mauritia flexuosa* L.): aspectos físicos, químicos e tecnológicos. *Revista Verde*, v.6, n.2, p. 105–111, 2011.
- Fickel J, Wagener A, Ludwig A. Semen cryopreservation and the conservation of endangered species. *Eur. J. Wild. Res.*, v.53, p.81-89, 2007.
- Tavares, M.; Aued -Pimentel S.; Lamardo, L. C. A.; Campos, N. C.; Jorge, L. I. F.; Gonzalez, E. Composição química e estudo anatômico dos frutos de buriti do Município de Buritizal, Estado de São Paulo. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, v.62, n.3, p. 227-232, 2003.

## FERTILIDADE DE VACAS *Bos indicus* SUBMETIDAS A IATF COM SÊMEN REDILUÍDO EM ACP 111<sup>®</sup>

[Fertility of *Bos indicus* cows submitted to timed artificial insemination with semen rediluted in ACP 111<sup>®</sup>]

**Kenney de Paiva Porfírio<sup>1\*</sup>, Daniela Kunkel<sup>1</sup>, Camila Arrivabene Neves<sup>1</sup>, Cristiane Clemente de Mello Salgueiro<sup>2</sup>, Janaina de Fátima Saraiva Cardoso<sup>1</sup>, Ney Rômulo de Oliveira Paula<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Universidade Federal do Piauí, Piauí, Brasil. \*Autor para correspondência. E-mail: neyromulo@ufpi.edu.br.

<sup>2</sup>Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza-CE, Brasil.

**ABSTRACT** - The aim of this study was to analyze the fertility of *Bos indicus* cows submitted to timed artificial insemination (TAI) with semen rediluted in ACP 111<sup>®</sup>. Nelore cows (*Bos indicus*) from farms located in the Southern State of Piauí were separated into two groups: Control group (n=7) and ACP<sup>®</sup> (n=8). Subsequently, they were submitted to estrus synchronization and followed the TAI. The pregnancy rate in the control group was lower compared with ACP 111<sup>®</sup> group, 42.8% and 87.5% respectively. The ACP 111<sup>®</sup> group showed better results in pregnancy rates.

**Keywords:** ACP<sup>®</sup>; beef cattle; TAI; estrus synchronization.

**Palavras-Chave:** ACP<sup>®</sup>; bovinos; IATF; sincronização de estro.

### INTRODUÇÃO

O sucesso dos sistemas de produção do rebanho bovino depende, dentre outros fatores da taxa de reprodução. A utilização de tecnologias reprodutivas, em particular a inseminação artificial é uma das técnicas utilizadas para acelerar o processo genético de um rebanho. Porém, a inseminação artificial torna-se um desafio em propriedades em que o anestro pós-parto e a falha na detecção de cio estão presentes (Santin, 2010).

No Brasil, a utilização de diluentes alternativos parece ser a solução para a adoção da inseminação artificial pelos pequenos produtores, já que a dose de sêmen, principalmente importada, ainda é onerosa.

Objetivou-se com a realização da presente pesquisa, avaliar a fertilidade de vacas *Bos Indicus* submetidas a IATF com sêmen rediluído em ACP 111<sup>®</sup>.

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 15 vacas Nelore (*Bos indicus*) provenientes de fazendas localizadas no Sul do Estado do Piauí, separadas em dois grupos: grupo controle (n=7) e ACP<sup>®</sup> (n=8) com uma média de

idade entre 2 - 3,5 anos, as quais foram submetidas à avaliação ginecológica, nutricional e sanitária.

A sincronização do cio foi realizada com auxílio do dispositivo intravaginal (CIDR<sup>®</sup>) durante 8 dias e aplicação de Benzoato de Estradiol (BE). No oitavo dia foi realizada a aplicação de prostaglandina (PGF<sub>2α</sub>), Gonadotrofina Coriônica Equina (eCG) e Cipionato de Estradiol (ECP). A IATF foi realizada 54 horas após a retirada do implante utilizando sêmen comercial provado da raça Senepol. Para o grupo ACP, o sêmen descongelado oriundo de uma palheta de 0,5 mL foi rediluído na proporção de 1:1 com ACP111<sup>®</sup>, de acordo com as recomendações do fabricante.

O diagnóstico e o acompanhamento da gestação foi avaliado por meio da utilização do aparelho de ultrassom (CTS – 900V, SIUI<sup>®</sup>), munido de transdutor linear 7,5 MHz. Para a análise estatística, foi utilizado o teste Qui-quadrado (P<0,05).

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

A taxa de prenhez no grupo controle foi inferior quando comparada com o grupo ACP 111<sup>®</sup> no qual foram encontrados uma porcentagem de 42,8% e 87,5%, respectivamente, como descrito na Tabela 1.

Tabela 1. Taxa de fertilidade em vacas Nelore inseminadas com sêmen re-diluído em ACP 111<sup>®</sup>.

Grupos	N (Total)	Número de fêmeas gestantes	Taxa de prenhez (%)
Grupo Controle	7	3	42,8 <sup>a</sup>
Grupo ACP <sup>®</sup>	8	7	87,5 <sup>b</sup>

<sup>ab</sup> Letras diferentes na mesma coluna apresentam diferença estatística ( $P < 0,05$ ).

Sá Filho et al. (2010) encontraram taxa de prenhez de 51,4%, Carneiro et al. (2011) obteve taxa de prenhez de 79,1% em vacas nelore submetidas a IATF, ambos utilizando apenas sêmen congelado-descongelado, apresentando-se inferiores aos resultados encontrados nas vacas inseminadas com sêmen rediluído em ACP 111<sup>®</sup>.

Em caprinos Salgueiro et al. (2007) relata que o diluente à base de água de coco em pó ACP-101<sup>®</sup> foi mais eficiente na preservação das células espermáticas durante a criopreservação apresentando resultados de prenhez acima da média esperada.

#### CONSIDERAÇÕES FINAIS

O diluente de sêmen de bovinos a base de água de coco em pó ACP 111<sup>®</sup> foi mais eficiente quando comparado com o grupo controle apresentando melhores resultados na taxa de prenhez.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Carneiro, L. C.; Campos, C. C.; Santos, R. M. Timed artificial insemination and early diagnosis of pregnancy to reduce breeding season in Nelore beef cows. *Tropical Animal Health Production*, p. 623-627, 2011.

Gregory, R. M.; Métodos de sincronização de estros em bovinos. In: Simpósio de Reprodução Bovina e Sincronização de Estros em Bovinos, Porto Alegre, RS, Anais...Porto Alegre: Gráfica Jacuí, p.18-24, 2002.

Sá Filho, M.F; Crespilho, A.M.; Santos, G.A.; Baruselli. Ovarian follicle diameter at timed insemination and estrous response influence likelihood of ovulation and pregnancy after estrous synchronization with progesterone or progestin-based protocols in suckled *Bos indicus* cows. *Animal Reproduction Science*, p. 20-30, 2010.

Salgueiro, C.C.M.; Lira, D.T.; Brasil, A.F.; Nunes, J.F. Inseminação Artificial de cabras com sêmen diluído e refrigerado a 4°C em água de coco em pó (ACP-101) ou tris. *Revista Universidade Rural*. V.26, suplemento, 2007.

Santin, T. *Inseminação Artificial em Tempo Fixo em Bovinos de Corte*. Pós graduação (Especialista em Produção e Reprodução de Bovinos) – Instituto de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Piracicaba, Novembro de 2010.

## INFLUÊNCIA DE FATORES AMBIENTAIS SOBRE CARACTERÍSTICAS SEMINAIS E COMPORTAMENTO SEXUAL DE BUBALINOS SUBMETIDOS À CONGELAÇÃO DE SÊMEN

*[Influence of environmental factors on seminal characteristics and sexual behavior of buffaloes underwent semen freezing.]*

Wilton Figueiredo Lima<sup>1\*</sup>, José Luiz Boaretto<sup>1</sup>, Álvaro Chaves Neto, Gustavo Alighiere Lopes da Silva, Sebastião Tavares Rolim Filho<sup>1</sup>, Haroldo Francisco Lobato Ribeiro<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal Rural da Amazônia. \*Autor para correspondência. E-mail:limawilton1@gmail.com

**ABSTRACT** - The objective was to analyse the sexual behaviour and the characteristics of the semen. Four bulls, which were divided in two groups of two animals each, were studied. Group 1 was handled in shaded woods and in a creek. Group 2 was submitted in traditional management in stalls. The libido's evaluation was analysed from the observation of signals of interest mounts. The ejaculates were realised by artificial vagina and massage of ampoules. The data were evaluated through the software, using the ANOVA statistical test. Only one bull (25%), from group 2, showed all signs related to libido, the other three bulls (75%) did not show any signs. Among the physical and morphological semen characteristics, there were no significant differences between the groups. There was no influence on sexual behaviour and seminal characteristics; however, the younger the buffalo is subjected to harvesting regime, the better will be their sexual behaviour.

**Key words:** buffaloes; environmental factors; sexual behavior; semen.

**Palavras chave:** bubalinos; fatores ambientais; comportamento sexual; sêmen.

### INTRODUÇÃO

Vários trabalhos, em diferentes raças e países têm enfatizado que a eficiência reprodutiva nos bubalinos é mais influenciada por fatores ambientais que genéticos; dentre eles, o fotoperíodo, a precipitação pluviométrica, a umidade relativa do ar e a temperatura com efeitos pronunciados sobre o comportamento reprodutivo da espécie, sendo que a importância de cada um destes fatores varia muito entre a situação geográfica, condições de criação e o sistema de manejo (Ribeiro, 2008). O objetivo do trabalho foi avaliar o interesse e comportamento sexual de bubalinos submetidos a colheita de sêmen em regime de colheita de sêmen.

### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado na CEBRAN/UFPA, no município de Castanhal, Pará, Brasil. O clima é quente e úmido, dividido em duas estações: uma mais chuvosa (dezembro a maio), e outra menos chuvosa (junho e novembro). A precipitação pluviométrica média é em torno de 2.200 mm anuais. A temperatura média de 26°C. A umidade relativa do ar varia entre 78% e 93%. Foram

estudados 04 touros bubalinos da raça Murrah-MU (01) e Mediterrâneo-ME (03), com idades entre três a cinco anos. Os animais foram divididos em dois grupos: grupo 1, com dois touros, touro nº03 (ME) e nº 04 (MU), submetidos ao manejo, em bosque sombreado e banhos em riacho diariamente das 10:00 da manhã até 15:00 da tarde. E no grupo 2, com dois touros, touro nº 01(ME) e nº 02(ME), submetidos ao manejo tradicional de baía, realizado rotineiramente (tratamento controle). Durante 7 meses (Dezembro de 2012 a Junho de 2013) ocorreu o estudo. A avaliação da libido foi realizada através da observação de sinais de interesse do macho perante o manequim entre 10 a 30 minutos de acordo com Chenoweth (1980), em que as atitudes de um reprodutor, em presença de vacas em cio ou não, classificando-se as reações e obtendo uma pontuação entre 0 a 10, onde 0 para o animal sem interesse e 10 para os que tiveram duas ou mais montas com serviço completo. A classificação segundo as reações são: 0 e 3 = questionável; 4 a 6 = bom; 7 e 8 = muito bom; 9 e 10 = excelente ou superior. As colheitas de sêmen foram realizadas de acordo a metodologia da CEBRAN por vagina artificial e massagem das ampolas, avaliando as características físicas do ejaculado (volume, aspecto, turbilhão, motilidade

etc). Os dados foram avaliados através do software SAS (2010) utilizando o teste estatístico ANOVA (Análise de Variância). No modelo estatístico utilizado, foi considerado efeito fixo o comportamento sexual e efeito variável as características andrológicas. No caso de variância entre os dados os mesmos foram submetidos ao Teste de Tukey com nível de significância de 5%.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com a observação do comportamento sexual, no período experimental, apenas um touro nº01 (ME) do grupo 2, (25%), demonstrou todos os sinais correlacionados a libido. Segundo Chenoweth, (1980) pode ser considerado como excelente (figura 1). Os outros três animais (75%) não mostraram sinais da libido e desta forma, foram classificados como questionáveis.

O touro nº 1(ME) de excelente comportamento tinha três anos de idade, na época do experimento, portanto o mais jovem. Neste contexto, Vale et al. (2008), disseram que animais jovens, pode ser mais facilmente treinados para atividade de monta e colheita de sêmen por vagina artificial do que animais adultos. Os outros touros, na época do

experimento, estavam com idade acima de cinco anos e já tinham previamente contato com vacas em atividade de monta a campo. Corroborando com esses resultados, segundo Ribeiro 2013, dados não publicados, observou em 15 touros jovens da raça Mediterrâneo e Murrah, de dois a cinco anos de idade, no local do nosso experimento, 86,6% dos touros manifestaram interesse sexual, com ejaculações completa por vagina artificial, quando expostos ao manequim.

No presente estudo somente o animal nº 01 (ME) ejaculou pela vagina artificial os demais touros o sêmen foi obtido pela massagem das ampolas. Com relação as características físicas e morfológicas do sêmen, não houve diferença significativas entre os grupos 1 e 2. Provavelmente o sêmen não sofreu alteração, entre os tratamentos, em função do período experimental ser realizado na estação favorável (mais chuvosa) da região. De acordo com (Visintin, 2004) os fatores sazonais tem forte efeito sobre as características físicas e morfológicas do sêmen, o autor enfatiza que os búfalos são sensíveis ao estresse térmico, portanto, é comum a queda na qualidade do sêmen durante a estação quente, (menos chuvosa) na região norte.

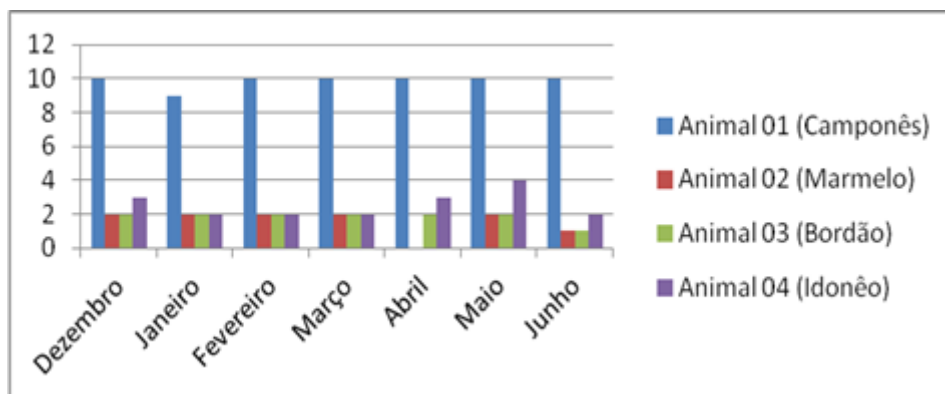


Figura 1. Avaliação do escore da libido dos animais através da observação de sinais de interesse do macho, durante os meses de dezembro de 2012 a junho 2013.

## CONCLUSÃO

Não houve influência do tratamento no comportamento sexual e nas características seminais entre os grupos, porém quanto mais jovem o búfalo for submetido a regime de colheita, melhor será seu comportamento sexual.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Chenoweth, P.J. Libido and mating ability in bulis. In: Marow, da Current Therapy in theriogenology. *Phyladelphia: W.B. Saunders*, p. 342-344, 1980.

Ribeiro, H.F.L. *Reprodução de bubalinos na região amazônica*. 2008.

Visintin, J. A.; Assumpção, M.E.O.A.; Baruselli, P.S.; Mello, M.R.B.; Rodrigues Alves, D.O.; Tavares, L.M.T. *Uso de biotecnologias da reprodução em búfalos. Biotecnologia ciência & desenvolvimento*. 2004.

Vale, W.G.; Ribeiro, H.F.L.; Sousa, J.S.; Silva, A.O.A.; Barbosa, E.M.; Rolim Filho, S.T. Seleção de andrológica de reprodutor bubalino. *Rev. Bras. Repro. Anim.* v. 32, n. 2, p.141-155, 2008.



## INFLUÊNCIAS HIDROGRÁFICAS NA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM BUBALINOS CRIADOS EXTENSIVAMENTE NA AMAZÔNIA

*[Hydrographic influences on artificial insemination in buffaloes reared extensively in the Amazon]*

**Haroldo Francisco Lobato Ribeiro\***, **Sebastião Tavares Rolim Filho**, **Keitiane Colares de Sousa**, **Elenara Botelho Araujo**, **Gustavo Alighiere Lopes Silva**, **Álvaro Chaves Neto**

Setor de reprodução animal / ISPA / UFRA. Belém, Pará, Brasil. \*Autor para correspondência. E-mail: haroldo.ribeiro@ufra.edu.br

**ABSTRACT** - The objective was to verify the influence of hydrography of the region on the pregnancy rate of buffaloes raised extensively. 890 data both conventional inseminations as FTAI, in the three farms located in the margins of the Rio Piririm Itauba State of Amapá were analyzed. Pregnancy rates were as follows at the rainy season (Feb-May) 185 buffaloes inseminated (51.35%), the Intermediate season (Jun-Sep) were inseminated 350 (42.86%) and dry season (Out-Jan) 355 were inseminated with 49.38% pregnancy rate. For the statistical analysis of the region hydrographic influenced on the pregnancy rate. Conclusion, the rainy season and dry season influenced directly and indirectly on the pregnancy rate in the different seasons of managing the creation of buffaloes in the state of Amapá.

**Key words:** buffaloes; FTAI; hydrography; Amazon.

**Palavras chaves:** bubalinos; IATF; hidrografia; Amazônia.

### INTRODUÇÃO

Os rios do Estado do Amapá estão sujeitos a um período de enchente, durante o qual, a água transborda dos seus leitos e invade as áreas marginais, inundando-as em diferentes graus de intensidade. Muitos destes rios arrastam em suas águas, apreciáveis quantidades de sedimentos e, no decorrer das enchentes, esses detritos minerais e orgânicos se depositam sobre a planície inundável, dando-lhes grande fertilidade e valor para a produção intensiva de alimentos. Devido esta hidrografia, o período de enchentes do rio Amazonas e seus afluentes determina, desta forma, um período de reprodução bastante limitado, variando de três a cinco meses, entre setembro e janeiro, período que corresponde à vazante dos rios, época de fácil manejo e abundante disponibilidade de pastos nativos, representando, a estação favorável para reprodução, entretanto, as épocas intermediária (Junho a Setembro) e a de enchente (Fevereiro a Maio) são altamente limitantes para prática da inseminação artificial. (Ribeiro et al., 1999).

O objetivo foi verificar a influencia da hidrografia da região sobre as taxas de gestação em bufalinas inseminadas pelas técnicas convencional e por IATF.

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas 890 dados de inseminações convencionais e em tempo fixo. Os protocolos utilizados foram: Ovsynch (GnRH + PGF2  $\alpha$  + GnRH), Ovsynch + P4 (GnRH + P4 + PGF2  $\alpha$  + GnRH), CLsynch (PGF2  $\alpha$  + GnRH) e com derivados do estradiol (P4 + BE + eCG e P4 + VE + ECG), sendo que a escolha pela aplicação dos mesmos, foi de acordo com a ciclicidade, o escore da condição corporal, intervalo entre partos e tratamento, presença do bezerro e números de partos. Para análises da influência da hidrografia local sobre a taxa de prenhez foi utilizado o teste de Qui-quadrado ou teste Exato de Fisher, com nível de significância igual a 5%.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pela análise estatística houve influencia da hidrográfica dos rios locais, sobre a taxa de prenhez. Os resultados apontam diferenças entre a taxa obtida na época das enchentes (chuvas) em relação a da vazante (seca). Estas duas épocas, também foram maiores à época intermediária. A hidrografia dos rios locais torna o manejo difícil nas épocas intermediária e de enchentes. A época de vazante apresenta as melhores condições de

disponibilidade de forragens e de fácil manejo e desta forma, influenciou na taxa de prenhez obtida na estação seguinte (tabela 1). Na Amazônia, Ribeiro et al. (2005) e Vale et al. (2006), utilizando a IATF em bubalinos, em épocas favoráveis a reprodução, obtiveram taxas de concepção de 55,56% a 65,5% respectivamente. As taxas de prenhez na época intermediária e de vazante estão de acordo com os resultados de Baruselli e Carvalho (2003) de 53,5% e Vale et al. (2006) de 49,8%, que trabalharam nas épocas desfavoráveis a reprodução. Os estudos de Ribeiro et al. (2011) corroboram esta influência da hidrografia na eficiência reprodutiva de bubalinos. Os autores

observaram uma significativa influência da época de parição e de serviço sobre os parâmetros reprodutivos avaliados, como: a Idade ao Primeiro Parto, Período de Serviço e Intervalo entre Partos. De acordo com seu trabalho nos meses de outubro a janeiro (época de vazante) encontrou-se o mais longo IEP em relação a época de junho a setembro (época intermediária). Os autores concluíram que quando os animais parem num período de quatro a um mês antes das enchentes apresentam um IEP mais longo em relação aos animais que parem de oito a cinco meses antes, devido à disponibilidade de forragem a qual é limitada pelas variações hidrográficas.

Tabela 1. Taxa de prenhez de búfalas, criadas extensivamente, em relação à hidrografia local, no período de 2004 a 2009, município de Itaubal, Amapá.

Hidrografia	n	Taxa de prenhez %
Enchente (chuvas)	185	51,35 <sup>a</sup>
Intermediária	350	42,86 <sup>b</sup>
Vazante (seca)	355	49,38 <sup>b</sup>

Letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente ( $p < 0.05$ , Teste de Qui-quadrado). \*a,b

## CONCLUSÃO

As enchentes e as vazantes influenciam de forma direta e indiretamente sobre a logística das inseminações e na taxa de prenhez nas distintas épocas de manejo de criação de bubalinos no estado do Amapá.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Baruselli, P.S.; Carvalho, N.A.T. Biotecnologias da reprodução em bubalinos (*Bubalus bubalis*). *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.29, n.1, p.4-17, 2005.

Ribeiro, H. F. L. et al. Eficiência da inseminação em tempo fixo com progesterona intravaginal na taxa de prenhez em búfalas criadas em diferentes sistema de produção na Amazônia. *Acta Scientiae Veterinariae*. v. 33, Suplemento 1, p. 211-211, 2005.

Ribeiro, H.F.L., Rolim Filho, S.T. Barbosa, E.M., Freitas, M.R., Mesquita, E.Y.E, Nunes, K.B., Neta, A.C.O. Influências hidrográficas das várzeas no estado do Amapá na eficiência reprodutiva de búfalas. Congresso Brasileiro de reprodução animal, 19, 2011, Recife, Pe, Anais. Belo-Horizonte, p175. 2011.

Rolim Filho S. T.; Ribeiro, H. F. L.; Vale, W. G.; Picanço, N. S.; Barbosa, E. M.; Pereira, R. N. A. R. S. Involução Uterina, Atividade Ovariana, Primeiro Cio pós-parto e distúrbios reprodutivos em Búfalo. *Ciência Animal Brasileira* (UFG. Impresso), v. 12, p. 221-227, 2011.

## OÓCITOS BOVINOS SELECIONADOS *IN VITRO* COM USO DO AZUL CRESIL BRILHANTE (BCB) SUBMETIDOS A DIFERENTES PERÍODOS DE EXPOSIÇÃO

[Bovine *in vitro*-selected oocytes using brilliant cresyl blue (BCB) submitted to different exposure time]

Alana Azevedo Borges<sup>1\*</sup>, Magda Lorena Turbano dos Santos, Luiza Bento de Queiroz Neta<sup>1</sup>, Maria Valéria de Oliveira Santos<sup>1</sup>, Ana Kelly Nogueira Feitosa<sup>1</sup>, Alexsandra Fernandes Pereira<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratório de Cultura Celular e Biotecnologia Animal (LCCBA), Departamento de Ciências Animais (DCAn), Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA). \*Autor para correspondência. E mail: alanaazevedob@hotmail.com.

**ABSTRACT** – The aim was to evaluate the usefulness of the brilliant cresyl blue (BCB) test in the selection of more competent bovine oocytes for *in vitro* embryo production, comparing exposure times (15, 40, 60 or 90 min) of this staining. Thus, oocytes were classified according to homogeneous cytoplasm and *cumulus* cells as viable and non-viable oocytes. All structures were exposed to BCB and classified as: blue or viable oocytes (BCB<sup>+</sup>) or unstained oocytes or non-viable (BCB<sup>-</sup>). After four repetitions, a total of 140 ovaries resulted in 590 oocytes, obtaining an average of 4.2 oocytes/ovary. After exposure time of BCB, 60 min was as effective as 90 min to select viable oocytes (64% vs. 73%, P> 0.05). Additionally, exception for 15 min, the BCB<sup>+</sup> oocytes were comparable to conventional morphological classification. Thus, these results show that the staining of bovine oocytes with BCB for 60 min may be used to select oocytes.

**Keywords:** cattle; staining test; G6PDH; *in vitro* maturation.

**Palavras-Chave:** bovino; teste de coloração; G6PDH; maturação *in vitro*.

### INTRODUÇÃO

Um dos principais fatores que afetam a produção *in vitro* de embriões (PIVE) consiste na qualidade dos oócitos recuperados (Opiela & Kątska-Książkiewicz, 2013). Em geral, a seleção dessas estruturas é realizada por classificação morfológica de acordo com o número de camadas de células do *cumulus* não expandidas e granulação do citoplasma. Testes de coloração, como o uso do azul cresil brilhante (BCB), são propostos como metodologias semi-qualitativas para avaliação da competência oocitária. O BCB é reduzido pela enzima glucose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH) de azul para incolor, podendo ser utilizado para mensurar a atividade dessa enzima (Alm et al., 2005) e selecionar quais oócitos estão crescidos ou ainda em desenvolvimento. Estudos anteriores demonstraram que o tempo de exposição ao BCB consiste de 90 min antes da maturação *in vitro* (Opiela & Kątska-Książkiewicz, 2013; Alm et al., 2005), contudo, a redução desse tempo seria importante para a otimização nas etapas subsequentes da PIVE. Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar diferentes tempos de incubação com BCB para a seleção de oócitos bovinos.

### MATERIAL E MÉTODOS

Para a recuperação oocitária, ovários bovinos foram coletados em abatedouro e transportados ao laboratório (LCCBA, UFERSA) em solução fisiológica a 30-35°C, num período de até 2 h. No laboratório, somente folículos de 2 a 8 mm foram aspirados usando uma agulha 22G acoplada a uma seringa de 5 mL contendo solução tampão fosfato (PBS). Após a aspiração folicular, os oócitos foram classificados sob estereomicroscópio como viáveis, àqueles que possuíam pelo menos uma camada de células do *cumulus* não expandidas e citoplasma homogêneo, e não viáveis, àqueles que possuíam menos de uma ou nenhuma camada do *cumulus* e citoplasma heterogêneo. Em seguida, os oócitos foram distribuídos nos seguintes tempos de exposição ao corante azul cresil brilhante (BCB, Sigma5690713, 26 µM em PBS) de 15, 40, 60 e 90 min e incubados a 38,5°C. Após cada período de incubação, os oócitos foram lavados em PBS e classificados como BCB<sup>+</sup> (coloração azul, oócitos viáveis) e BCB<sup>-</sup> (incolor, oócitos não viáveis). As taxas de oócitos viáveis, não viáveis, BCB<sup>+</sup> e BCB<sup>-</sup> e valores totais foram expressos em percentual e analisados pelo teste exato de Fischer (P<0,05).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após quatro repetições, um total de 140 ovários resultou em 590 oócitos recuperados, perfazendo uma média de 4,2 oócitos/ovário. Destes, um total de 338 e 252 oócitos viáveis e inviáveis classificados pela avaliação morfológica convencional, respectivamente, foi utilizado para o teste do BCB. Após diferentes períodos de exposição ao BCB, 60 min foi tão eficiente quanto 90 min para selecionar oócitos viáveis para as etapas da produção *in vitro* de embriões (65% vs.

73%,  $P > 0,05$ ). Além disso, exceto para o período de exposição por 15 min, o percentual de estruturas viáveis BCB<sup>+</sup> foi maior quando comparado aos oócitos BCB<sup>-</sup> ( $P < 0,05$ , Tab.1). Adicionalmente, para os períodos de exposição ao BCB acima de 15 min, os percentuais de estruturas aptas à produção *in vitro* de embriões pelo teste do BCB (BCB<sup>+</sup>) foram colacionáveis à classificação convencional. Esses resultados mostram que a marcação de oócitos com BCB por um período menor que 90 min de exposição e antes da maturação *in vitro* pode ser utilizado para a seleção de oócitos.

Tabela 1. Relação entre a seleção oocitária (BCB<sup>+</sup> vs. BCB<sup>-</sup>) e período de incubação por BCB (15 vs. 40 vs. 60 vs. 90 min) para classificação de oócitos bovinos.

n (%)	15 min			40 min			60 min			90 min		
	V	NV	T	V	NV	T	V	NV	T	V	NV	T
BCB <sup>+</sup>	36 (39)	10 (15)	46 (29) <sup>a</sup>	51 (65)*	32 (50)	83 (58) <sup>b</sup>	57 (70)*	41 (59)*	98 (65) <sup>b,c</sup>	67 (78)*	35 (66)*	102 (73) <sup>c</sup>
BCB <sup>-</sup>	56 (61)*	56 (85)*	112 (71) <sup>a</sup>	27 (35)	32 (50)	59 (42) <sup>b</sup>	25 (30)	28 (41)	53 (35) <sup>b,c</sup>	19 (22)	18 (34)	37 (27) <sup>c</sup>

V = Oócitos viáveis; NV = Oócitos não viáveis; T = Oócitos totais; \* Para cada tempo de exposição ao BCB, valores entre oócitos BCB<sup>+</sup> e BCB<sup>-</sup> na mesma coluna diferem ( $P < 0,05$ ); <sup>a,b,c</sup>: Entre os tempos de exposição ao BCB, valores totais para BCB<sup>+</sup> e BCB<sup>-</sup> diferem ( $P < 0,05$ ).

## CONCLUSÕES

Portanto, pode-se concluir que a exposição de oócitos bovinos por 60 min ao BCB pode ser utilizada para a seleção de estruturas viáveis ao desenvolvimento *in vitro*. Estudos adicionais encontram-se em andamento para avaliar a eficiência do BCB sobre as etapas subsequentes da produção *in vitro* de embriões.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alm, H.; Tornera, H.; Lohrkea, B.; Viergutza, T.; Ghoneimb, I.M.; Kanitza, W. Bovine blastocyst development rate *in vitro* is influenced by selection of oocytes by brilliant cresyl blue staining before IVM as indicator for glucose-6 phosphate dehydrogenase activity. *Theriogenology*, v.63, p.2194–2205, 2005.
- Opiela, J.; Kątska-Książkiewicz, L. The utility of Brilliant Cresyl Blue (BCB) staining of mammalian oocytes used for *in vitro* embryo production (IVP). *Reproductive biology*, v.13, p.177–183, 2013.

## SEXAGEM FETAL POR ULTRASSONOGRAFIA EM VACAS NELORE INSEMINADAS COM SÊMEN REDILUÍDOS EM ACP 111<sup>®</sup> NO PERÍODO SECO

*[Fetal sexing by ultrasound in Nelore cows inseminated using rediluted ACP<sup>®</sup> 111 semen at dry season]*

**Daniela Kunkel<sup>1\*</sup>, Willams Costa Neves<sup>1</sup>, José Ferreira Nunes<sup>2</sup>, Cristiane Clemente de Mello Salgueiro<sup>2</sup>, Janaína de Fatima Saraiva Cardoso<sup>1</sup>, Ney Rômulo de Oliveira Paula<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Universidade Federal do Piauí, Piauí, Brasil. \*Autor para correspondência. E-mail: neyromulo@ufpi.edu.br.

<sup>2</sup>Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza-CE, Brasil.

**ABSTRACT** – The aim of this study was to evaluate the use of ultrasound in fetal sexing Nelore in cows inseminated with rediluted ACP 111<sup>®</sup> semen at the dry season. Nelore cows (n=30) from Federal University of Piauí Experimental Farm were used. The animals were separated into two groups with 15 animals: control group and ACP 111<sup>®</sup> Group. The cows were synchronized and then was carried out Timed Artificial Insemination (TAI). The diagnosis, monitoring of pregnancy and fetal sexing was performed by ultrasonography. The fertility rate in both groups was 13%. The fetal male and female percentile was no significant different between the groups tested. In the control group was observed that 100% of pregnancies showed a male fetus, since the ACP 111<sup>®</sup> 100% of pregnancies had female fetus.

**Keywords:** fetal sexing; ultrasonography; ACP 111<sup>®</sup>.

**Palavras-Chave:** sexagem fetal; Ultrassonografia; ACP 111<sup>®</sup>.

### INTRODUÇÃO

A utilização de biotecnologias reprodutivas como a inseminação artificial, associadas a condições sanitárias e nutricionais adequadas do rebanho podem levar ao sucesso nas taxas reprodutivas.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a taxa de fertilidade de vacas Nelore e a proporção de machos e fêmeas nascidas da inseminação com sêmen descongelado e rediluído em ACP 111<sup>®</sup>.

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 30 (trinta) vacas Nelore provenientes da fazenda experimental da Universidade Federal do Piauí, localizada no município de Alvorada do Gurguéia, sul do estado do Piauí. Os animais foram separados em dois grupos cada um contendo 15 animais: Grupo controle e Grupo ACP 111<sup>®</sup>. Para o protocolo no dia 0 foi colocado dispositivo intra-vaginal com progesterona exógena e realizada a aplicação de 2 mg de Benzoato de Estradiol (BE). No dia 8 retirou-se o implante com aplicação de 12,5 mg de PGF<sub>2α</sub>, 300 UI de eCG e 1mg de Cipionato de Estradiol. A inseminação artificial em tempo fixo foi realizada 54 horas após a retirada do implante.

O diagnóstico, acompanhamento da gestação e sexagem fetal foi realizado por meio da utilização do aparelho de ultrassom (CTS – 900V, SIUI<sup>®</sup>), munido de transdutor transretal com frequência de 7,5 MHz. O acompanhamento da gestação foi realizado mensalmente para verificar o desenvolvimento a viabilidade fetal, além de avaliar a taxa de fertilidade e prolificidade destas vacas.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos referentes a taxa de fertilidade e proporção macho e fêmea estão descritos na tabela 1, observando que a taxa de fertilidade aos 60 dias foi de 13% em ambos os grupos (Grupo Controle e Grupo ACP<sup>®</sup>) não havendo portanto diferença significativa ( $P \leq 0,05$ ) entre os grupos. Este resultado não foi esperado, acreditamos que a taxa de fertilidade das vacas utilizadas em ambos grupos testados foi fortemente afetada pelas estações climáticas, onde na estação seca os animais são submetidos ao estresse térmico e redução na qualidade nutricional da pastagem empregada na alimentação. SÁ FILHO et al. (2010) encontrou taxa de prenhez de 51,4%, Carneiro et al. (2011) obteve taxa de prenhez de 79,1% em vacas Nelore submetidas a inseminação artificial em tempo fixo, ambos utilizando sêmen congelado-

descongelado. Para o resultado de proporção macho e fêmea houve diferença significativa entre o Grupo Controle e Grupo ACP<sup>®</sup>. No grupo controle observou-se que em 100% das vacas prenhes apresentaram fetos do sexo masculino, já no grupo ACP<sup>®</sup> 100% das vacas prenhes apresentaram fetos do sexo feminino, estes resultados corroboram com

os resultados encontrados por Machado et al. (2012) onde 58% dos animais nascidos do grupo que apresentava a diluição do sêmen em ACP111<sup>®</sup> foram fêmeas enquanto que 42% foram machos, já no grupo controle 100% dos nascimentos foram machos.

Tabela 1. Fertilidade e sexagem fetal em vacas Nelore inseminadas com sêmen rediluído em ACP 111<sup>®</sup> aos 45 dias de gestação.

Parâmetros	Grupo Controle	Grupo ACP <sup>®</sup>
Fertilidade aos 60 dias	13% (2/15) <sup>a</sup>	13% (2/15) <sup>a</sup>
Proporção de machos (%)	100 (2/2) <sup>a</sup>	0 (0/2) <sup>b</sup>
Proporção de fêmeas (%)	0 (0/2) <sup>b</sup>	100 (2/2) <sup>a</sup>

<sup>a,b</sup> Letras diferentes na mesma coluna apresentam diferença estatística ( $P \leq 0,05$ ).

Valores entre parênteses são referentes ao número de vacas ou bezerros.

### CONCLUSÃO

O diluente de sêmen de bovinos a base de água de coco em pó ACP 111<sup>®</sup> nesse estudo não pode ser considerado mais eficiente quando comparado ao grupo controle em relação a taxa de fertilidade, todavia o diluente ACP 111<sup>®</sup> demonstrou uma maior proporção de fetos fêmeas.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Carneiro, L. C.; Campos, C. C.; Santos, R. M. Timed artificial insemination and early diagnosis of pregnancy to reduce breeding season in Nelore beef cows. *Tropical Animal Health and Production*. 2011.

Machado, V.P.; Vieira, R. J.; Nunes, J. F.; Moura, A. A. A. Proporção sexual após inseminação artificial utilizando sêmen bovino rediluído em diluidor a base de água de coco em pó (ACP 111<sup>®</sup>). *Ciência Animal*. 2012.

Sá Filho, M. F.; Santos, J. E. P.; Ferreira, R. M.; Sales, J. N. S.; Baruselli, O. S. Importance of estrus on pregnancy per insemination in suckled *Bos indicus* cows submitted to estradiol/progesterone based timed insemination protocols. *Theriogenology*. 2011.

## TOXICIDADE DO EXTRATO BRUTO DE *Aloe vera* PARA ESPERMATOZOIDES EPIDIDIMÁRIOS DE BOVINOS DE CORTE

[*Aloe vera* crude extract toxicity to epididymal sperm in beef cattle]

**Claudevan da Rocha Fontes\***, Danilo de Sousa Lima, Willams Costa Neves, Camila Arrivabene Neves, Ney Rômulo de Oliveira Paula, Janaína de Fatima Saraiva Cardoso

Universidade Federal do Piauí. \*Autor para correspondência. E-mail: janainadefatima@hotmail.com.

**ABSTRACT** - The aim of this study was to evaluate *Aloe vera* crude extract in vitro toxicity on bull epididymal sperm. The testes pairs (n = 15) from Nelore bulls were collected at slaughterhouses. The spermatozoa were recovered from the cauda epididymis by retrograde flow using saline solution. The crude extract was extended in physiological saline solutions at 5, 10, 15 and 20% concentrations. Significant reduction were observed in sperm parameters after extending in solutions containing *Aloe vera* extract in comparison to control group. In conclusion, the *Aloe vera* crude extract shows toxicity to bull epididymal spermatozoa.

**Keywords:** *Aloe vera*; epididymal sperm; bull.

**Palavras chave:** *Aloe vera*; espermatozoide epididimário; touro.

### INTRODUÇÃO

De acordo com o IBGE (2010), o Brasil possui um efetivo bovino de 209.541.109 cabeças. Deste total a região nordeste conta com um efetivo de 28.762.119 de bovinos. Neste contexto, o estado do Piauí se encontra na décima nona posição com aproximadamente 1.679.957 animais.

A colheita de espermatozoides epididimários pode ser a última chance para assegurar a preservação do material genético após lesão ou morte do reprodutor. Estudos têm demonstrado que espermatozoides epididimários podem ser usados na inseminação artificial, fertilização in vitro e injeção intracitoplasmática de espermatozoides com resultados satisfatórios (James et al., 2002). Nesse contexto o objetivo desse estudo foi avaliar a toxicidade do extrato bruto de *Aloe vera* sobre espermatozoides epididimários bovinos in vitro.

### METODOLOGIA

Para obtenção do extrato bruto da planta *Aloe vera* foi realizada a retirada da camada externa do catafilo, posteriormente, a extração do parênquima da folha, com aspecto de gel incolor. Foi então filtrado e adicionado em um recipiente de vidro para divisão dos volumes a serem adicionados às soluções específicas.

Foram coletados 15 pares (n=15) de testículos de bovinos de corte oriundos de abatedouros da cidade

de Bom Jesus-PI. As peças foram higienizadas com álcool 70%, os espermatozoides foram recuperados da cauda do epidídimo por fluxo retrógrado com solução fisiológica em tubos de 15 mL.

O extrato bruto foi diluído em solução salina fisiológica nas concentrações de 5, 10, 15 e 20%. O sêmen foi diluído inicialmente à solução salina fisiológica. Neste teste, foi realizada a avaliação dos parâmetros de volume, motilidade, vigor, concentração e morfologia. Nesta etapa foram utilizados 15 pares (n=15) de testículos de bovinos.

Os resultados foram analisados quanto a distribuição normal e submetidos ao teste T student a 5% de significância.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados dos parâmetros espermáticos estão apresentados nas tabelas 1 a 3.

Neste trabalho foi verificado após a recuperação reduzida motilidade e vigor espermáticos. Como o processo de formação e liberação dos espermatozoides ocorre de forma cíclica, provavelmente nas colheitas foram obtidas populações de espermatozoides em vários estágios de maturação (Barth E Oko, 1989), fato que poderia explicar a baixa motilidade e vigor dos espermatozoides epididimários coletados. Por outro lado, as amostras poderiam ter sofrido influência de

fatores inerentes ao animal como fatores genéticos, nutricionais ambientais.

Neste trabalho foi verificado um efeito deletério com o aumento da concentração do extrato de *Aloe*

*vera*. Segundo Salomon e Maxwell (2000), quando há uma concentração elevada do crioprotetor pode causar danos osmóticos e tóxicos aos espermatozoides.

Tabela 1. Motilidade de espermatozoides epididimários de bovinos incubados a 37°C em de diferentes concentrações do extrato bruto de *Aloe vera*.

Tempo	Controle	5%	10%	15%	20%
5min	40,000 ± 23,299 <sup>a</sup>	19,333±16,676 <sup>b</sup>	18,667±16,847 <sup>b</sup>	10,667±11,629 <sup>b</sup>	3,667 ± 5,815 <sup>c</sup>
10min	38,000 ± 23,964 <sup>a</sup>	18,000 ± 17,403 <sup>b</sup>	17,333 ± 17,512 <sup>b</sup>	9,333 ± 11,629 <sup>b</sup>	1,667 ± 3,619 <sup>c</sup>
15min	34,000 ± 25,014 <sup>a</sup>	15,000 ± 18,028 <sup>b</sup>	13,333 ± 16,762 <sup>b</sup>	7,333 ± 12,228 <sup>b</sup>	0,667 ± 2,582 <sup>c</sup>
30min	27,333 ± 20,166 <sup>a</sup>	8,333 ± 12,199 <sup>b</sup>	7,333 ± 12,228 <sup>b</sup>	2,333 ± 5,627 <sup>bc</sup>	0,000 ± 0,000 <sup>c</sup>
60min	18,667 ± 15,055 <sup>a</sup>	2,667 ± 5,936 <sup>b</sup>	2,667 ± 5,936 <sup>b</sup>	1,000 ± 2,803 <sup>b</sup>	0,000 ± 0,000 <sup>c</sup>
120min	8,667 ± 8,338 <sup>a</sup>	0,000 ± 0,000 <sup>b</sup>	0,000 ± 0,000 <sup>b</sup>	0,000 ± 0,000 <sup>b</sup>	0,000 ± 0,000 <sup>c</sup>

<sup>abc</sup> Letras diferentes na mesma linha apresentaram diferença estatística (p≤0,05).

Tabela 2. Vigor em espermatozoides epididimários de bovinos incubados a 37°C em de diferentes concentrações do extrato bruto de *Aloe vera*.

Tempo	Controle	5%	10%	15%	20%
5min	1,933± 1,100 <sup>a</sup>	1,000± 0,756 <sup>b</sup>	1,000± 0,756 <sup>b</sup>	0,733± 0,594 <sup>b</sup>	0,400± 0,507 <sup>c</sup>
10min	1,867± 1,125 <sup>a</sup>	0,933± 0,206 <sup>b</sup>	0,933± 0,206 <sup>b</sup>	0,667± 0,617 <sup>b</sup>	0,200± 0,414 <sup>c</sup>
15min	1,600± 1,242 <sup>a</sup>	0,867± 0,834 <sup>ab</sup>	0,733± 0,704 <sup>b</sup>	0,467± 0,640 <sup>b</sup>	0,067± 0,258 <sup>c</sup>
30min	1,200± 0,941 <sup>a</sup>	0,533± 0,640 <sup>b</sup>	0,467± 0,640 <sup>b</sup>	0,200± 0,414 <sup>bc</sup>	0,000± 0,000 <sup>c</sup>
60min	0,933± 0,594 <sup>a</sup>	0,200± 0,414 <sup>b</sup>	0,200± 0,414 <sup>b</sup>	0,133± 0,352 <sup>b</sup>	0,000± 0,000 <sup>b</sup>
120min	0,667± 0,488 <sup>a</sup>	0,000±0,000 <sup>b</sup>	0,000±0,000 <sup>b</sup>	0,000±0,000 <sup>b</sup>	0,000±0,000 <sup>b</sup>

<sup>abc</sup> Letras diferentes na mesma linha apresentaram diferença estatística (p≤0,05).

Tabela 3. Percentual de espermatozoides morfolologicamente normais em amostras de espermatozoides epididimários de bovinos incubados a 37°C em de diferentes concentrações do extrato bruto de *Aloe vera*.

Tempo	Controle	5%	10%	15%	20%
5min	186,200±6,721 <sup>a</sup>	179,667±7,979 <sup>b</sup>	179,667±7,345 <sup>b</sup>	177,067±6,431 <sup>b</sup>	174,733±5,970 <sup>b</sup>
10min	185,333±6,894 <sup>a</sup>	179,400±7,109 <sup>b</sup>	176,867±8,202 <sup>bc</sup>	175,600±6,653 <sup>bc</sup>	172,800±5,254 <sup>c</sup>
15min	183,267±7,750 <sup>a</sup>	176,467±6,885 <sup>b</sup>	176,267±7,226 <sup>b</sup>	173,267±5,561 <sup>bc</sup>	171,467±4,764 <sup>c</sup>
30min	181,133±7,220 <sup>a</sup>	170,933±5,713 <sup>b</sup>	172,267±6,330 <sup>b</sup>	169,733±5,522 <sup>b</sup>	168,133±6,512 <sup>b</sup>
60min	178,000±6,845 <sup>a</sup>	168,467±5,718 <sup>b</sup>	168,200±6,293 <sup>b</sup>	166,933±5,775 <sup>b</sup>	165,133±6,289 <sup>b</sup>
120min	173,933±6,892 <sup>a</sup>	163,867±5,167 <sup>b</sup>	162,533±3,777 <sup>bc</sup>	161,667±4,577 <sup>c</sup>	159,400±4,687 <sup>c</sup>

<sup>abc</sup> Letras diferentes na mesma linha apresentaram diferença estatística (p≤0,05).

## CONCLUSÃO

O uso do extrato bruto de *Aloe vera* em diferentes concentrações (5, 10, 15, 20%), apresenta toxicidade aos espermatozoides epididimários de bovinos de corte.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Barth, A.D.; Oko, R.J. *Abnormal Morphology Of Bovine Spermatozoa*. Ames:Iowa State University Press, p.285, 1989.
- Instituto Brasileiro De Geografia E Estatística- *IBGE*. Produção da Pecuária Municipal, v.38, 2010.
- James, A.N.; Green, H.; Hoffman, S.; Landry, A.M.; Paccamonti, D.; Godke, R.A. Preservation of equine sperm stored in the epididymis at 4 °C for 24, 48, 72 and 96 hours. *Theriogenology*, v.58, p.401-404, 2002.
- Salomon, S., Maxwell, W. M. C. Storage of ram semen. *Animal Reproduction Science*, n.62, p.77-111, 2000.



## TOXICIDADE DO EXTRATO BRUTO DE *Mauritia flexuosa* PARA ESPERMATOZOIDES EPIDIDIMÁRIOS DE BOVINOS DE CORTE

[*Mauritia flexuosa* crude extract toxicity on epididymal spermatozoa from beef cattle]

Homero Batista da Rocha\*, Aderaldo da Silva Aquino, Daniela Kunkel, Willams Costa Neves, Ney Rômulo de Oliveira Paula, Janaina de Fátima Saraiva Cardoso

Universidade Federal do Piauí. \*Autor para correspondência. E-mail: janainadefatima@hotmail.com.

**ABSTRACT** - This study aimed to test the toxicity of the crude extract from *Mauritia flexuosa* for beef cattle epididymal spermatozoa. The use of the crude extract resulted in reduced sperm quality. Improving additive is necessary to reduce the toxicity of the *Mauritia flexuosa* extract enhancing the beneficial effects for use in seminal extenders.

**Keyword:** extender; epididymal sperm; bovine.

**Palavras chave:** diluente; espermatozoide epididimário; bovino.

### INTRODUÇÃO

Do ponto de vista sanitário, o uso de diluentes compostos de substâncias de origem vegetal são recomendados em relação aos diluidores tradicionais (Januskauskas et al., 2000). O fruto de *Mauritia flexuosa* e seus derivados são ricos em compostos antioxidantes (melo et al., 2008). Diante desse contexto o presente trabalho teve como objetivo, testar a toxicidade do extrato bruto de *Mauritia flexuosa* para espermatozoides epididimários de bovinos de corte.

### METODOLOGIA

Foi utilizado extrato bruto de *Mauritia flexuosa* em solução de Tris nas concentrações de 5, 10, 15 e 20%. Como grupo controle utilizou-se a solução salina fisiológica como diluente. Foram utilizados pares de testículos bovinos (n=15) oriundos de abatedouros. Os espermatozoides foram recuperados da cauda do epidídimo pelo método de fluxo retrógrado (Garde et al., 1994) em solução salina fisiológica. Para a avaliação da toxicidade *in vitro* os espermatozoides foram diluídos e avaliados a termorresistência a 37°C (CBRA, 1998), após 5, 10, 15, 30, 60 e 120 minutos de incubação. Realizou-se a avaliação dos parâmetros de motilidade espermática, vigor (0 a 5) e morfologia espermática em esfregaços corados com Rosa

Bengala Os resultados foram analisados quanto à distribuição normal e submetidos ao teste *t-student* a 5% de significância.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados estão descritos nas tabelas 1, 2 e 3. Foi observado um aumento das patologias e a redução drástica na qualidade espermática durante a incubação a 37°C. Essa redução na qualidade espermática pode estar relacionada à toxicidade do extrato bruto e ação direta sobre os espermatozoides uma vez que os mesmos não foram submetidos a processos criopreservação ou exposição a crioprotetores com toxicidade conhecida. Segundo Fabbrocini et al. (2000) crioprotetores e a ineficiência no processo de criopreservação são os principais responsáveis pelas crioinjúrias, que são provocadas nas células espermáticas. Em síntese, é desejável a utilização de meios diluentes em que a capacidade fecundante dos espermatozoides seja mantida por períodos prolongados (Schindler & Amir, 1961).

Diante dos resultados, faz-se necessário um aperfeiçoamento do aditivo de modo a reduzir a toxicidade do extrato de *Mauritia flexuosa* potencializando os efeitos benéficos para que o mesmo possa ser utilizado em diluentes seminais.

Tabela 1. Motilidade espermática dos espermatozoides extraídos da cauda do epidídimo de touros, após a adição dos diluentes a base do extrato de *Mauritia flexuosa* nas concentrações de 5, 10, 15 e 20%.

Minutos	Diluentes				
	Grupo controle	5% Extrato	10% Extrato	15% Extrato	20% Extrato
5	48,00 ± 14,73 <sup>a</sup>	5,80 ± 5,17 <sup>b</sup>	0,66 ± 1,49 <sup>b</sup>	0,20 ± 0,77 <sup>b</sup>	1,20 ± 2,83 <sup>b</sup>
10	45,00 ± 7,423 <sup>a</sup>	3,20 ± 4,14 <sup>b</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>b</sup>	0,20 ± 0,77 <sup>b</sup>	0,20 ± 0,77 <sup>b</sup>
15	37,00 ± 16,23 <sup>a</sup>	1,133 ± 2,77 <sup>b</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>c</sup>	0,13 ± 0,51 <sup>c</sup>	0,06 ± 0,06 <sup>c</sup>
30	25,00 ± 13,09 <sup>a</sup>	0,000 ± 0,00 <sup>c</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>c</sup>	0,13 ± 0,51 <sup>c</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>c</sup>
60	15,80 ± 8,38 <sup>a</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>c</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>c</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>c</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>c</sup>
120	9,20 ± 5,07 <sup>a</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>c</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>c</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>c</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>c</sup>

a-c: Letras diferentes na mesma linha a, b e c, indicam diferenças significativas P<0,05).

Tabela 2. Vigor espermático dos espermatozoides extraído da cauda do epidídimo de touros, após a adição dos diluentes a base do extrato de *Mauritia flexuosa* nas concentrações de 5, 10, 15 e 20%.

Minutos	Diluentes				
	Grupo controle	5% Extrato	10% Extrato	15% Extrato	20% Extrato
5	3,00 ± 0,65 <sup>a</sup>	1,00 ± 0,75 <sup>b</sup>	0,06 ± 0,25 <sup>c</sup>	0,06 ± 0,25 <sup>c</sup>	0,06 ± 0,25 <sup>c</sup>
10	2,80 ± 0,67 <sup>a</sup>	0,80 ± 0,56 <sup>b</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>c</sup>	0,06 ± 0,26 <sup>c</sup>	0,13 ± 0,51 <sup>c</sup>
15	0,20 ± 0,41 <sup>a</sup>	0,20 ± 0,41 <sup>b</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>b</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>b</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>b</sup>
30	1,60 ± 0,50 <sup>a</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>b</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>b</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>b</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>b</sup>
60	1,46 ± 0,41 <sup>a</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>b</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>b</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>b</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>b</sup>
120	0,86 ± 0,35 <sup>a</sup>	0,0 ± 0,00 <sup>b</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>b</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>b</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>b</sup>

a-c: Letras diferentes na mesma linha a, b e c, indicam diferenças significativas P<0,05).

Tabela 3. Percentual de espermatozoides morfologicamente normais após a adição dos diluentes a base do extrato de *Mauritia flexuosa* nas concentrações de 5, 10, 15 e 20%.

Minutos	Diluentes				
	Grupo controle	5% Extrato	10% Extrato	15% Extrato	20% Extrato
5	88,80 ± 13,30 <sup>a</sup>	85,80 ± 11,50 <sup>ab</sup>	84,70 ± 11,20 <sup>ab</sup>	86,20 ± 11,70 <sup>ab</sup>	82,80 ± 10,40 <sup>b</sup>
10	84,80 ± 10,20 <sup>a</sup>	86,20 ± 9,70 <sup>a</sup>	86,50 ± 9,10 <sup>a</sup>	86,60 ± 8,40 <sup>a</sup>	84,90 ± 10,20 <sup>a</sup>
15	83,60 ± 12,50 <sup>a</sup>	84,00 ± 12,10 <sup>a</sup>	84,80 ± 12,20 <sup>a</sup>	85,60 ± 10,80 <sup>a</sup>	82,50 ± 12,20 <sup>a</sup>
30	83,00 ± 13,40 <sup>a</sup>	84,20 ± 8,10 <sup>a</sup>	82,00 ± 11,70 <sup>a</sup>	85,90 ± 10,80 <sup>a</sup>	82,30 ± 13,20 <sup>a</sup>
60	60,20 ± 8,60 <sup>a</sup>	81,40 ± 14,90 <sup>a</sup>	81,80 ± 11,20 <sup>a</sup>	80,20 ± 13,90 <sup>a</sup>	78,90 ± 14,00 <sup>a</sup>
120	82,80 ± 13,70 <sup>a</sup>	80,50 ± 12,60 <sup>ab</sup>	78,30 ± 14,60 <sup>ab</sup>	78,10 ± 13,50 <sup>ab</sup>	76,20 ± 12,90 <sup>b</sup>

a-c: Letras diferentes na mesma linha a, b e c, indicam diferenças significativas P<0,05).

## CONCLUSÃO

O uso do extrato de *Mauritia flexuosa* nas concentrações de 5, 10, 15, 20% apresenta toxicidade *in vitro* ao espermatozoide bovino epididimário.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Colégio Brasileiro De Reprodução Animal. *Manual para Exame Andrológico e Avaliação de Sêmen Animal*, 2ª Ed., Belo Horizonte, 1998.
- Fabbrocini, A.; Lavadera, S.L.; Rispoli, S.; Sansone, G. Criopreservação of seabream (*Sparus aurata*) spermatozoa. *Cryobiology*, v. 40, n.10, p.46-53, 2000.
- Garde J., Aguado M., Pérez S., Garrido D., Pérez-Guzmán M. & Montoro V. Physiological characteristics of epididymal spermatozoa from postmortem rams. *Theriogenology*, v.41, p.203, 1994.
- Januskauskas, A.; Johannisson, A.; Rodriguez-Martinez, H. Assessment of sperm quality through fluorometry and sperm chromatin structure assay in relation to field fertility of frozen-thawed semen Swedish AI bulls. *Theriogenology*, v.55, p.947-961, 2001.
- Melo, K. S.; Figueirêdo, R. M. F.; Queiroz, A. J. M. Comportamento reológico da polpa do buriti com leite. *Rev. Biologia e Ciências da Terra*, v. 8, n.2, 2008.
- Schindler, H.; Amir, D. Longevity of ram sperm in various diluent and at different dilution rates. *Journal Agricultural Science*, v.56, p.183-189, 1961.

## **TOXICIDADE *IN VITRO* DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE SURFACTANTE EM SOLUÇÃO SALINA CONTENDO ÓLEO DE *Mauritia flexuosa* PARA ESPERMATOZOIDES EPIDIDIMÁRIOS DE TOUROS DE CORTE**

[*In vitro* toxicity of different surfactant concentrations in saline solution containing *Mauritia flexuosa* oil for bull epididymal spermatozoa]

**Juliana Alves de Oliveira\***, Daniela Kunkel, Harisson Nunes Batista, Danilo de Sousa Lima, Ney Rômulo de Oliveira Paula, Janaina de Fátima Saraiva Cardoso

Universidade Federal do Piauí. \* Autor para correspondência. E-mail: janainadefatima@hotmail.com.

**ABSTRACT** - This study aimed to evaluate the efficiency of saline solution supplemented with *Mauritia flexuosa* oil and surfactant for bovine epididymal spermatozoa conservation *in vitro*. The sperm parameters evaluation was done after semen extending using saline solution containing 20% of *Mauritia flexuosa* oil and sodium dodecyl sulfate at 0.5%, 0.25% and 0 1%. The parameters analyzed were: motility, vigor and morphology after 5, 10, 15, 30, 60 and 120 min incubation at 37 ° C. The control group was used physiological saline without additives. The solution containing *Mauritia flexuosa* oil and sodium dodecyl sulfate has toxicity to bull spermatozoa collected from epididymis.

**Keywords:** toxicity; epididymis spermatozoa; *Mauritia flexuosa*.

**Palavras-Chave:** Toxicidade; espermatozoides epididimários; *Mauritia flexuosa*.

### **INTRODUÇÃO**

O buriti (*Mauritia flexuosa*) apresenta-se rico em nutrientes com marcante conteúdo de lipídios e carotenoides (Carneiro E Carneiro, 2011), sendo estas, características que o qualificam com potencial para o desenvolvimento de diluentes seminais e/ou meios de conservação celulares. Tendo em vista que diante do risco de introdução de doenças exóticas, têm buscado por diluentes que não contenham substâncias de origem animal, demonstrando a necessidade de garantir elevada segurança sanitária nos processos biológicos (Bousseau et al., 1998)

O interesse na preservação de germoplasma tem grande importância, possibilitando a recuperação de espermatozoides funcionais do epidídimo de animais mesmo após sua morte (Foote, 2000). O objetivo do presente estudo foi avaliar a toxicidade do óleo de *Mauritia flexuosa* e surfactante para a espermatozoides epididimários bovinos *in vitro*.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

Foram coletados 15 pares de testículos de bovinos de corte oriundos de abatedouros da cidade de Bom Jesus-PI. As peças foram higienizadas, os

epidídimos dissecados e os espermatozoides recuperados da cauda do epidídimo por incisão e pressão manual em tubos contendo solução salina fisiológica. O óleo na concentração de 20% foi diluído em solução salina fisiológica e dodecil sulfato de sódio nas seguintes concentrações finais; 0,5%, 0,25%, e 0,1%. Foram avaliados os parâmetros: motilidade, vigor e morfologia espermática após 5, 10, 15, 30, 60 e 120 minutos de incubação a 37°C. Como grupo controle foi utilizado solução salina fisiológica. Os resultados foram analisados quanto à distribuição normal e submetido a teste t de *student* a 5% de significância.

### **RESULTADOS**

Nos resultados para o parâmetro de motilidade (tabela 1), vigor (tabela 2) e morfologia (tabela 3) observou-se que o grupo controle apresentou melhores índices em relação aos diluentes a base de *Mauritia flexuosa* em todas as concentrações testadas.

Os resultados apresentados neste trabalho mostram que a solução contendo óleo de *Mauritia flexuosa* e dodecil sulfato de sódio apresenta toxicidade para espermatozoides bovinos coletados da cauda do epidídimo.

No desenho experimental empregado neste trabalho não foi possível identificar se a toxicidade espermática ocorreu em decorrência do óleo de *Mauritia flexuosa* ou do dodecil sulfato de sódio. Contudo é sabido que o surfactante pode causar lesões na membrana plasmática dos

espermatozoides por afetar o conteúdo lipídico da mesma. Portanto, faz-se necessário a realização de novos estudos para aperfeiçoamento do uso do óleo de *Mauritia flexuosa* como aditivo em diluentes seminais.

Tabela 1. Motilidade de espermatozoides epididimários de touros diluídos em solução salina contendo óleo de *Mauritia flexuosa* e dodecil sulfato de sódio a 0,1%, 0,5% e 0,25%.

Tempo	Grupo controle	Concentração de surfactante		
		0,1%	0,5%	0,25%
5 min	27,667 ± 18,791 <sup>a</sup>	0,000 ± 0,000 <sup>b</sup>	0,000 ± 0,000 <sup>b</sup>	0,000 ± 0,000 <sup>b</sup>
10 min	17,667 ± 14,376 <sup>a</sup>	0,000 ± 0,000 <sup>b</sup>	0,000 ± 0,000 <sup>b</sup>	0,000 ± 0,000 <sup>b</sup>
15 min	18,533 ± 22,570 <sup>a</sup>	0,000 ± 0,000 <sup>b</sup>	0,000 ± 0,000 <sup>b</sup>	0,000 ± 0,000 <sup>b</sup>
30 min	16,200 ± 22,075 <sup>a</sup>	0,000 ± 0,000 <sup>b</sup>	0,000 ± 0,000 <sup>b</sup>	0,000 ± 0,000 <sup>b</sup>
60 min	10,867 ± 16,230 <sup>a</sup>	0,000 ± 0,000 <sup>b</sup>	0,000 ± 0,000 <sup>b</sup>	0,000 ± 0,000 <sup>b</sup>
120 min	10,867 ± 16,230 <sup>a</sup>	0,000 ± 0,000 <sup>b</sup>	0,000 ± 0,000 <sup>b</sup>	0,000 ± 0,000 <sup>b</sup>

<sup>a,b</sup> Letras diferentes na mesma linha indicam diferença estatística entre os tratamentos (P≤0,05).

Tabela 2. Vigor de espermatozoides epididimários de touros diluídos em solução salina contendo óleo de *Mauritia flexuosa* e dodecil sulfato de sódio a 0,1%, 0,5% e 0,25%.

Tempo	Grupo controle	Concentração de surfactante		
		0,1%	0,5%	0,25%
5 min	2,467 ± 1,060 <sup>a</sup>	0,000 ± 0,000 <sup>b</sup>	0,000 ± 0,000 <sup>b</sup>	0,000 ± 0,000 <sup>b</sup>
10 min	2,267 ± 1,280 <sup>a</sup>	0,000 ± 0,000 <sup>b</sup>	0,000 ± 0,000 <sup>b</sup>	0,000 ± 0,000 <sup>b</sup>
15 min	1,933 ± 1,486 <sup>a</sup>	0,000 ± 0,000 <sup>b</sup>	0,000 ± 0,000 <sup>b</sup>	0,000 ± 0,000 <sup>b</sup>
30 min	1,600 ± 1,352 <sup>a</sup>	0,000 ± 0,000 <sup>b</sup>	0,000 ± 0,000 <sup>b</sup>	0,000 ± 0,000 <sup>b</sup>
60 min	1,333 ± 1,291 <sup>a</sup>	0,000 ± 0,000 <sup>b</sup>	0,000 ± 0,000 <sup>b</sup>	0,000 ± 0,000 <sup>b</sup>
120 min	1,067 ± 1,163 <sup>a</sup>	0,000 ± 0,000 <sup>b</sup>	0,000 ± 0,000 <sup>b</sup>	0,000 ± 0,000 <sup>b</sup>

<sup>a,b</sup> Letras diferentes na mesma linha indicam diferença estatística entre os tratamentos (P≤0,05).

Tabela 3. Espermatozoides morfologicamente normais após diluição em solução salina contendo óleo de *Mauritia flexuosa* e dodecil sulfato de sódio a 0,1%, 0,5% e 0,25%.

Tempo	Grupo controle	Concentração de surfactante		
		0,1%	0,5%	0,25%
5 min	175,867 ± 12,082 <sup>a</sup>	84,533 ± 65,768 <sup>b</sup>	50,200 ± 61,484 <sup>b</sup>	54,467 ± 67,662 <sup>b</sup>
10 min	163,933 ± 20,841 <sup>a</sup>	75,067 ± 73,171 <sup>b</sup>	57,467 ± 54,351 <sup>b</sup>	58,400 ± 70,937 <sup>b</sup>
15 min	166,800 ± 19,505 <sup>a</sup>	65,200 ± 72,580 <sup>b</sup>	28,467 ± 40,750 <sup>b</sup>	51,333 ± 62,605 <sup>b</sup>
30 min	165,533 ± 18,458 <sup>a</sup>	66,533 ± 67,627 <sup>b</sup>	36,733 ± 51,558 <sup>b</sup>	45,267 ± 58,932 <sup>b</sup>
60 min	152,800 ± 30,720 <sup>a</sup>	54,067 ± 70,263 <sup>b</sup>	34,467 ± 44,815 <sup>b</sup>	47,200 ± 61,150 <sup>b</sup>
120 min	148,267 ± 33,712 <sup>a</sup>	47,867 ± 65,620 <sup>b</sup>	22,133 ± 39,788 <sup>b</sup>	30,667 ± 45,316 <sup>b</sup>

<sup>a,b</sup> Letras diferentes na mesma linha indicam diferença estatística entre os tratamentos (P≤0,05).

## CONCLUSÃO

A solução contendo óleo de *Mauritia flexuosa* e dodecil sulfato de sódio mostrou-se tóxica para espermatozoides coletados do epidídimo de touros.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Bousseau, S.; Brillard, J.P.; Marquant-Le Guienne, B.; Guérin, B.; Camus, B.; Lechat, M. Comparison of bacteriological qualities of various egg yolk sources and in vitro and in vivo fertilizing potential of bovine semen frozen in egg yolk or lecithin based diluents. *Theriogenology*, v. 50, p. 699-706, 1998.

Carneiro, T. B.; Carneiro, J.G.M. Frutos e polpa desidratada buriti (*Mauritia flexuosa* L.): aspectos físicos, químicos e tecnológicos. *Revista Verde*, v.6, n.2, p. 105-111, 2011

Foote, Rh. Letter to the editor. *J Androl.*, n.2, p.355, 2000.

## **Caninos**

## ADIÇÃO DO TROLOX® AO DILUIDOR TRIS-GEMA NA CRIOPRESERVAÇÃO DE SÊMEN DE CÃES DA RAÇA ROTTWEILER

*[Addition of Trolox® tris-egg yolk to the extender on cryopreservation of semen from the Rottweiler breed dogs]*

Luanna Soares de Melo Evangelista<sup>1</sup>, Marcos Antônio Celestino Filho<sup>2</sup>, Ícaro Oliveira Torres de Souza<sup>1\*</sup>, Marlon de Araújo Castelo Branco<sup>3</sup>, Luiz Harlton Cavalcante Monteiro Mota<sup>1</sup>, José Adalmir Torres de Souza<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Pós-graduandos em Ciência Animal UFPI. \* Autor para correspondência. E-mail: icaro\_torres@hotmail.com.

<sup>2</sup>Aluno de Iniciação Científica UFPI.

<sup>3</sup>Pós-graduando Renorbio – Campus UFPI.

<sup>4</sup>Prof. Dr. Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, CCA/UFPI.

**ABSTRACT** - Semen was collected from six Rottweilers by digital manipulation and evaluated for volume, color, appearance, concentration, motility and vigor. The animals were divided into three groups: GI - ejaculates, diluted in Tris-egg yolk without addition of Trolox®, GII - added 1mM Trolox®, and GIII - added 2mM Trolox®. The samples were thawed in Rapid test of thermoresistance (TTR), and evaluated by the test hypoosmotic (HOST). TTR showed a significant reduction ( $P<0.05$ ) on percentage of motile cells as a function of incubation time. HOST sperm cells showed a significant difference ( $P<0.05$ ) between the GI and the other groups. It was concluded that the addition of Trolox® at concentrations of 1mM and 2mM Tris-yolk to the extender, not proved efficient in sperm cryopreservation of the Rottweiler breed dogs after thawing.

**Keywords:** antioxidant; dogs; semen; trolox.

**Palavras-Chave:** antioxidante; cães; sêmen; trolox.

### INTRODUÇÃO

Os cães da raça Rottweiler, a partir dos anos noventa, se tornaram muito comuns no Brasil, principalmente por suas habilidades como cão policial e de guarda (Tausz, 2004). Os criadores de cães passaram a investir na utilização de biotécnicas da reprodução, proporcionando um incremento na eficiência reprodutiva de seus animais.

A criopreservação do sêmen é uma das principais biotecnologias aplicadas à reprodução animal, pois ela permite o transporte e a conservação de material genético. Contudo, sabe-se que o processo de criopreservação causa danos à célula espermática (Peña-Martinez, 2004). Um dos principais fatores que levam a injúrias às células espermáticas é o ataque de espécies reativas de oxigênio (ROS) que provocam estresse oxidativo (Maia; Bicudo, 2009).

A adição de antioxidantes aos meios de refrigeração e congelação de sêmen ajuda a proteger o espermatozoide contra o dano induzido pelos radicais livres sobre a motilidade, vigor, produção de energia e integridade do DNA (Maia; Bicudo, 2009). O ácido carboxílico 6-Hidroxy-2,5,7,8-

tetramethylchroman-2-, comercialmente conhecido como Trolox®, é um análogo da Vitamina E, que atua como captador de ROS e reparador de membranas, interferindo na peroxidação lipídica, preservando a capacidade de fusão dos espermatozoides aos ovócitos (Peixoto, 2008).

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos do Trolox® como antioxidante no sêmen criopreservado de cães da raça.

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 06 cães da raça Rottweiler, com idade entre 02 a 04 anos. O sêmen dos cães foi colhido semanalmente, pela técnica de manipulação digital, totalizando um mês de coletas. Foram avaliados quanto ao volume, cor, aspecto, concentração, motilidade e vigor espermáticos. O diluidor utilizado foi o Tris-frutose-ácido cítrico e a este foram acrescentados gema de ovo (20%) e glicerol (6%).

As amostras foram coletadas em tubos falcon (15ml) e transferidas para um refrigerador até atingir a temperatura de 4°C, por 30 minutos. Em seguida, foram colocadas em palhetas de 0,25ml,

previamente identificadas, dispostas horizontalmente em rampa de congelação, a 5cm do nível do nitrogênio líquido, por 5 minutos e, posteriormente mergulhadas em botijão de criopreservação a  $-196^{\circ}\text{C}$ .

Os animais foram divididos em três grupos: GI - ejaculados dos 06 animais, diluídos em Tris-gema, sem adição de Trolox®; GII - ejaculados dos animais, adicionados ao diluidor a uma concentração de 1mM de Trolox®; e no GIII - ejaculados dos animais, adicionados ao diluidor a uma concentração de 2mM de Trolox®.

As amostras foram descongeladas em banho-maria a uma temperatura de  $37^{\circ}\text{C}$  por 1 minuto e avaliadas quanto à motilidade e vigor espermáticos, pelo Teste de Termorresistência Rápida (TTR), nos tempos de 0, 30 e 60 minutos e pelo Teste Hiposmótico (HOST), utilizando água destilada (0mOsm/Kg) como solução hiposmótica. A Análise estatística foi realizada pela Análise de variância utilizando o programa Assistat versão 7.7, seguida do teste de Tukey para comparação das médias. Diferenças foram consideradas significativas quando  $P < 0,05$  e os resultados foram expressos na forma de média $\pm$ EPM.

## RESULTADOS

As amostras de sêmen fresco dos cães apresentaram coloração branco-opalescente e aspecto leitoso. As médias e desvios-padrão dos parâmetros analisados para sêmen fresco foram  $1,12 \pm 0,29$ ml de volume seminal;  $88,5 \pm 1,65\%$  de motilidade progressiva e  $3,47 \pm 0,05$  de vigor espermático. Após a descongelação, se evidenciou diferença significativa ( $P < 0,05$ ) na motilidade progressiva entre os grupos,  $43,75\%$  para o GI, GII ( $19,0\%$ ) e o GIII ( $9,5\%$ ), já o vigor espermático não apresentou diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre o GI ( $2,97$ ) e o GII ( $2,67$ ), diferindo estatisticamente do GIII ( $2,25$ ). Durante a realização do TTR ( $37^{\circ}\text{C}$ ), se

evidenciou redução significativa ( $P < 0,05$ ) no percentual de células móveis, em função do tempo de incubação, até os 60 minutos de avaliação, em todos os grupos analisados.

Ao Teste Hiposmótico, após a descongelação, se evidenciou diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre as amostras do GI e dos demais grupos. Os resultados mostraram  $61\%$  de espermatozoides com cauda não enrolada no GI;  $75\%$  no GII e  $83\%$  no GIII, portanto, os espermatozoides destes grupos foram considerados com membrana plasmática lesionada, já que a capacidade da cauda do espermatozoide dobrar na presença de uma solução hiposmótica indica que a membrana está íntegra e funcional.

## CONCLUSÃO

Concluiu-se que a adição do Trolox®, nas concentrações de 1mM e 2mM ao diluidor Tris-gema, não se mostrou eficiente na criopreservação do sêmen de cães da raça Rottweiler após a descongelação, analisados pelo TTR e pelo teste hiposmótico. Entretanto, outras pesquisas devem ser realizadas visando analisar o efeito deste antioxidante, em outras concentrações, na preservação da capacidade fertilizante do sêmen de cães.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Maia M. S.; Bicudo S. D. Radicais livres, antioxidantes e função espermática em mamíferos: uma revisão. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.33, n.4, p.183-193, 2009.
- Peixoto, M. M. P. G. *Adição dos antioxidantes Trolox e Glutathione reduzida ao diluidor de criopreservação de sêmen de cães*. 2008. 57p. Tese (Mestrado em Ciência Veterinária) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Pernambuco.
- Peña-Martinez, I. Canine fresh and cryopreserved semen evaluation. *Animal Reproduction Science*, v.82-83, p.209-224, 2004.
- Tausz, B. *O Rottweiler*. 2ª. ed. São Paulo: Nobel, 2004.

## AVALIAÇÕES ULTRASSONOGRÁFICAS E HISTOPATOLÓGICA DOS TESTÍCULOS DE CÃO CRIPTORQUÍDICO APÓS ORQUIDOPEXIA UNILATERAL

*[Testicular sonographic and histopathologic evaluations of a cryptorchidic dog after unilateral orchidopexy]*

Ticiano Franco Pereira da Silva<sup>1</sup>, Mirley Barbosa de Souza<sup>1</sup>, José Nicodemos Pinto<sup>1</sup>, Daniel de Araújo Viana<sup>1</sup>, Daniel Couto Uchoa<sup>1\*</sup>, Lúcia Daniel Machado da Silva<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratório de Reprodução de Carnívoros, FAVET, Universidade Estadual do Ceará. \* Autor para correspondência. E mail: ticifranco@hotmail.com

**ABSTRACT-** It was aimed to report changes in ultrasonographic and histopathological parameters in the testes of a cryptorchidic dog after an unilateral orchidopexy. A French Bulldog male dog was submitted to ultrasonographic examinations to evaluate appearance, peak systolic velocity, end diastolic velocity, resistance and pulsatility index of the testicular artery. After that, an orchiectomy was performed and a histological evaluation was made. The fixed testis was heterogeneous, with hypoechoic areas and undefined mediastinum and Doppler values showed decreased velocities. Histopathological appearance showed atrophy, with no evidence of spermatogenesis. It was concluded that orchidopexy generate changes that can quickly lead to infertility.

**Keywords:** dog; cryptorchidism, orchidopexy; ultrasonography; pathology.

**Palavras-Chave:** cão; criptorquidismo; orquidopexia; ultrassonografia; patologia.

### INTRODUÇÃO

O criptorquidismo é uma afecção hereditária caracterizada por ausência de um ou ambos os testículos na bolsa escrotal, permanecendo no tecido subcutâneo, abdômen ou canal inguinal (Miller et al., 2004), sendo o unilateral o mais comum. Em cães, relata-se maior incidência em raças de pequeno porte, sendo grande o número de casos de testículos ectópicos que se metaplasiam em tumores malignos quando não removidos precocemente (Oliveira et al., 2013). É comum que cães de alto valor zootécnico sejam submetidos à cirurgia de remoção do testículo ectópico, e colocação de próteses ou ainda à orquidopexia, considerada uma cirurgia anti-ética, pois mantém o risco das alterações tumorais. A ultrassonografia pode ser utilizada como auxílio diagnóstico das enfermidades testiculares, que podem cursar com infertilidade (Schurich et al., 2009). Não foram relatados em cães casos de avaliação ultrassonográfica testicular após orquidopexia, mas somente em animais apresentando tumores testiculares (Günzel-Apel et al., 2001). Assim, o objetivo é relatar as alterações à ultrassonografia bidimensional, dopplervelocimétrica e histopatológica em testículos de cão criptorquídico submetido à orquidopexia unilateral esquerda.

### MATERIAL E MÉTODOS

Um cão da raça Buldogue Francês (8 meses; 12,7kg) submetido à orquidopexia unilateral, apresentando edema e dor no hemi-saco escrotal direito (testículo tóxico) foi avaliado à ultrassonografia Triplex Doppler por suspeita de torção testicular. Novas avaliações ultrassonográficas foram realizadas nos dias 23, 79 e 106 após o procedimento devido a relato de novo edema no local. As avaliações foram realizadas utilizando-se aparelho SonoAce PICO-Medison<sup>®</sup> com transdutor linear multifrequencial de 5-9 MHz. Para avaliação dopplervelocimétrica da artéria testicular nas regiões de cordão espermático, marginal ao testículo e intratesticular, utilizou-se auxílio do Doppler pulsado para o cálculo dos parâmetros de velocidade de pico sistólico (VPS), velocidade diastólica final (VDF) e índices de resistência (IR) e de pulsatilidade (IP). Aos 106 dias após a orquidopexia, realizou-se orquiectomia por incisão parapeniana bilateral após indução anestésica com atropina (0,02mg/kg), diazepam (0,25mg/kg), tramadol (2mg/kg) e propofol (5mg/kg), intubação e manutenção de anestesia inalatória com isoflurano em circuito fechado. Os testículos foram submetidos à histologia clássica para avaliação de malignidade.



**RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Pela ultrassonografia Doppler, observaram-se ondas com padrão de fluxo próximo ao laminar, com baixas velocidades de pico sistólico, principalmente no cordão espermático do testículo esquerdo. Os valores dopplervelocimétricos da artéria testicular mensurados nas três regiões dos testículos estão expressos na tabela 1. O fluxo na artéria testicular é descrito com um padrão de baixa resistência, com picos sistólicos evidentes e alta velocidade de fluxo na diástole (Günzel-Apel et al., 2001), não sendo visualizado no cão estudado, indicando alterações

no fluxo sanguíneo testicular. Nos exames bidimensionais, observou-se edema peritesticular direito e em torno da incisão cirúrgica. O testículo fixado era heterogêneo, com áreas hipocogênicas e mediastino indefinido. À histopatologia, não se observou malignidade, mas graus variáveis de atrofia, em ambos os testículos, sendo maior no testículo fixado, sem indícios de espermatogênese neste testículo. Acredita-se que isto pode ter sido consequência da baixa velocidade de fluxo observada, já que isto pode induzir a apoptose (Bergh et al, 2001).

Tabela 1. Parâmetros dopplervelocimétricos (média  $\pm$  EP) mensurados na artéria testicular localizada no cordão espermático, marginalmente ao testículo e intratesticular nos lado direito e esquerdo.

PARÂ- METROS	DIREITO			ESQUERDO		
	Cordão espermático	Marginal	Intra- testicular	Cordão espermático	Marginal	Intra- testicular
VPS(cm/s)	11,38 $\pm$ 0,25	11,46 $\pm$ 0,71	5,35 $\pm$ 0,04	8,60 $\pm$ 0,70	6,35 $\pm$ 0,35	6,90 $\pm$ 0,54
VDF(cm/s)	5,35 $\pm$ 1,61	7,44 $\pm$ 0,23	3,33 $\pm$ 0,81	5,34 $\pm$ 0,61	4,72 $\pm$ 0,48	4,96 $\pm$ 0,26
IR	0,53 $\pm$ 0,11	0,36 $\pm$ 0,01	0,37 $\pm$ 0,11	0,38 $\pm$ 0,03	0,26 $\pm$ 0,05	0,28 $\pm$ 0,08
IP	0,70 $\pm$ 0,17	0,44 $\pm$ 0,05	0,58 $\pm$ 0,23	0,48 $\pm$ 0,03	0,31 $\pm$ 0,06	0,34 $\pm$ 0,12

Velocidade de pico sistólico (VPS), velocidade diastólica final (VDF), índice de resistência (IR) e índice de pulsatilidade (IP).

**CONCLUSÃO**

A orquidopexia gera alterações na aparência e na vascularização testicular que podem levar rapidamente à infertilidade.

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

Bergh, A.; Collin, O.; Lissbrant, E. Effects of acute graded reductions in testicular blood flow on testicular morphology in the adult rat. *Biology of Reproduction*, v. 64, p. 13-20, 2001.

Günzel Apel, A. R.; Moè Hrke, C.; Poulsen Nautrup, C. Colour-coded and Pulsed Doppler Sonography of the Canine Testis, Epididymis and Prostate Gland: Physiological and Pathological

Findings. *Reproduction in Domestic Animals*, v.36, p. 36-40, 2001.

Oliveira, C. H. P.; Pinto, J. N.; Silva, T. F. P. Criptorquidismo em cães e gatos: levantamento de casos atendidos na unidade hospitalar veterinária da Faculdade de Veterinária da Universidade Estadual do Ceará. Anais da XVIII Semana Universitária da UECE, 2013.

Miller, N. A.; Van Lue, S. T.; Rawlings, C. A. Use of laparoscopic-assisted cryptorchidectomy in dogs and cats. *JAVMA*, v.224, n.6, 2004.

Schurich, M.; Aigner, F.; Frauscher, F.; Pallwein, L. The role of ultrasound in assessment of male fertility. *European Journal of Obstetrics Gynecology*, v.144, p.192-198, 2009.

## COMPARAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE TESTOSTERONA ENTRE CÃES FÉRTEIS E INFÉRTEIS

*[Comparison of serum testosterone concentrations between fertile and infertile dogs]*

Francisco Felipe de Magalhães<sup>1\*</sup>, Mírley Barbosa de Souza<sup>1</sup>, Herlon Victor Rodrigues Silva<sup>1</sup>, José Nicodemos Pinto<sup>1</sup>, Carmen Vlândia Soares Sousa<sup>1</sup> Lúcia Daniel Machado da Silva<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratório de Reprodução de Carnívoros, Faculdade de Veterinária / UECE. \* Autor para correspondência. E-mail: felipefavet@gmail.com

**ABSTRACT-** The aim of this study was to compare serum testosterone concentrations in fertile dogs and in dogs with a history of infertility. Twenty dogs were equally divided in two groups (fertile and history of infertility) and serum testosterone concentrations were evaluated after three collection of blood samples, with 7-day intervals, always at the same time of the day. The mean serum testosterone concentrations of fertile dogs ( $1.81 \pm 0.87$  ng/mL) was significantly higher than dogs with infertility history ( $1.40 \pm 0.62$  ng/mL). It was concluded that serum testosterone level is higher in fertile dogs, and this parameter can be used in breeding soundness evaluation.

**Keywords:** hormone dosage; canine reproduction; infertility.

**Palavras-Chave:** dosagem hormonal; reprodução canina; infertilidade.

### INTRODUÇÃO

A testosterona apresenta um importante papel na manutenção da libido e da espermatogênese nos cães. Uma deficiência nas concentrações séricas dessa pode predispor perda da libido em cães (Feldman & Nelson, 1996). Níveis de testosterona plasmática apresentam mudanças sazonais em vários parâmetros da capacidade reprodutiva, sendo bem observado em ursos negros Americanos (Brito et al., 2011) e em quatis (Paz et al., 2012). O padrão pulsátil da secreção de testosterona em cães é importante para adquirir informações acerca da função endócrina testicular, já que os níveis apresentam diferenças ao longo do dia (Souza et al., 2004). Cães com a libido normal e com habilidade de acasalamento apresentam taxas abaixo de 0,4 ng/mL (Feldman & Nelson, 1996). Apesar disso, esses cães, podem não apresentar resultado de gestação positiva em fêmeas consideradas férteis, sendo necessário conhecer os níveis de testosterona sérica nos animais que apresentam histórico de infertilidade. Por isso, o objetivo deste trabalho foi comparar os valores dos níveis séricos de testosterona em cães férteis e com histórico de infertilidade.

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 10 cães das raças Labrador (2), Rotweiler (4) e Pastor Alemão (4), com idade entre 2 e 8 anos e peso variando de 33 a 42 Kg, de fertilidade comprovada; e 10 cães das raças Fila Brasileiro (2), Golden Retriever (2), Rotweiler (3) e Pastor Alemão (3), com idade de 4 a 8 anos e peso variando de 35 a 44 kg, com histórico de cobertura sem gestação no último ano com diferentes fêmeas de fertilidade comprovada, pertencentes à 4ª Cia de Choque/ CPCÃES e proprietários particulares, localizados na região metropolitana de Fortaleza, no estado do Ceará.

Para avaliação da testosterona sérica, foram realizadas três coletas de sangue com intervalo de sete dias entre elas, sempre realizadas às 9 horas da manhã. As amostras foram coletadas por punção venosa em tubos sem anticoagulantes, sendo então centrifugadas a 10.000 rpm por 10 minutos, sendo o soro recolhido e congelado a -80 °C. O soro foi avaliado no departamento de Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP, Campus de Botucatu - SP, utilizando kit de radioimunoensaio comercialmente disponível (Testosterona Total, Coat-a-Count® Diagnostics Products Corporation, Los Angeles, CA, USA).

Os dados foram expressos sob a forma de média  $\pm$  DP e as médias foram comparadas pelo teste t de Student com significância de  $P < 0,05$ .

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

As concentrações de testosterona para cães férteis e com histórico de infertilidade foram respectivamente  $1,81 \pm 0,87$  ng/mL e  $1,40 \pm 0,62$  ng/mL, com machos férteis apresentando valores superiores ( $t = 2,17$ ;  $gl = 56$ ;  $p = 0,03$ ). Os valores dos níveis de testosterona dos animais estão de acordo com o descrito por Feldman & Nelson (1996), que relatam que níveis de 1,0 até 2,5 ng/mL são considerados normais para cães. Porém, estes autores relatam que níveis de até 0,4 ng/mL podem ser observados em cães com a libido normal, mas com qualidade seminal comprometida, já testosterona é responsável, além da manifestação da libido, a apresentação dos caracteres sexuais masculinos e produção de espermatozoides (Alam et al., 2007). Por isso, é possível observar cães com níveis de testosterona apresentados pelos animais inférteis, mesmo dentro do intervalo considerado normal, e ainda assim, não produzir uma gestação positiva em cadela fértil, sendo necessária a dosagem hormonal para se fechar um diagnóstico.

### CONCLUSÃO

A concentração sérica de testosterona foi mais elevada em cães férteis do que em cães com histórico de infertilidade utilizados neste estudo, podendo esse parâmetro ser empregado na avaliação andrológica.

### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à 4<sup>a</sup> Cia de Choque/CPCÃES e aos proprietários particulares pela concessão dos animais utilizados nesse estudo, à M.Sc. Camila Louise Ackermann pela realização das dosagens hormonais e à M.Sc. Jussira Candeira Spíndola Linhares pela análise estatística; e ainda ao CNPq, CAPES e FUNCAP pelo apoio financeiro.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alam, M. R.; Cho, Y. G.; Cho, S. J.; Lee, J. I.; Lee, H. B.; Tae, H. J.; Kim, I. S.; Kim, N. S. Male pseudohermaphroditism in dogs: three case reports. *Veterinary Medicine*, v.52, n.2, p.74-78, 2007.
- Brito, L. F. C.; Sertich, P. L.; Rivers, W.; Knobbe, M.; Del Piero, F.; Stull, G. B. Effects of intratesticular zinc gluconate treatment on testicular dimensions, echodensity, histology, sperm production and testosterone secretion in American black bears (*Ursus americanus*). *Theriogenology*, v.75, p.1444-1452, 2011.
- Feldman, E. C.; Nelson, R. W. Canine and feline endocrinology and reproduction. *Philadelphia: WB Saunders*, 487p. 1996.
- Souza, F. F.; Leme, D. P.; Uechi, E.; Trinca, L. A.; Lopes, M. D. Evaluation testicular fine needle aspiration cytology and serum levels of testosterone in dogs. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v.41, p.98-105, 2004.
- Paz, R. C. R.; Avila, H. B. S.; Morgado, T. O.; Nichi, N. Seasonal variation in serum testosterone, testicular volume and semen characteristics in coatis (*Nasua nasua*). *Theriogenology*, v.77, p.1275-1279, 2012.

## COMPARAÇÃO DOS PARÂMETROS ESPERMÁTICOS E BIOQUÍMICOS DO LÍQUIDO PROSTÁTICO DE CÃES DA RAÇA PASTOR ALEMÃO E ROTTWEILER

[Comparison of spermatic parameters and prostatic fluid biochemical profile in German Shepherd and Rottweiler dogs]

Annice Aquino-Cortez<sup>1\*</sup>, Michele Costa Silva<sup>2</sup>, Annira Aquino Cortez<sup>3</sup>, Vinícius Rodrigues de Castro e Silva<sup>4</sup>, Francisca Sônia Martins Crisóstomo<sup>1</sup>, Lúcia Daniel Machado da Silva<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratório de Reprodução de Carnívoros, FAVET / UECE. \* Autor para correspondência. E-mail: annicevet@gmail.com.

<sup>2</sup> FATENE.

<sup>3</sup> ADAGRI/CE.

<sup>4</sup> Programa em Biotecnologia dos Recursos Naturais, UFC.

**ABSTRACT** - It was aimed to compare semen and ions concentrations in the prostatic fluid (PF) of German Shepherd (GS) and Rottweiler (RT) dogs. Five semen collections of each dog (5 / breed) were accomplished and the following parameters assessed: total motility (TM), vigor, concentration, percentage of sperm alive and normal morphology, as well as pH, cellular distribution and concentrations of calcium, phosphorus and magnesium were evaluated in prostatic fluid. RT presented higher TM, concentration, percentage of alive sperm and normal morphology than GS dogs. However, these dogs demonstrated higher levels of Ca in PF. Differences were not observed concerning sperm vigor, P and Mg concentrations, pH or the cellular distribution in PF. It was concluded that RT present better semen quality than GS dogs and a smaller liberation of calcium in PF.

**Keywords:** dogs; prostatic fluid; semen.

**Palavras-Chave:** cães; fluido prostático; sêmen.

### INTRODUÇÃO

Pesquisas estão sendo realizadas a fim de investigar a ação dos diferentes componentes bioquímicos no plasma seminal (PS) de cães (Souza, 2007). A estimativa destes constituintes no sêmen pode auxiliar no diagnóstico de alterações seminais, fornecendo bases fisiológicas importantes para o estudo da motilidade e do metabolismo espermático (Pinheiro *et al.*, 1996). Dentre estes, o Ca, P e Mg estão envolvidos na capacitação espermática (Visconti & Kopf, 1998), na ativação e inativação de enzimas (Abdel-Rahman *et al.*, 2000) e como potente estimulador da motilidade espermática (Lapointe *et al.*, 1996), respectivamente. Assim, este trabalho objetivou comparar cães das raças Pastor Alemão e Rottweiler quanto aos parâmetros espermáticos e às concentrações destes íons no LP. Em nossa região, estas duas raças são bastante utilizadas para o serviço de guarda, além de apresentarem alto valor genético.

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados cães das raças Pastor Alemão (n=5) e Rottweiler (n=5), idade média de 43 ± 3

meses e saudáveis. Foram coletadas cinco amostras de sêmen de cada cão através de manipulação digital. A fração espermática foi submetida à análise microscópica (100x) para: motilidade (%), vigor (0-5), concentração (espectrofotometria), porcentagem de espermatozoides vivos (eosina/nigrosina -1.000x) e morfologia (hematoxilina/eosina-HE - 1.000x). O LP coletado foi centrifugado duas vezes (3.960 rpm / 20 min / 20 a 25 °C). O precipitado destinou-se à avaliação citológica através de um esfregaço corado com HE e as células classificadas como prostática queratinizada ou normal (Aquino-Cortez *et al.*, 2003). O pH do sobrenadante foi mensurado por fitas reagentes e congelado a -20 °C. Para as dosagens bioquímicas do LP, as amostras foram descongeladas (20 a 25 °C / 2 minutos). As concentrações de Ca, P e Mg foram avaliadas em duplicatas através de kits comerciais por fotolorimetria.

O teste Whitney Mann foi utilizado para comparar os parâmetros espermáticos e bioquímicos das duas raças (p<0,05).

**RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A motilidade, concentração espermática, porcentagem de vivos e morfologia normal foram significativamente superiores nos cães Rottweiler. O vigor espermático, pH e distribuição celular não diferiram entre as raças. Assim, sugere-se que não existe influência racial sobre o pH do LP e epitélio prostático. Em relação à bioquímica, somente a

concentração de Ca foi maior nos cães Pastores Alemães do que nos Rottweilers (Tab.1). Acredita-se que o Ca apresente um efeito maléfico sobre a qualidade espermática canina. Este íon pode ser encontrado na sua forma ionizada ou ligado a moléculas como o ácido cítrico ou proteínas (Mann; L-Mann, 1981), havendo a necessidade de mais estudo que elucidem o seu real efeito sobre a qualidade espermática de cães.

Tabela 1. Média  $\pm$  DP dos parâmetros espermáticos e bioquímicos do LP de cães das raças Pastor Alemão (n = 5) e Rottweiler (n = 5).

Parâmetros	Pastor Alemão	Rottweiler
Motilidade espermática (%)	61,20 $\pm$ 41,49 <sup>a</sup>	84,00 $\pm$ 33,22 <sup>b</sup>
Vigor espermático (0-5)	2,86 $\pm$ 1,87 <sup>a</sup>	3,72 $\pm$ 1,64 <sup>a</sup>
Concentração ( $\times 10^6$ sptz/mL)	286,53 $\pm$ 359,12 <sup>a</sup>	570,60 $\pm$ 329,00 <sup>b</sup>
Espermatozoides vivos (%)	84,08 $\pm$ 16,75 <sup>a</sup>	86,40 $\pm$ 27,41 <sup>b</sup>
Espermatozoides normais (%)	58,66 $\pm$ 28,23 <sup>a</sup>	83,00 $\pm$ 23,53 <sup>b</sup>
pH	6,62 $\pm$ 0,49 <sup>a</sup>	6,68 $\pm$ 0,47 <sup>a</sup>
Células prostáticas normais (%)	1,96 $\pm$ 4,05 <sup>a</sup>	2,12 $\pm$ 4,43 <sup>a</sup>
Células prostáticas queratinizadas (%)	98,04 $\pm$ 4,05 <sup>a</sup>	97,88 $\pm$ 4,43 <sup>a</sup>
Cálcio (mg/dL)	1,82 $\pm$ 1,97 <sup>a</sup>	0,72 $\pm$ 0,26 <sup>b</sup>
Fósforo (mg/dL)	0,57 $\pm$ 0,30 <sup>a</sup>	0,52 $\pm$ 0,21 <sup>a</sup>
Magnésio (mg/dL)	2,38 $\pm$ 0,62 <sup>a</sup>	2,60 $\pm$ 0,41 <sup>a</sup>

Letras diferentes na mesma linha representam diferença estatística entre as raças.

**CONCLUSÃO**

Cães da raça Rottweiler apresentam melhores características espermáticas do que os cães da raça Pastor Alemão e uma menor liberação de cálcio no LP.

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

Abdel-Rahman, H. A.; El-Belely, M. S.; Al-Quarawi, A. A.; El-Mougy, S. A. The relationship between semen quality and mineral composition of semen in various ram breeds. *Small Ruminant Research*, v.38, p.45-49, 2000.

Aquino-Cortez, A.; Cortez, A. A.; Silva, A. R.; Cardoso, R. C. S.; Silva, L. D. M. Características físico-químicas do líquido prostático canino antes e após congelamento. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.27, n.1, p.17-21, 2003.

Lapointe, S.; Ahmand, I.; Buhr, M. M.; Sirard, M. A. Modulation of postthaw motility, survival, calcium uptake, and fertility of bovine sperm by magnesium and manganese. *Journal of Dairy Science*, v.79, n.12, p.2163-2169, 1996.

Mann, T.; L-Mann, C. Biochemistry of seminal plasma and male accessory fluids: applications to andrological problems. In: Male reproductive function and semen. Themes and trends in physiology, biochemistry and investigative andrology. Berlin, Springer Verlag, p.269-336, 1981.

Pinheiro, R. R.; Machado, R.; Pinheiro, A. A.; Simplício, A. A. Níveis de cálcio, fósforo, magnésio e pH do sêmen de caprinos no Nordeste do Brasil. Anais da XXXIII Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, p.419-420, 1996.

Souza, F. F. Proteínas do sêmen do cão são importantes ou não na fertilização? *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, Belo Horizonte, v.31, n.1, p.108-114, 2007.

Visconti, P. E.; Kopf, G. S. Regulation of protein phosphorylation during sperm capacitation. *Biology of Reproduction*, v.59, p.1-6, 1998.

## CONGELAÇÃO DE ESPERMATOZOIDES EPIDIDIMÁRIOS CANINOS UTILIZANDO ACP-106C E TRIS

*[Cryopreservation of canine epididymal sperm using ACP-106c and TRIS]*

**Antônio Cavalcante Mota Filho<sup>1\*</sup>, Herlon Victor Rodrigues Silva<sup>1</sup>, Thalles Gothardo Pereira Nunes<sup>1</sup>, Luana Azevedo de Freitas<sup>1</sup>, Airton Alencar de Araújo<sup>2</sup>, Lúcia Daniel Machado da Silva<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Laboratório de Reprodução de Carnívoros, FAVET, UECE. \* Autor para correspondência. E-mail: acmfmedvet@hotmail.com

<sup>2</sup> Zootecnia, UFC.

**ABSTRACT-** The objective was to cryopreserve sperm recovered from the canine epididymal cauda immediately after an orchiectomy and 12 h after chilled at 4°C. The sperm was stored for 12 h at 4°C using ACP-106c and TRIS as extenders. One week later, the sperm was thawed and its motilities and morphology were analyzed. The total motility values were  $52.17 \pm 1.78$  and  $49.8 \pm 1.93$  for groups G0h-ACP and G12h-ACP and  $50.7 \pm 2.06$  and  $43.90 \pm 2.51$  for groups G0h-TRIS and G12h-TRIS, respectively. A decrease in total sperm motility was observed after 12 h of cooling for both extenders ( $P < 0.05$ ). ACP-106c can be used as an extender for freezing canine epididymal sperm, and the freezing procedure must be performed immediately after sperm recovery.

**Keywords:** freezing; testis-epididymis complex; canine.

**Palavras-Chave:** congelação; complexo testículo-epidídimo; canino.

### INTRODUÇÃO

Estudos demonstraram a eficiência do diluidor TRIS na conservação do espermatozoide epididimário canino (Ponglowhapan & Chatdarong, 2008). Por outro lado, o diluidor à base de água de coco em pó específico para cães (ACP-106c) foi eficaz na conservação de sêmen canino oriundo do ejaculado (Cardoso et al., 2007). No entanto, esse diluidor ainda não foi testado para congelação de espermatozoide epididimário canino. O complexo testículo-epidídimo (CTE) refrigerado visa reduzir a morte celular tecidual e assim, manter a viabilidade desses espermatozoides dentro do epidídimo (Lone et al., 2011). Assim sendo, acredita-se que o acondicionamento do CTE por um período de 12h a 4°C até ser processado e congelado pode ser suficiente para ocorrer o deslocamento aos centros especializados. Portanto o objetivo do trabalho foi congelar espermatozoides recuperados da cauda do epidídimo imediatamente após orquiectomia e após 12 horas de armazenamento a 4°C, utilizando o diluidor ACP-106c e TRIS.

### MATERIAL E METODOS

Foram utilizados 60 cães machos sexualmente maduros, com peso de 10-20 kg, oriundos do Centro de Controle de Zoonoses de Fortaleza, Ceará. Os 60 pares contendo o CTE foram divididos em 4 grupos iguais. Com auxílio de uma seringa e agulha 25G, foi adicionado lentamente no ducto deferente, 1,0 mL de diluente ACP-106c (ACP Biotecnologia<sup>®</sup>) ou 1,0 mL de diluente TRIS (Sigma<sup>®</sup>). As amostras foram divididas em quatro alíquotas, sendo duas para os grupos 0 hora e duas para os grupos 12 horas, as quais foram destinadas à congelação com o diluidor TRIS ou ACP-106c, contendo 6% de glicerol e 10% de gema de ovo para o ACP-106c e contendo 6% de glicerol e 20% de gema de ovo para o TRIS. Os espermatozoides foram submetidos à avaliação computadorizada (CASA) e avaliados quanto à morfologia. Os dados foram expressos sob a forma de média e erro padrão. As médias foram comparadas duas a duas: dois diluidores (ACP-106c e TRIS) e dois tempos (0 e 12 horas). A comparação entre os diluidores em cada tempo e entre os tempos em cada diluidor sobre os parâmetros espermáticos foi realizada pelo procedimento de MANOVA do programa SYSTAT, versão 13.0, USA, com  $P < 0,05$ .

**RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os resultados de motilidade espermática total mostram que a congelação de espermatozoides epididimários pode ser realizada, tanto com o ACP-106c, como com o TRIS. Ambos diluidores apresentaram melhores resultados de motilidade total quando comparados aos previamente relatados utilizando-se o mesmo tampão TRIS

(Ponglowhapan & Chatdarong, 2008). Os resultados das avaliações feitas podem ser observados na Tab.1. Os resultados satisfatórios com o ACP-106c apresentados neste trabalho podem ser devido à composição do diluidor que apresenta uma riqueza de substâncias que participam no metabolismo do espermatozoide (Nunes; Salgueiro, 1999).

Tabela 1. Parâmetros espermáticos epididimários (média ± EP), utilizando os diluidores ACP-106c ou TRIS para congelação imediatamente após a recuperação de espermatozoides (0h) ou após 12 h de armazenamento.

Parâmetros	0h		12h	
	ACP-106c	TRIS	ACP-106c	TRIS
MT	52.17 ± 1.78 <sup>aA</sup>	50.7 ± 2.06 <sup>aA</sup>	49.8 ± 1.93 <sup>aB</sup>	43.90 ± 2.51 <sup>aB</sup>
LIN	65.19 ± 3.26 <sup>aA</sup>	62.55 ± 3.01 <sup>aA</sup>	56.58 ± 3.05 <sup>aB</sup>	55.54 ± 3.82 <sup>aB</sup>
STR	84.35 ± 1.03 <sup>aA</sup>	80.38 ± 1.47 <sup>bA</sup>	81.16 ± 1.16 <sup>aB</sup>	75.21 ± 1.24 <sup>bB</sup>
ALH	3.01 ± 0.11 <sup>aA</sup>	3.84 ± 0.18 <sup>bA</sup>	3.05 ± 0.12 <sup>aA</sup>	3.72 ± 0.19 <sup>bA</sup>
MORF	84.1 ± 1.40 <sup>aA</sup>	79.9 ± 1.66 <sup>bA</sup>	80.4 ± 1.29 <sup>aB</sup>	71.9 ± 1.15 <sup>aB</sup>

MT = motilidade total, LIN = linearidade, STR = retilinearidade, ALH = amplitude lateral cabeça, MORF = % de espermatozoides morfolologicamente normais.

Letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença entre os diluidores (P<0.05).

Letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença entre os tempos. (P<0.05).

**CONCLUSÃO**

O diluidor ACP-106c pode ser utilizado para o congelamento de espermatozoides do epidídimo canino imediatamente após a recuperação.

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

Cardoso, R. C. S., Silva, A. R., Silva, L. D. M., Chirinéa, V. H., Souza, F. F., Lopes, M. D. Evaluation of fertilizing potential of frozen-thawed dog spermatozoa diluted in ACP-106 using an in vitro sperm-oocyte interaction assay. *Reproduction in Domestic Animals*, v.42, p.1-16, 2007.

Lone, F. A., Islam, R., Khan, M. Z., Sofi, K. A. Effect of transportation temperature on the quality of cauda epididymal spermatozoa of ram. *Animal Reproduction Science*, v.123, p.54-59, 2011.

Nunes, J. F.; Salgueiro, C. C. M. Utilização da água de coco como diluidor do sêmen de caprinos e ovinos. *Revista Científica de Produção Animal*, v.1, p.17-26, 1999.

Ponglowhapan, S., Chatdarong, K. Effects of Equex STM Paste on the quality of frozen-thawed epididymal dog spermatozoa. *Theriogenology*, v.69, p.666-672, 2008.

## DISTÚRBIOS REPRODUTIVOS EM CADELAS ATENDIDAS NO HOSPITAL VETERINÁRIO DA UFCG ENTRE 2007 E 2013

[*Reproductive disorders in bitches treated at the Veterinary Hospital of UFCG between 2007 and 2013*]

Suzanna Cavalcante Lins<sup>1\*</sup>, Emmanuel de Assis Cunha<sup>2</sup>, Norma Lúcia de Souza Araújo<sup>3</sup>, Carlos Enrique Peña Alfaro<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Aluna da Pós Graduação *Lato Sensu* em Saúde Pública das FIP. \*Autor para correspondência. Email: suzanna.lins@bol.com.br.

<sup>2</sup> Médico Veterinário graduado pela UFCG.

<sup>3</sup> Professor do curso de Medicina Veterinária da UFCG.

**ABSTRACT** – There are several reproductive diseases that affect bitches, such as eclampsia, dystocia, abortion, transmissible venereal tumor, pyometra, vaginitis, uterine prolapse, among others. The aim of this study was research of reproductive disorders diagnosed in bitches at the Veterinary Hospital of the Federal University of Campina Grande Campus Patos-PB in the period 2007-2013. It was concluded that the dystocia (52.68%) was the disease that was more diagnosed in pregnant bitches and pyometra (34.49%) the disease was more diagnosed in than non-pregnant bitches.

**Keywords:** pregnancy; bitches; reproductive disorders.

**Palavras-Chave:** prenhez; cadelas; distúrbios reprodutivos.

### INTRODUÇÃO

Problemas reprodutivos que envolvem cadelas são muito comuns (Carvalho, 2004) e compreendem os distúrbios do ciclo estral (cios silenciosos, intervalo interestral prolongado ou curto, estro prolongado ou curto, síndrome do ovário remanescente); distúrbios da vagina e do útero (vaginite, torção uterina, hiperplasia endometrial cística e piometra); distúrbios da glândula mamária (mastite, neoplasia mamária); pseudociese; distúrbios do parto e período pós-parto (distocia, agalactia, tetania puerperal, metrite, abortos)(Nelson e Couto, 2006).

Quinn et al. (2005) afirmaram que embora o útero não prenhe seja relativamente resistente à infecção, a susceptibilidade aos patógenos varia durante o ciclo estral. O útero torna-se mais vulnerável à infecção no diestro, quando aumenta a secreção de progesterona pelo corpo lúteo. Durante essa fase, a atividade fagocítica dos neutrófilos no lúmen uterino é reduzida, implicando na diminuição da imunidade, devido à suscetibilidade aumentada do endométrio estimulado pela progesterona contra patógenos oportunistas.

O objetivo deste trabalho foi identificar quais os distúrbios reprodutivos diagnosticados em cadelas atendidas durante os anos de 2007 a 2013 no Hospital Veterinário da Universidade Federal de

Campina Grande (HV/UFCG), Campus de Patos-PB.

### MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Campina Grande (HV/UFCG), Campus de Patos-PB. Foi feito um estudo retrospectivo da casuística de distúrbios reprodutivos em cadelas atendidas no setor de Clínica Médica de Pequenos Animais (CMPA) nos anos de 2007 a 2013.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em um período de sete anos foram diagnosticadas 24 diferentes enfermidades reprodutivas em 656 cadelas no HV/UFCG em Patos-PB.

Os distúrbios diagnosticados foram divididos em cadelas prenhes (6 distúrbios) e em cadelas não prenhes (18 distúrbios). Encontrou-se em cadelas prenhes as seguintes enfermidades: aborto (8 casos/7.14%), eclampsia (8 casos/7.14%), feto macerado (8 casos/7.14%), retenção fetal (10 casos/8.93%), morte fetal (19 casos/16.97%) e distocia (59 casos/52.68%). Já as enfermidades diagnosticadas em cadelas não prenhes foram as seguintes: dermatite perivulvar (1 caso/0.19%), metrorragia (1 caso/0.19%), neoplasia ovariana (1



caso/0.19%), prolapso uterino (2 casos/0.38%), hidrometra (3 casos/0.58%), hiperplasia endometrial cística (4 casos/0.77%), hiperplasia mamária benigna (5 casos/0.96%), prolapso vaginal (5 casos/0.96%), endometrite (8 casos/1.55%), hemometra (9 casos/1.74%), mastite (10 casos/1.93%), metrite (10 casos/1.93%), hiperplasia vaginal (12 casos/2.32%), vaginite (17 casos/3.29%), pseudociese (26 casos/5.03%), tumor venéreo transmissível (91 casos/17.64%), tumor mamário (133 casos/25.77%) e piometra (178 casos/34.49%).

A distocia foi a enfermidade que mais acometeu cadelas prenhes durante o período estudado, com 52.68%, o que coincide com o encontrado por Doria (2009), com relato de 46.34% de cadelas com distocia em 2005 na Clínica Escola de Medicina Veterinária em Marechal Deodoro-Alagoas. Por sua vez, em cadelas não prenhes, a piometra foi diagnosticada em 34.49% dos casos no HV/UFMG-Patos, também coincidindo com Doria (2009) com 31.25% das fêmeas acometidas com piometra no ano de 2004.

## CONCLUSÃO

Foi possível observar que a maior ocorrência de distúrbios reprodutivos deu-se em cadelas não prenhes. A distocia foi a enfermidade mais diagnosticada no período de 2007 a 2013 em cadelas prenhes atendidas no HV/UFMG-Patos. A piometra, seguida pelo tumor de mama, foram as enfermidades que mais acometeram cadelas não prenhes atendidas no HV/UFMG-Patos no mesmo período.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Doria, T. F. S. *Frequência das afecções reprodutivas dos cães atendidos na Clínica Escola de Medicina Veterinária Marechal Deodoro-AL*. 2009. 30p. Monografia (Especialização em Clínica Médica de Pequenos Animais) – Curso de Pós-graduação em Clínica Médica de Pequenos Animais. Universidade Federal Rural do Semi Árido – UFERSA.
- Carvalho, C. F. *Ultra-Sonografia em Pequenos Animais*. 1 ed São Paulo: Roca, 2004. Cap. 14, p. 181.
- Nelson, R. W.; Couto, G. *Manual de Medicina Interna de Pequenos Animais*. Tradução Aldacilene Souza da Silva et al. 2. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006. 1106p.
- Quinn, P. J.; Markey, B. K.; Carter, M. E.; Donnelly, W. J.; Leonard, F. C. Interações de patógenos microbianos com os sistemas reprodutivos masculino e feminino. In: *Microbiologia Veterinária e Doenças Infecciosas*. Porto Alegre: *Artmed*, 2005. Cap. 78, p. 437-441.

## FREQUÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI-*Brucella canis* EM CÃES DE TERESINA-PI

[*Frequency of antibodies anti Brucella canis in dogs from Teresina-PI*]

Andressa de Carvalho Teixeira Lima<sup>1\*</sup>, André Braga de Souza<sup>1</sup>, Francisco de Assis Leite Souza<sup>1</sup>, Ana Maria Quessada<sup>1</sup>, Gardenia Alves da Silva<sup>1</sup>, Ana Lys Bezerra Barradas Mineiro<sup>1</sup>

<sup>1</sup> UFPI/CCA. \*Autor para correspondência. E-mail: andressa\_teixeira\_52@hotmail.com.

**ABSTRACT** - Brucellosis is an infectious disease that affects domestic and wild animals and humans, so it is considered a zoonosis. Brucellosis was not diagnosed in dogs in Piauí. Therefore, a study was conducted in order to analyze the blood serum from animals of reproductive age of Teresina, Piauí Capital with dog serum of private medical clinic of the Veterinary Hospital of the Federal University of Piauí. In all animals, blood sampling for serological tests for the detection of antibodies to *Brucella canis* were performed. We used 591 serum samples from animals between one and seven years old neutered, regardless of gender or race. The samples were subjected to a serological test in agar gel immunodiffusion in the Laboratory of Physiopathology of Animal Reproduction one from the Federal University of Piauí. 44 animals were positive for *Brucella canis*. It was concluded that brucellosis is present in the canine population of Teresina, endangering public health.

**Keywords:** abortion; Brucellosis; canine; zoonosis.

**Palavras-Chave:** aborto; Brucelose; canino; zoonose.

### INTRODUÇÃO

A brucelose canina causada por *Brucella canis* é uma doença infecto contagiosa, de caráter zoonótico, caracterizada, principalmente, por abortamentos e esterilidade nas fêmeas e epididimite nos machos (Carmichael & Greene, 1998). O primeiro relato sobre a confirmação da enfermidade no Brasil ocorreu em Minas Gerais, a partir da soro aglutinação positiva e isolamento do agente, obtido de uma cadela que havia abortado (Godoy et al., 1977). A infecção de cães com *Brucella canis* está disseminada em todo o Brasil, com prevalência nas regiões Sul e Sudeste do país. No Nordeste brasileiro já houve relatos de casos em Patos, na Paraíba (Alves et al., 2003; Fernandes et al., 2011) e nas cidades de Aracaju em Sergipe (Tunon et al., 2011), bem como em Ilhéus e Itabuna na Bahia (Bezerra et al., 2012).

Os testes sorológicos para a detecção de anticorpos para *Brucella* são o melhor meio de detecção da infecção. Dentre as provas sorológicas mais amplamente utilizadas no diagnóstico da brucelose por *Brucella canis* em cães, a técnica mais empregada no Brasil é a IDGA (imunodifusão em gel de ágar), em que se utiliza um antígeno lipopolissacarídeo extraído de *Brucella ovis*. No Piauí a Brucelose Canina ainda não foi

diagnosticada, e nem se tem relatos de casos desta zoonose em cães, sendo assim, se fazem necessários maiores estudos acerca da doença no Estado. Portanto o objetivo deste trabalho foi de diagnosticar se cães com sinais clínicos ou não, são soropositivos para anticorpos anti *B. canis*.

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 591 cães oriundos da clínica médica do Hospital Veterinário Universitário (HVU) e clínicas particulares da referida cidade, os cães foram selecionados aleatoriamente, sem levar em consideração queixas e sinais clínicos com idade entre um e sete anos não castrados, sem distinção de sexo ou raça. Para análise sorológica foram colhidas amostras de sangue por meio de venopunção da veia jugular após antissepsia com álcool iodado a 2%, com a utilização de sistema a vácuo em tubos sem anticoagulante que foram identificados com dados relativos ao proprietário e ao animal. Para o diagnóstico sorológico da infecção por *Bucella canis* foi empregada a prova de imunodifusão em gel de ágar (IDGA), utilizando antígeno de lipopolissacarídeos e proteínas de *Brucella ovis*. Os tubos foram mantidos por 1 a 2 horas para coagular em temperatura ambiente, em seguida, armazenado a 4°C *over night* e, então, submetidos à centrifugação a 2.500g por 10

minutos para obtenção dos soros, e armazenados a -20°C. As associações entre brucelose canina e sexo, idade e raça dos animais foram analisadas pelo teste do Qui-quadrado ( $\chi^2$ ) e o teste exato de Fisher, com nível de significância de 0,05. Todas as análises estatísticas foram feitas através do software GraphPad Prism, versão 6.0.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 591 amostras de soro canino que foram testadas pela prova de IDGA, 44 foram positivos, significando uma frequência da infecção igual a 7,44 % na cidade de Teresina (PI). Das 44 amostras reagentes para infecção por *Brucella canis*, 20 (6,73 %) amostras eram de cães machos e 24 (8,16%) de fêmeas. Observou-se que não houve diferença estatisticamente significativa entre a frequência de animais reagentes à prova de IDGA para Brucelose Canina em relação ao sexo. A frequência da infecção por *Brucella canis* em Teresina foi de 7,44%. Tal frequência ficou acima de outros estudos no Brasil (ALVES et al. 2003, BEZERRA et al. 2012), mas são resultados próximos aos de outras pesquisas brasileiras (Marassi et al. 2003, Cavalcanti et al. 2006).

## CONCLUSÃO

Os resultados obtidos a partir deste trabalho demonstram que a Brucelose Canina está presente na população canina de Teresina e ainda não tinha sido relatada ou diagnosticada até o presente momento.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alves, C. J.; Alves, F. A. L.; Gomes, A. A. B.; Azevedo, S. S.; Andrade, J. S. L., Santos F. A. Aspectos Epidemiológicos de *Brucella canis* em Patos, Paraíba, Brasil. *Ciência Animal*, v.13, n.1, p. 45-49, 2003.
- Bezerra, R. A.; Mendonça, C. E. D.; Sicupira, P. M. L.; Munhoz, A. D.; Ribeiro, A. R. P.; Carlos, R. S. A.; Albuquerque, G. R. Prevalência de anticorpos contra *Brucella canis* em cães na região de Ilhéus-Itabuna, estado da Bahia, Brasil, *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, n. 34 (1) p. 27-30, janeiro/março 2012.
- Carmichael, L. E.; Greene, C.E. Canine brucellosis. In: GREENE, C.E. Infectious diseases of the dog and cat. 2. ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1998. p.248-257.
- Cavalcanti, L.A.; Dasso, M.G.; Oliveira, F.C.S.; Viegas, S.A.R.A.; Almeida, M.G.A.R.; Anunciação, A.V.M.; Alcantara, A.C.; Bittencourt, D.V.V.; Oliveira, E.M.D. Pesquisa de anticorpos anti *Brucella canis* em cães provenientes da região metropolitana de Salvador. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, v.7, n2, p. 176-180, 2006.
- Fernandes, A. R. F.; Azevedo, S. S.; Piatti, R. M.; Pinheiro, E. S.; Genovez, M. E.; Azevedo, A. S.; Batista, C. S. A.; Alves, C. J. *Brucella canis* infection in dogs attended in veterinary clinics from patos, Paraíba state, Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*. São Paulo, v.42, n. 4, Dec.2011.
- Godoy, A. M.; Peres, J. N.; Barg, L. Isolamento de *Brucella canis* em Minas Gerais, Brasil. *Arquivos da Escola de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais*, v. 29, p.35-42, 1977.
- Marassi C. D.; Moraes, I. A.; Lilenbaum, W. Soroprevalência de Brucelose Canina no município do Rio de Janeiro pelo método de imunodifusão em gel de Agarose. *Revista Brasileira da Ciência Veterinária*, v. 10, n. 1, p. 63-64, 2003.
- Tunon, G. I. L.; Dasso, M. G.; Andrade, E. G.; Santos, E. W. D. Soroprevalência da brucelose canina na cidade de Aracaju, Sergipe. *Revista Higiene Alimentar*. vol. 25 N°194/195 março/abril de 2011. p. 1550.

## LEYDIGOCITOMA E SEMINOMA CONCOMITANTES EM CÃO – RELATO DE CASO

*[Leydigocitoma e Seminoma concomitantes em cão – Relato de caso]*

Wallace Paulo Nobre Silva<sup>1\*</sup>, Fernanda Rech<sup>1</sup>, Elenara Botelho Araújo<sup>1</sup>, Fernando Kelsen Araujo França<sup>1</sup>, Sebastião Tavares Rolim Filho<sup>1</sup>, Haroldo Francisco Lobato Ribeiro<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal Rural da Amazônia – UFRA. \* Autor para correspondência. Email: wallace\_nobre@oi.com.br

**ABSTRACT** – We report the occurrence in a dog crossbred, 14 years old, an increased testicular volume, which by clinical, ultrasound and histopathology diagnosis confirmed the presence of a concomitant Leydigocitoma and seminoma, being: one in the left testicle leydigocitoma, and right testicular seminoma a malignant character

**Keywords:** testicles; canine; neoplasms.

**Palavras-Chave:** testículos; canino; neoplasias.

### INTRODUÇÃO

As alterações testiculares em cães constituem um amplo grupo de desordens com impacto sobre a fertilidade e o comportamento sexual dos animais acometidos, sendo, as neoplasias testiculares, importantes causas de aumento testicular (Kawakami et al., 1991). Em geral acometem cães entre 9 e 10 anos de idade, sendo geralmente benignos, e ocorrendo bilateralmente em 50% dos casos (Oyen, 2002). Entretanto, em testículos criptorquídicos são, em sua maioria, malignos (Johnson, 2006).

Segundo Carlton (1998), os seminomas se originam dos túbulos seminíferos e não produzem hormônios, sendo raramente malignos, e sem sinais clínicos, sendo notável, em alguns casos, dor causada pela pressão criada pela neoplasia em expansão. Já o tumor das células de Leydig, de acordo com Rosolem et al. (2011), geralmente ocorre em testículos na bolsa escrotal, na forma de nódulos pequenos, múltiplos ou solitários por vezes apresentando áreas hemorrágicas ou císticas podendo produzir uma sutil alteração morfológica no testículo afetado.

O presente estudo objetivou relatar o caso de um canino acometido pelas duas patologias supracitadas atendido no Hospital Professor Mário Dias Teixeira (HOVET/UFRA) da Universidade Federal Rural da Amazônia, pelo Setor de Reprodução Animal (SRA/UFRA).

### MATERIAL E MÉTODOS

Um cão sem raça definida, com 14 anos de idade, atendido no hospital veterinário da Universidade Federal Rural da Amazônia, em Belém do Pará, com suspeita de tumor testicular. Foi realizado o exame clínico, exame ultrassonográfico e posteriormente realizado a cirurgia de orquiectomia e para a realização do procedimento cirúrgico do animal em questão, foi utilizado como medicação pré-anestésica 0,5 mg de Morfina por via intramuscular, prosseguindo-se para indução anestésica com 10 mg de quetamina associados a 0,5 mg de midazolam em administração intravenosa, e a manutenção da anestesia foi realizada com Isoflurano 2%.

A cirurgia procedeu-se com a retirada total dos testículos e da bolsa escrotal, o qual foram enviados para o Laboratório de Histopatologia da UFRA (Labopat/UFRA), onde foi fixado em Formol Tamponado 10%, passando por histotecnologia de rotina, para posterior corte à 5µm em micrótomo rotativo, e em seguida, as lâminas foram montadas e coradas por H.E. (Hematoxilina e Eosina), e analisadas em microscópio óptico em aumentos de 10x e 40x.

### RESULTADO E DISCUSSÃO

Em 2013, 19 caninos machos foram atendidos, cinco (26,31%) apresentaram suspeita de neoplasia testicular. Dos cinco caninos suspeitos de neoplasia testicular, três (60%) tiveram confirmação da neoplasia. Dos três casos confirmados, um (33,3%), pelo exame clínico constatou-se uma assimetria

testicular esquerda, com mensuração de 10,7x6,8x5,0cm, também observou-se que os testículos e epidídimos apresentavam consistência rígida.

Pela ultrassonografia constatou-se que o testículo esquerdo apresentou desfiguração parenquimal, com ecogenicidade mista, ecotextura homogênea mostrando fluxo sanguíneo anormal ao mapeamento doppler, enquanto que, no exame macroscópico o testículo esquerdo, ao corte apresentou coloração esbranquiçada/amarelada com área central de hemorragia e amolecimento do tecido.

Pela microscopia, o testículo esquerdo apresentou túbulos seminíferos desprovidos de células germinativas e presença de células com pigmentos amarelos (lipofuscina), além de tecido neoplásico de aspecto sólido bem vascularizado com alguns locais de formação cística. As análises acima confirmaram a presença de um leydigocitoma no testículo esquerdo.

No testículo direito o exame ultrassonográfico demonstrou ecogenicidade homogênea e uma estrutura circular, com 1,6 cm em seu maior eixo, com ecogenicidade mista, ecotextura heterogênea, septada e amorfa de conteúdo anecóico. Por outro lado, o testículo direito no exame macroscópico apresentou cavidade cística próxima à cauda do epidídimo e na região central com hemorragia, e a lesão de coloração amarelada. Já a microscopia do testículo direito demonstrou hemorragias e necrose, além de epidídimo com cistos no epitélio, formação de pequenas pápulas hiperplásicas, e ausência de espermatozoides.

Na lesão suspeita de tumor apresentou processo neoplásico formado por células anisocitóticas, algumas pleomórficas, e muitas multinucleadas agrupadas frouxamente confirmando a presença de

um seminoma maligno. Em relação aos achados do tumor do testículo esquerdo, difere ao encontrado por Rosolem et al. (2011), que descreve presença de ninhos de células com citoplasma eosinofílico e vacuolizado, núcleos centrais, cromatina grosseira e hipercromática. Em relação aos achados do tumor do testículo direito, divergem do relatado descrito por Alves et al. (2008), que encontrou na histopatologia, citoplasma eosinófilo, núcleo central com cromatina grumosa e preenchimento do lúmen dos túbulos seminíferos.

## CONCLUSÃO

Pelas análises dos exames clínico, ultrassonográfico e histopatológico feitas nos testículos do canino do relato, indicam que o cão apresentava dois tipos de neoplasias testiculares: o leydigocitoma e o seminoma.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alves, N. D.; Melo, D. E. B.; Pereira, R. H. M. A.; Carvalho C. G.; Accioly, M. P.; Matos, M. M.; Queiroz, I. V.; Amóra, S. S. A.; Fernandes, L. G.; Filgueira, F. G. F. Seminoma intratubular em canino: relato de caso. *Combravet. Anais...* 2008.
- Carlton, W. W.; Mc Gavin, M. D. *Patologia Veterinária Especial de Thomson*. 2ª edição. Porto Alegre. Editora Artmed. 579p. 1998.
- Johnson, C. A. Distúrbios do sistema reprodutivo. In: NELSON, R.W.; COUTO, C.G. *Medicina interna de pequenos animais*. 3ªed. São Paulo: Roca; 2006. p.811-911.
- Kawakami, E; Tsutsui, T; Ogasa, A. Histological observations of the reproductive organs of the male dog from birth to sexual maturity. *Journal of Veterinary Medical Science*. v.53, p. 241-248, 1991.
- OYEN, R.H. Scrotal ultrasound. *Radiology*, v.12, p.19-34, 2002.
- Rosolem, M. C.; Romero, D. C.; Pacheco, A. D.; Schweigert, A.; Rozza, D. B. Tumor de células de leydig e tumor das células de sertoli em cão não criptorquida. Relato de caso. *Concepar. Anais...* 2011.

## MEDIDAS DA PELVE CANINA E SUA RELAÇÃO COM DISTOCIA NO PARTO

*[Canine pelvis measure and its relation to the dystocia at the parturition]*

**Yúllia Alves Santos Rufino, Miguel Ferreira Cavalcante Filho\*, Willams Costa Neves, Tatiana Rodrigues Prado, Janaina de Fátima Saraiva Cardoso, Ney Rômulo de Oliveira Paula**

Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Piauí. \*Autor para correspondência. E-mail: miguelcavalcante@ufpi.edu.br.

**ABSTRACT** - This research with 26 animals, females of different races, multiparous, subjected to x-rays to measure the diameters of the bony pelvis in order to establish correlation between dystocia at the parturition and the maternal pelvic structure. In small breeds (26 animals), 57,69% had dystocia at the parturition and 42,3%, natural childbirth.. The Pinscher breed showed the highest index of dystocia at the parturition (33.3%), followed by the Poodle with 26.6% and Piquenês, with 20%. Measurements of radiographic films of animals surveyed, revealed that the average of the pelvis for small breeds was 4.44 cm for true conjugate diameter (TCD) and 3.29 cm for the transverse diameter bi-iliacus (TDB), being Pinscher breed with smallest indexes: 3.98 cm TCD and 2.96cm TDB. The average of the pelvis in large breeds was 9.3 cm for TCD and 6.4 cm for the TDB. The external measure of the pelvis showed in excess to the radiographic measures. Therefore this research suggested new coefficients for the calculation of diameters of pelvis in dogs: 0.15 and 0.38. It was concluded that Pinscher breed showed the larger percentage of complications in dystocia at the parturition and that her pelvis bone reveals the smallest measures, in cm, of the whole essay.

**Keywords:** obstetrics; pelvis; canine; dystocia at the parturition.

**Palavras-chaves:** obstetrícia; pelve; canina; parto distócico.

### INTRODUÇÃO

Nesta pesquisa buscou-se investigar uma possível correlação entre o parto distócico com a estrutura óssea da região pélvica da cadela, onde ocorre a passagem do feto. Pretendeu-se fornecer subsídios para a caracterização pélvica obstétrica na espécie canina, através da pelvimetria externa pelo método de Ferreira (1987) e por mensurações diretas aferidas em películas radiográficas.

O parto anormal ou distócico ocorre quando existe dificuldade em iniciar o parto no momento correto ou quando ocorre alguma dificuldade na expulsão normal dos fetos, uma vez que o parto tenha iniciado. Vários fatores maternos e fetais podem contribuir para a distocia em cadelas (Luz; Freitas; Pereira, 2005), (Toniollo, 1993) e (Linde-forsberg, 2002). Estes problemas são motivos do estudo da pelve, pela pelvimetria direta ou indireta (Ferreira, 1987), Páfaró (2007), em estudos de pelvimetria radiográficas em raças Fila Brasileiro, Pastor Alemão e Rottweiler, bem como em algumas raças de pequeno porte.

### MATERIAIS E MÉTODOS

Utilizaram-se 26 cadelas, de diferentes raças e de pequeno porte, adultas, múltiplas, para mensurações de suas pelves através dos métodos direto e indireto, a fim de estabelecer possíveis relações com o registro de partos distócitos nesses animais. Os animais foram submetidos a exames radiográficos da pelve em posição dorso-ventral (método direto), para serem registrados os diâmetros Conjugado Verdadeiro (verticalmente entre promontório do sacro à sínfise púbica) e o Transversal Biilíaco (lâtero-lateralmente entre as tuberosidades de inserção do músculo psoas no corpo de cada ílio) mensurados na película através de paquímetro digital. Executou-se também, a Pelvimetria Externa que é um método indireto da correlação entre os diâmetros da pelve para com medidas externas do animal multiplicadas por uma constante matemática. Nesse propósito, tomou-se a medida da altura da cernelha ao solo multiplicada pela constante 0,18 para correlacioná-la ao diâmetro Conjugado Verdadeiro desse animal e a medida da largura entre as tuberosidades coxais

multiplicada pela constante 0,36 para correlacioná-la à medida do diâmetro Transversal Bi-ilíaco

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Da amostra pesquisada (26 animais), 15 (57,69%) apresentaram complicações no parto e 11, (42,30%) (tiveram parto normal). Verificou-se que a média das medidas dos ângulos da pelve para raças de pequeno porte foi de 4,44 cm para o Diâmetro Conjugado Verdadeiro e de 3,29 cm, para o Diâmetro Transversal Bi-ilíaco. As mensurações médias do Diâmetro Transversal Bi-ilíaco encontradas nesta pesquisa, ou seja, 3,29 cm mostraram-se inferiores às de Páfaros (2007), que registrou 3,96 cm para raças de pequeno porte. A raça pinscher apresentou maior índice de distocias no parto (33,3%), revelando o diâmetro Conjugado Verdadeiro de 3,98 cm e o diâmetro Transversal Bi-ilíaco de 2,96 cm, sendo este inferior às medidas registradas por Páfaros (2007), ou seja, de 3,4 cm para a referida raça; A raça poodle apresentou 26,6% de distocias entre amostra pesquisada, revelando um diâmetro Conjugado Verdadeiro médio de 5,34 cm e um diâmetro Transversal Bi-ilíaco de 4,1 cm, sendo seu diâmetro Transversal Bi-ilíaco, próximo dos expressos por Páfaros (2007) para esta raça, que foi de 3,9 cm. A raça pequinês, por sua vez, com 20% de distocias no parto, revelou as médias de 4,93 cm para o diâmetro Conjugado Verdadeiro e de 3,8 cm para o diâmetro Transversal Bi-ilíaco. O diâmetro Conjugado Verdadeiro médio da pelve de raças de pequeno porte com parto distócico foi de 4,4 cm e de parto normal, foi de 5,01 cm, enquanto que as medidas médias do diâmetro Transversal Bi-ilíaco foram de 3,2 cm para animais com parto distócico e de 4,3 cm, partos normais. Tais mensurações mostraram-se superiores que as encontradas por Páfaros (2007), para partos normais, embora o autor não faça correspondência entre o histórico de parto de seus animais pesquisados.

Deste modo, as correlações estabelecidas entre os diâmetros da pelve óssea e o tipo de ocorrência no parto desses animais, ficaram registradas: correlação entre os diâmetros da pelve (Conjugado Verdadeiro com o Transversal Bi-ilíaco) foi de 0,847872648 (84,8%); correlação entre o diâmetro Conjugado Verdadeiro e o Tipo de Parto ficou em - 348679736 (-34,9%); correlação entre o diâmetro Transversal Bi-ilíaco e o Tipo de Parto foi de - 0,495253586 (-49,5%).

A pelvimetria externa, explorada através do método indireto, revelou que os animais da raça poodle apresentaram um diâmetro Conjugado Verdadeiro médio de 6,18 cm e diâmetro Transversal Bi-ilíaco, de 4,29 cm. Os animais da raça pinscher apresentaram seus diâmetros diâmetro Conjugado

Verdadeiro e diâmetro Transversal Bi-ilíaco, em valores médios, de 4,48 cm e 2,52 cm, respectivamente. Enquanto que a raça pequinês mostrou medidas média do diâmetro Conjugado Verdadeiro e do diâmetro Transversal Bi-ilíaco, de 5,82 cm e de 3,30 cm, respectivamente. Tais valores mostrando-se superiores às medidas destes diâmetros nos mesmos animais, quando pelo método da leitura em películas radiográfica. Portanto, estabeleceu-se que para calcular os diâmetros diâmetro Conjugado Verdadeiro e diâmetro Transversal Bi-ilíaco pelo pelvimetria externa, é mais fiel o uso das constantes 0,15 e 0,38, respectivamente, em substituição às constantes 0,18 e 0,36, proposto por Ferreira (1987).

## CONCLUSÕES

Segundo a pesquisa, animais da raça pinscher apresentaram o maior percentual de distocia no parto (27,7%) e menores medidas médias para os diâmetros pélvicos (diâmetro Conjugado Verdadeiro -3,9 cm e diâmetro Transversal Bi-ilíaco -2,9 cm). Estatisticamente, observa-se que as cadelas com maior diâmetro Conjugado Verdadeiro, também, apresentaram maior diâmetro Transversal Bi-ilíaco. Ambos os diâmetros se correlacionaram negativamente com o Tipo de Parto, ou seja, aquelas com maior diâmetro tenderam a apresentar parto normal, designado na análise.

A apresentação de uma nova constante para o cálculo do diâmetro Conjugado Verdadeiro em cães pela pelvimetria externa, ou seja, de 0,15, se mostrou mais eficaz, possibilitando a determinação do diâmetro Conjugado Verdadeiro na espécie com valores iguais ou muito aproximados daqueles de medidas retiradas diretamente da película radiografada.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ferreira, N. *Conceitos gerais da anatomia topográfica: regiões de interesse médico cirúrgico*. São Paulo, 1988.
- Linde-Forsberg, C. Pelvimetry to Diagnose Dystocia in the Bitch – 27<sup>th</sup> World Small Animals Veterinary Association (WSAVA), 2002.
- Luz, M. R.; Freitas, P. M. C.; Pereira, E. Z. *Gestação e parto em cadelas: fisiologia, diagnóstico de gestação e tratamento das distocias*. v. 29, n. 3/4, p. 142-150, jul./dez. 2005.
- Páfaros, V. *Pelvimetria radiográfica em diferentes raças de fêmeas caninas adultas*. 007. 38f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual de São Paulo, Jaboticabal.
- Toniollo, G. H. *Manual de obstetrícia veterinária*. 1. ed. São Paulo: Livraria Varela, 1993. p.124.

## PARÂMETROS ESPERMÁTICOS E ULTRASSONOGRÁFICOS DE CÃO COM ASSIMETRIA TESTICULAR

*[Sperm and ultrasonographic parameters of dog with testicular asymmetry]*

**Breno Queiroz Pinheiro<sup>1\*</sup>, Annice Aquino-Cortez<sup>1</sup>, Herlon Victor Rodrigues da Silva<sup>1</sup>, Luana Azevedo de Freitas<sup>1</sup>, Lorena Araújo Martins Aguiar Rocha<sup>1</sup>, José Nicodemos Pinto<sup>1</sup>, Lúcia Daniel Machado da Silva<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Laboratório de Reprodução de Carnívoros, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Faculdade de Veterinária, Universidade Estadual do Ceará. \* Autor para correspondência. E-mail: breno.pinheiro@aluno.uece.br.

**ABSTRACT** – The objective of this study was to evaluate the ultrasonographic and seminal parameters of a dog, presenting testicular asymmetry. After semen collection, the parameters analyzed were total motility, vigor, membrane functionality, sperm concentration and sperm morphology. Other parameters were obtained by Computer Assisted Semen Analysis (CASA). The evaluations showed changes in the ultrasonographic patterns and sperm parameters that indicate a poor quality sperm and testicular degeneration, with possible impairment of fertility.

**Keywords:** canine; semen; ultrasound.

**Palavras-Chave:** canino; sêmen; ultrassom.

### INTRODUÇÃO

Dentre as afecções testiculares, a degeneração do epitélio seminífero constitui a causa mais comum e importante de declínio da fertilidade em machos das espécies domésticas. A etiologia é multifatorial, o processo pode ser uni ou bilateral e não envolve necessariamente o testículo como um todo (Jubb et al., 1993; Nascimento & Santos, 1997). A hipoplasia testicular pode ser causada pelo processo de degeneração testicular ou ser um processo congênito, possivelmente de caráter hereditário, que resulta em redução acentuada do número das espermatogônias e, conseqüentemente, dos testículos (Domingos & Salomão, 2011; Jubb et al., 1993), ocorrendo pelo desenvolvimento incompleto das camadas germinativas dos túbulos seminíferos (Nascimento & Santos, 2003), podendo se apresentar uni ou bilateral, parcial ou total (Bicudo et al., 2007). Comumente, essas alterações levam à assimetria do órgão. Desta forma, este trabalho teve como objetivo relatar as alterações espermáticas e ultrassonográficas de um cão apresentando assimetria testicular.

### MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizado o exame clínico, andrológico e ultrassonográfico de um cão sem raça definida, com 6 anos de idade, sem histórico reprodutivo.

A coleta de sêmen foi realizada pela técnica de manipulação digital e a fração espermática foi submetida à análise microscópica (100X) para avaliação da motilidade (%), vigor espermático (escala de 0 a 5) e concentração espermática (câmara de Neubauer). O teste hiposmótico foi realizado para avaliação da funcionalidade de membrana espermática e a morfologia espermática (%) foi avaliada após coloração com rosa bengala por meio de microscopia óptica (1000X), para classificação de células normais e alterações morfológicas primárias ou secundárias (Christiansen, 1986). A análise computadorizada espermática foi realizada para avaliação da: motilidade progressiva (MP), velocidade média da trajetória (VAP), velocidade curvilínea (VCL), velocidade progressiva (VSL), amplitude lateral da cabeça (ALH), frequência de batimento cruzado (BCF), retilinearidade (STR) e linearidade (LIN) (Iguer Ouada & Verstegen, 2001). Após avaliação espermática, o animal foi submetido ao exame ultrassonográfico (SonoAce Pico/Medison/sonda multifrequencial linear de 5 - 9 MHz) transabdominal pré-púbico e escrotal para avaliação prostática e testicular, respectivamente. Nesse exame, foram avaliados os aspectos ultrassonográficos bidimensionais e espectrais, com a avaliação de onda e dos índices de resistência e de pulsatilidade da artéria testicular em três localizações: cordão espermático, região marginal e intratesticular.



## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao exame clínico, verificou-se menor volume, tamanho e consistência do testículo esquerdo em relação ao testículo direito. Observou-se motilidade espermática de 95%, vigor 4, concentração de  $150 \times 10^6$  espermatozoides/ml, 50% dos espermatozoides apresentaram morfologia normal, 11% apresentaram cabeça destacada, 15,5% com cauda enrolada e 23,5% com cauda dobrada, sendo todas as alterações morfológicas classificadas em secundárias. Somente 38% dos espermatozoides apresentaram membrana espermática funcional. Na análise computadorizada, observou-se 20,5% (MP), 49,9  $\mu\text{m/s}$  (VAP), 77,8  $\mu\text{m/s}$  (VCL), 38,2  $\mu\text{m/s}$  (VSL), 4  $\mu\text{m}$  (ALH), 11,1 Hz (BCF), 76,6% (STR) e 49,1% (LIN).

Ao exame ultrassonográfico, a próstata apresentou características bidimensionais normais. O testículo esquerdo apresentou aumento de ecogenicidade e heterogeneidade e discreta assimetria (3,07 cm x 1,68 cm) em relação ao testículo contralateral (3,67 cm x 2,86 cm). Quanto aos parâmetros dopplervelocimétricos, o testículo esquerdo apresentou morfologia espectral diferente da do direito. Os índices de resistência e pulsatilidade da artéria testicular para cada lado foi: cordão espermático (D:0,69 e 1,28; E: 1,00 e 1,98), região marginal (D: 0,39 e 0,58 E: 0,45 e 0,62) e intratesticular (D: 0,65 e 0,61 E: 0,16 e 0,21).

As avaliações subjetivas de motilidade e vigor apresentaram discrepância comparadas às análises computadorizadas e a avaliação ultrassonográfica demonstrou uma perda na estrutura e um indicativo para a perda da função do testículo esquerdo quando se comparado com o direito devido aos padrões de ecogenicidade, heterogeneidade e dopplervelocimétricos.

## CONCLUSÃO

No presente relato observou-se alterações nos parâmetros ultrassonográficos e seminais, contudo são necessários exames complementares como o histopatológico apesar de que com os dados ultrassonográficos e a avaliação seminal já se tem indicativo de hipoplasia.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bicudo, S.D.; Siqueira, J.B.; Meira, C. Patologias do sistema reprodutor de touros. *Biológico*, v.69, n.2, p.43-48, 2007.
- Domingos T.C.S.; Salomão M.C. Meios de diagnóstico das principais afecções testiculares em cães: revisão de literatura. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.35, p.393, 2011.
- Iguer-Ouada, M.; Verstegen, J.P. Long-term preservation of chilled canine semen: effect of commercial and laboratory prepared extenders. *Theriogenology*, v.55, p.671-684, 2001.
- Jubb, K.V.F.; Kennedy, P.C.; Palmer, N. Pathology of Domestic Animals. 4<sup>th</sup> ed. New York: *Academic Press*, v.3, p.747, 1993.
- Nascimento, E.F.; Santos, R.L. Patologia da Reprodução dos Animais Domésticos. Rio de Janeiro: *Guanabara Koogan*, p. 108, 1997.

## RECUPERAÇÃO DE ESPERMATOZOIDES EPIDIDIMÁRIOS CANINOS APÓS REFRIGERAÇÃO DOS TESTÍCULOS-EPIDÍDIMOS A 4°C POR 24 HORAS UTILIZANDO ACP-106C®: RESULTADOS PARCIAIS

*[Recovery of canine epididymal spermatozoa from testicles-epididymis cooled for 24 hours at 4°C using ACP-106c®: partial results]*

José Fabson Pinheiro Dos Santos<sup>1\*</sup>, Karina Batista Pereira Silva<sup>1</sup>, Parvatí Carvalho de Freitas<sup>1</sup>, Elizabete Teixeira Gomes<sup>1</sup>, Jairo de Macêdo Lins e Silva Neto<sup>1</sup>, Rita de Cássia Soares Cardoso<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Discente (Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, Unidade Acadêmica de Garanhuns – UAG). \* Autor para correspondência. E-mail: fabson\_3@yahoo.com.br.

<sup>2</sup>Docente (Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, Unidade Acadêmica de Garanhuns – UAG).

**ABSTRACT** - Recovery of epididymal spermatozoa is important to animals that need to be spayed or die unexpectedly. This experiment aimed to assess spermatozoa from caudae epididymis after 24 hours cooled at 4 ° C using ACP - 106c ® extender. Nine dogs were spayed, and one complex testis - epididymis of each pair was washed and cooled in a thermal box at 4 ° C for 24 hours (treatment group) for subsequent analysis, other one (control group) was processed immediately and the caudae epididymis was dissected, cleaned, placed on Petri dish containing 3ml of extender and cut repeatedly, then motility (%) and vigor ( 0-5 ) were analyzed at optical microscope (400X ). Comparing control and treatment group, motility and vigor decreased from 57.7% to 44.4 % and from 2.3 to 1.7, respectively. This experiment concludes that it's possible to recover viable epididymal spermatozoa after 24 hours.

**Keywords:** ACP 106c; dog; epididymis; spermatozoa; recovery.

**Palavras-Chave:** ACP 106c; cão; epidídimo; espermatozoides; recuperação.

### INTRODUÇÃO

A recuperação de espermatozoides epididimários é um recurso importantíssimo para animais de companhia de alto valor genético ou de grande estima, que precisam ser esterilizados ou mesmo venham a óbito, sendo uma ferramenta importantíssima à reprodução assistida. (Martins et al., 2007). Segundo Muradás et al. (2006), os espermatozoides permanecem viáveis, até que a degeneração tecidual afete sua viabilidade. Santos et al. (2013) obtiveram 44,4% de motilidade após 6h de refrigeração a 4°C no próprio epidídimo, utilizando o ACP-106® como diluidor. Mota et al. (2013) conseguiu a recuperação de espermatozoides com boa qualidade por até 18h. Então é importante verificar se ainda é possível recuperar espermatozoides com boa qualidade após um maior período. Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi avaliar a possibilidade de recuperação de espermatozoides do epidídimo com qualidade aceitável utilizando ACP-106c® após 24 horas de conservação a 4°C.

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados complexos testículos-epidídimos de nove cães sem raça definida com idade entre 4 e 8 anos, oriundos de castrações realizadas no Centro de Controle Ambiental (Garanhuns,PE).

Um complexo testículo-epidídimo de cada par foi lavado com a solução aquecida de NaCl 0,9% contendo penicilina (120UI/mL) e estreptomicina (0,05mg/mL). Posteriormente, armazenado em saco plástico, envolvido em gaze estéril embebida na mesma solução anterior, e mantido em caixa térmica a 4°C por 24 horas. Tanto imediatamente após a orquiectomia (grupo controle), como após 24 horas (grupo refrigerado), os espermatozoides foram submetidos à análise.

As caudas dos epidídimos foram dissecadas e limpas com a mesma solução de NaCl 0,9%, fatiadas em placas de Petri contendo 3,0 ml do diluidor à base de água de coco em pó (ACP 106c®, ACP Biotecnologia, Fortaleza, Ceará,

Brazil), permanecendo por 10 minutos. Então, a solução de ACP 106 contendo os espermatozoides foi submetida à análise de motilidade (%) e vigor (0 a 5) em microscópio óptico (400x).

Para análise estatística, os dados foram expressos na forma de média e desvio padrão. Para a comparação entre os grupos, utilizou-se o Teste T para motilidade, e o Teste Kruskal-Wallis para o vigor ( $P < 0,05$ ).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As motilidades dos grupos controle e tratamento foram 57,7 e 44,4%, sendo significativamente diferentes. Essa motilidade do grupo tratamento foi consideravelmente maior que a obtida por Hewitt et al. (2001) no refrigeramento de espermatozoides epididimários para posterior congelamento (27,5%). Mota et al. (2013) conseguiram motilidade de 69,5% utilizando um refrigerador a 4°C, por 18h. Nesse trabalho utilizaram-se caixas térmicas e foram obtidos espermatozoides com qualidade aceitável, possibilitando o transporte de testículos-epidídimos para longas distâncias, por exemplo, outro estado.

Quanto ao vigor, observaram-se valores médios de 2,3 e 1,7 para os grupos controle e tratamento, respectivamente, e significativamente diferentes. Tal resultado foi semelhante ao encontrado por Santos et al. (2013) após 6h de refrigeração dos testículos-epidídimo, utilizando o mesmo diluidor.

## CONCLUSÃO

Conclui-se que é possível recuperar espermatozoides epididimários caninos de qualidade aceitável, após 24h se refrigerado adequadamente.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Hewitt, D. A.; Leahy, R.; Sheldon, I. M.; England, G.C.W. Cryopreservation of epididymal dog sperm. *Animal Reproduction Science*. v.67, p.101–111, 2001.
- Martins, M. I. M. Perspectivas da aplicação comercial de biotecnologias envolvendo espermatozoides obtidos de epidídimo de cães e gatos. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.31, n.1 p.115-118, jan./mar. 2007.
- Mota Filho, A. C.; Silva, H. V. R.; Freita, L. A. Refrigeração do epidídimo canino a 4°C e recuperação dos espermatozoides epididimários utilizando ACP-106c. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.33, p.1155-1160, 2013.
- Muradás, P. R.; Weiss, R. R.; Kozichi, L. E.; Granemann, L. C.; Santos, I. W.; Pimpão, C. T. 2006. Alguns parâmetros de viabilidade de espermatozoides equinos colhidos por vagina artificial e por lavagem da cauda do epidídimo. *Archives of Veterinary Science*. 11:69-74.
- Santos, J. F. P.; Rodrigues, E. E. M.; Silva, K. B. P.; Freitas, P. C.; Silva Neto, J. M. L.; Cardoso, R. C. S. Recuperação de

espermatozoides epididimários caninos a 4°C com um diluidor à base de água de coco em pó (ACP-106c®). Recife-PE, 2013. In: *XIII jornada de ensino, pesquisa e extensão – jepex*

## REFRIGERAÇÃO DE ESPERMATOZOIDES-EPIDIDIMÁRIOS CANINOS A 4°C UTILIZANDO ACP-106C® APÓS REFRIGERAÇÃO DOS TESTÍCULOS-EPIDÍDIMOS POR 24H: RESULTADOS PARCIAIS

*[Cooling of canine epididymal spermatozoa at 4°C using ACP-106c® after cooling of testicles-epididymis for 24h: partial results]*

**Karina Batista Pereira Silva<sup>1</sup>, José Fabson Pinheiro dos Santos<sup>1\*</sup>, Parvatí Carvalho de Freitas<sup>1</sup>, Anderson Valdecy Sales da Paz<sup>1</sup>, Jairo de Macêdo Lins e Silva Neto<sup>1</sup>, Rita de Cássia Soares Cardoso<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Discente (Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, Unidade Acadêmica de Garanhuns – UAG). \*Autor para correspondência. E-mail: fabson\_3@yahoo.com.br.

<sup>2</sup>Docente (Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, Unidade Acadêmica de Garanhuns – UAG).

**ABSTRACT** - This experiment aimed to cool epididymal spermatozoa after cooling testis-epididymis for 24h at 4°C and assess the effect of extender ACP -106c adding or not egg yolk. Canine testicles (n = 5) were collected from Environmental Control Center in Garanhuns, PE and cooled thermal box at 4 ° C for 24h. Motility and vigor were assessed after recovery, and then cooled for 24h at 4 ° C in order to be assessed in times 0, 60, 120 and 180 minutes and 24hours. Results show that motility decreased at 180 minutes in ACP-106c group. Using ACP-106c added by egg yolk there were a decreasing after 24hours, but there were not statistical difference between extenders. This work concludes it's possible to cool epididymal spermatozoa, using ACP-106c pure or added by egg yolk

**Keywords:** dog; conservation; germoplasm; reproduction.

**Palavras-Chave:** cão; conservação; germoplasma; reprodução.

### INTRODUÇÃO

A recuperação de espermatozoides de epidídimo é uma tecnologia perfeitamente aplicável na preservação de germoplasma de animais de valor genético (Martins et al., 2007), bem como na manutenção da diversidade genética em espécies ameaçadas de extinção (Ponglowhapan et al, 2006). O ACP-106® foi utilizado com sucesso na refrigeração de espermatozoides epididimários por 6 horas a 4 °C (Freitas et al., 2013), bem como o diluidor Tris-Gema (Melo et al., 2010). A refrigeração é um processo de fácil realização que pode garantir a conservação até a realização de inseminação ou mesmo para posterior congelamento. Dessa forma, é importante verificar se o ACP-106c® necessita de ajustes para a refrigeração de espermatozoides epididimários, como também verificar a eficiência do mesmo após um maior tempo de conservação do testículo-epidídimo. Este trabalho teve como objetivo refrigerar espermatozoides epididimários após conservação do testículo-epidídimo por 24h a 4°C e avaliar o efeito do diluidor ACP106c® adicionado ou não de gema de ovo.

### MATERIAL E MÉTODOS

Para realização desse experimento foram utilizados complexos testículos-epidídimos de cinco cães com idade entre 4 e 8 anos, oriundos de castrações realizadas no Centro de Controle Ambiental (Garanhuns, Pernambuco).

Após as orquiectomias, os complexos testículo-epidídimo foram lavados com solução aquecida de NaCl 0,9% contendo penicilina (120UI/mL) e estreptomicina (0,05mg/mL). Posteriormente foram envolvidos em gaze estéril embebida na solução acima citada, armazenados em sacos plásticos em caixa térmica a 4°C por 24 horas.

As caudas dos epidídimos foram dissecadas e limpas com a mesma solução anterior. Em seguida, colocadas em placas de Petri contendo 3,0 ml do diluidor (ACP 106c®, ACP Biotecnologia, Fortaleza, Ceará, Brasil) aquecida, fatiadas e permanecendo por 10 minutos. Então, a solução de ACP 106c® contendo os espermatozoides foi transferida para tubos plásticos e analisada, quanto a motilidade (%) e vigor (0 a 5) em microscópio óptico (400x).

Após análise inicial, foram retiradas duas alíquotas de amostra recuperada, sendo uma transferida para uma solução de ACP-106c® e outra com ACP-106c® e 20% de gema de ovo (diluição 1:2; suspensão espermática: diluidor). Estas amostras foram refrigeradas à 4°C em caixa térmica e avaliadas quanto ao vigor e motilidade nos tempos 60, 120, 180min, e após 24h. Os dados foram expressos na forma de média e desvio padrão. Para a comparação entre os grupos (ACP x ACP - gema) utilizou-se teste t para motilidade, e para vigor Mann-Whitney. Para comparação entre tempos foi utilizada ANOVA seguido do teste de tukey (motilidade) e teste de Wilcoxon (vigor).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ocorreu um declínio significativo da motilidade a partir do tempo 180min somente no grupo com ACP. Já no grupo com ACP-Gema ocorreu declínio a partir do tempo de 24h (Tab.1). Para o vigor, não houve diferença entre os tempos (Tab.1). Não houve diferença significativa na comparação dos diluidores ACP e ACP-Gema, analisando-os tempo a tempo. Ponglowhapan et al. (2006) conseguiu 35,6% de motilidade após refrigerar espermatozoides epididimários caninos por 2 dias a 5°C.

Tabela 1. Motilidade e Vigor de espermatozoides epididimários refrigerados a 4 °C nos tempos de 0 (antes da diluição), 60min, 120min, 180min e após 24h.

Tempo	MOTILIDADE (%)		VIGOR (0-5)	
	ACP-106c	ACP-106c - GEMA	ACP-106c	ACP-106c – GEMA
0 min	43,3 ± 18,6Aa	43,3 ± 18,6Aa	1,9 ± 0,6Aa	1,9 ± 0,6Aa
60 min	32,5 ± 16,0 Aa	33,3 ± 19,7 Aa	1,7 ± 0,6Aa	1,8 ± 0,9Aa
120 min	28,3 ± 13,3Ab	30,8 ± 19,1Aa	1,4 ± 0,4Aa	1,6 ± 0,9Aa
180 min	20,8 ± 18,9Ab	30,0 ± 19,0Aa	1,3 ± 0,5Aa	1,3 ± 0,9Aa
24 h	4,20 ± 3,70 Ac	9,20 ± 11,1Ab	0,7 ± 0,5Aa	0,7 ± 0,5Aa

Comparação entre ACP-106c e ACP-106c - GEMA dentro de cada tempo isoladamente (p>0,05)

<sup>a,b,c</sup> Letras diferentes implicam em diferença estatística entre os tempos (0,60,120 e 180) dentro de cada grupo (ACP-106c x ACP-106c-GEMA).

## CONCLUSÃO

Conclui-se que É possível refrigerar espermatozoides epididimários com qualidade aceitável utilizando o ACP-106c adicionado ou não de gema de ovo por até 60 minutos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Freitas, P. C.; Santos, J. F. P.; Silva, K. B. P.; Rodrigues, E. E. M.; Silva Neto, J. M. L.; Cardoso, R. C. S. Resfriamento de espermatozoides oriundos da cauda do epidídimo usando o diluidor à base de água de coco em pó (acp-106®) a 4°C. Recife-PE, 2013. In: *XIII JORNADA DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO-JEPEX*.

Martins, M. I. M. Perspectivas da aplicação comercial de biotecnologias envolvendo espermatozoides obtidos de epidídimo de cães e gatos. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.31, n.1 p.115-118, jan./mar. 2007.

Melo, M. I. V.; Oliveira, J. V. S.; Valle, G. R.; Rachid, M. A.; Soares, F. C. G.; Matos, J. J. R. T. Efeito da centrifugação e do líquido prostático homólogo na criopreservação de espermatozoides epididimários caninos. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.62, n.3, p.603-608, 2010.

Ponglowhapan, S.; Chatdarong, K.; Sirivaidyapong, S.; Lohachit, C. Freezing of epididymal spermatozoa from dogs after cool storage for 2 or 4 days. *Theriogenology*, v.66, p.1633-1636, 2006.

## RENOVAÇÃO DO DILUIDOR TRIS COM GEMA DE OVO OU *Aloe vera* sp. NA VIABILIDADE DO SÊMEN CANINO REFRIGERADO A 5°C – RESULTADOS PRELIMINARES

[Renewal of Tris extender with egg yolk or *Aloe vera* sp. on viability in cooled canine semen at 5°C- preliminary results]

Cibele Cavalcanti Souza de Melo<sup>1</sup>\*, Érika Christina Santos Oliveira<sup>1</sup>, Rebeca Pinto Ramos<sup>1</sup>, Cecília Freire de Lima<sup>1</sup>, Allynneide Emannuely da Silva Rodrigues<sup>1</sup>, Maria Madalena Pessoa Guerra<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratório de Andrologia (ANDROLAB), UFRPE, Recife-PE. \*Autor para correspondência. E-mail: cibelemelo@rocketmail.com

**ABSTRACT** - The objective was to evaluate the efficacy of re-dilution/ renovation of cooled semen of dogs at 5°C. Samples were diluted in duplicate, using tris + 20% egg yolk (GC, GC') or 5% *Aloe vera* (TG, TG') and centrifuged after 48 hours. CG' and GT' had the supernatant removed and a new extender was added. GC and GT had their pellets re-diluted in the same supernatant. Analyzes of total motility (MOT), progressive (MOP) and membrane integrity (IMP) were measured at: M0 (0h), M1, M2 and M3 (48h, 72h and 96h after cooling). Significant decrease was observed in the MOP when using tris-egg yolk in M2. The semen preserved in tris-aloe vera, revealed a significant decrease in the MOP in M1. In both treatments the renewal of the extender did not alter the observed conditions. It can be concluded that the renewal of extender do not influence the parameters analyzed.

**Key-words:** centrifugation; dogs; sperm; refrigeration; renovation.

**Palavras-Chave:** centrifugação; cães; espermatozoides; refrigeração; renovação.

### INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de protocolos de preservação espermática que viabilizem o transporte de material genético dentro e entre países desperta o interesse de médicos veterinários e criadores de cães (Nascimento et al., 2007). Meios diluentes são utilizados com o intuito de proteger os espermatozoides, conservar sua motilidade e fertilidade por um período de tempo, providenciar substrato energético e prevenir efeitos deletérios de mudanças no pH e osmolaridade (Chirinéa et al., 2006). Em contrapartida, no sêmen refrigerado o gasto energético da célula continua, o que favorece a diminuição do conteúdo nutritivo do diluidor fazendo com que sua viabilidade seja reduzida em alguns dias. Portanto, este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da renovação do diluidor na qualidade do sêmen de cães submetidos à refrigeração à 5°C.

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados cinco cães, adultos, oriundos de um canil particular. As colheitas seminais foram realizadas por meio da manipulação digital do pênis

(Linde-Forsberg, 1991). O sêmen foi dividido em duas amostras e realizada diluição 1/2 (v/v) em um dos diluidores (Tris + 20% gema - GC ou Tris + 5% de *Aloe vera* – GT). Em seguida, cada amostra foi dividida em duas outras e foram refrigeradas em geladeira até atingirem 5°C. Foi avaliada a integridade de membrana plasmática (IMP - Diacetato de Carboxifluoresceína e Iodeto de Propídio) e as motilidades total (MOT) e progressiva (MOP) por meio da análise computadorizada (*Sperm Class Analyser* - SCA) nas 0h (M0), 48h (M1), 72h (M2) e 96h (M3) após a refrigeração. Após a avaliação realizada no M1, as amostras foram submetidas à centrifuga refrigerada (400g/10 min). Em duas delas (GC' e GT') o sobrenadante foi descartado e o *pellet* foi ressuspenso em novo diluidor. As duas outras amostras (GC e GT) tiveram seu *pellet* ressuspenso no sobrenadante de origem. Os dados foram expressos como médias e desvios-padrão. Análises de variância de médias repetidas foram feitas para comparar os dados ao longo do tempo, e foram utilizados os testes de Tukey e Fisher para identificar diferenças significativas com nível de significância de 5% (Ferreira, 2008).

## RESULTADOS

Na tabela 1, pode observar que não houve diferença significativa entre os valores de MOT no decorrer do tempo mesmo após a renovação do diluidor à base de tris-gema. Por outro lado, ao avaliar os valores das amostras diluídas em tris-*Aloe vera* observou-se queda significativa da motilidade no M1, e a renovação do diluidor não modificou este resultado, uma vez que observou-se queda significativa também em avaliação realizada às 72 horas de refrigeração (M2). Ao se avaliar a MOP foi observada uma queda significativa deste

parâmetro nas amostras diluídas em tris-gema às 72h após a refrigeração (M2) e este comportamento se repetiu mesmo após a renovação do diluidor. No caso das amostras preservadas em tris-*Aloe vera*, a queda da MOP foi observada em avaliação realizada 48h após refrigeração (M1) e a renovação do diluidor não melhorou este quadro. Quanto à IMP, independente do momento avaliado e da renovação ou não do diluidor não foram observadas diferenças significativas no tris-gema, mas ao analisar o GT, houve queda significativa à partir de 72h (M2). A renovação do diluidor realizada após 48 horas de refrigeração não alterou este quadro.

Tabela 1. Médias e desvios-padrão das motilidades total (MOT) e progressiva (MOP) e da integridade de membrana plasmática (IMP) do sêmen canino refrigerado a 5°C sem renovação (GC e GT) ou com renovação (GC' e GT') do diluidor.

		GC	GT	GC'	GT'
MOT (%)	M0	90 ± 5	78,1 ± 1 <sup>A</sup>	90 ± 5	78,1 ± 1 <sup>A</sup>
	M1	83,5 ± 1 <sup>a</sup>	42,8 ± 2 <sup>bB</sup>	83,5 ± 1 <sup>a</sup>	42,8 ± 2 <sup>bB</sup>
	M2	72,4 ± 1 <sup>a</sup>	50,8 ± 1 <sup>ab</sup>	81,3 ± 1 <sup>a</sup>	10,5 ± 1 <sup>bC</sup>
	M3	59,6 ± 3 <sup>a</sup>	45,1 ± 1 <sup>ab</sup>	70,9 ± 2 <sup>a</sup>	5,8 ± 1 <sup>bC</sup>
MOP (%)	M0	51,2 ± 5 <sup>aA</sup>	26,5 ± 14 <sup>bA</sup>	51,2 ± 5 <sup>aA</sup>	26,5 ± 14 <sup>bA</sup>
	M1	40,9 ± 7 <sup>aA</sup>	7,3 ± 5 <sup>bB</sup>	40,9 ± 7 <sup>aA</sup>	7,3 ± 5 <sup>bB</sup>
	M2	35,8 ± 5 <sup>aA</sup>	9,2 ± 7 <sup>bB</sup>	50,4 ± 14 <sup>aA</sup>	0 <sup>bB</sup>
	M3	18,9 ± 14 <sup>ab</sup>	11,3 ± 15 <sup>abB</sup>	24,6 ± 14 <sup>ab</sup>	0 <sup>bB</sup>
IMP (%)	M0	72,2 ± 5 <sup>a</sup>	70,4 ± 5 <sup>aA</sup>	72,2 ± 5 <sup>aA</sup>	70,4 ± 5 <sup>aA</sup>
	M1	67,8 ± 9	55,3 ± 2 <sup>A</sup>	67,8 ± 9	55,3 ± 2 <sup>AB</sup>
	M2	72,7 ± 3 <sup>a</sup>	38,2 ± 1 <sup>bB</sup>	77 ± 3 <sup>aA</sup>	41,8 ± 1 <sup>bB</sup>
	M3	58,5 ± 1 <sup>a</sup>	38,1 ± 9 <sup>bB</sup>	52 ± 1 <sup>ab</sup>	29,1 ± 1 <sup>bB</sup>

Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna diferem entre si ( $p < 0,05$ ). Letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem entre si ( $p < 0,05$ ). GC: grupo controle; GT: grupo tratado.

## CONCLUSÃO

Pode-se concluir que a renovação não melhorou os parâmetros avaliados, independente do diluidor estudado e do processo de centrifugação. Entretanto, sugerem-se mais estudos com o gel da *Aloe vera sp.*, já que sua viscosidade e instabilidade pode ter contribuído para estes resultados.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Chirínea, V.H.; Martins, M.I.M.; Souza, F.F.; Tebet, J.M.; Papa, F.O.; Lopes, M.D. Características morfofuncionais do sêmen canino refrigerado e congelado, usando dois diferentes meios diluentes. *Ciência Animal Brasileira*, v. 7, n. 4, p. 407-415, out./dez. 2006.
- Ferreira, D.F. Estatística multivariada. Editora UFLA, 2008.
- Linde-Forsberg, C. Achieving canine pregnancy by using frozen or chilled extended semen. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, v.21, n. 3, 467- 485, 1991.
- Nascimento, M. V.; Mota-Filho, A.C.; Silva, A.R. Acondicionamento de sêmen canino para transporte utilizando diferentes diluentes. *Ciência Animal*, 17(1):37-44, 2007.

## RESFRIAMENTO DE ESPERMATOZOIDES CANINOS IMEDIATAMENTE APÓS RECUPERAÇÃO DO EPIDÍDIMO COM ACP-106C® ACRESCIDO OU NÃO DE GEMA DE OVO: RESULTADOS PRELIMINARES.

*[Cooling of canine spermatozoa after recovery from epididymis using ACP-106c ® added by or not egg yolk:  
preliminary results]*

Elizabeth Teixeira Gomes<sup>1</sup>, José Fabson Pinheiro Dos Santos<sup>1</sup>, Karina Batista Pereira Silva<sup>1</sup>, Parvatí Carvalho de Freitas<sup>1</sup>, Jairo de Macêdo Lins e Silva Neto<sup>1</sup>, Rita de Cássia Soares Cardoso<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Discente (Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, Unidade Acadêmica de Garanhuns – UAG). \* Autor para correspondência. E-mail: fabson\_3@yahoo.com.br.

<sup>2</sup>Docente (Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, Unidade Acadêmica de Garanhuns – UAG).

**ABSTRACT** - Sperm cooling aims to decrease the metabolism of cells during preservation increasing its longevity. The purpose of this experiment was to assess the quality of cooled canine epididymal spermatozoa and observe the influence of egg yolk in the composition of the extender used in the cooling. Canine epididymal spermatozoa were collected, then spermatozoa were placed in two extenders, one containing ACP - 106c® and other similar to previous one but received supplementation of 20% egg yolk. Samples were cooled at 4 ° C and seminal parameters (motility and vigor) were assessed at 0 (before dilution), 60, 120, 180 minutes and 24h. Results were similar between extenders at different times for both motility and vigor. Thus there was no significant influence of egg yolk in the cooling of spermatozoa.

**Keywords:** epididymis; dog; egg yolk; sperm; cooling.

**Palavras-Chave:** epidídimo; cão; gema; espermatozoides; resfriamento.

### INTRODUÇÃO

O resfriamento do sêmen tem como objetivo diminuir o metabolismo dos espermatozoides durante sua conservação, prolongando a sua vida útil (England; Ponzio, 1996). Para que este procedimento alcance êxito deve-se levar em consideração vários fatores como: a escolha dos diluidores, taxa de diluição adequada, curva de resfriamento e manutenção de uma temperatura específica durante o armazenamento (Almeida, 1998).

A recuperação de espermatozoides colhidos diretamente do epidídimo e posterior resfriamento são procedimentos importantes para se obter e conservar material genético de animais domésticos e de espécies em extinção (Melo, 2009).

De acordo com Cardoso et al. (2010), a gema de ovo pode ser comumente empregada para refrigeração do sêmen canino, porém, diversos autores recomendam apenas o uso de 20% independente da composição do diluidor.

Dessa maneira, o objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade de espermatozoides caninos resfriados imediatamente após a recuperação do epidídimo e observar a influência da gema de ovo na composição do meio diluente utilizado na refrigeração.

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados complexos testículos-epidídimos de cinco cães SRD, com idade entre 4 e 8 anos, oriundos do Centro de Controle de Zoonoses de Garanhuns e submetidos à castração.

Após a retirada dos testículos, estes foram lavados com solução fisiológica adicionada de penicilina (120UI/mL) e estreptomicina (0,05mg/mL). Em seguida, foi dissecado o epidídimo e a cauda fatiada em placa de Petri para obtenção dos espermatozoides. Posteriormente foi adicionado 3 ml de ACP-106c® (ACP Biotecnologia, Fortaleza, Ceará, Brasil) aquecido e, após 10 minutos, esta suspensão foi transferida para tubos plásticos. Após análise inicial, foram retiradas duas alíquotas de amostra recuperada, sendo realizadas as diluições



(1:2;sêmen:diluidor) em uma solução de ACP-106c® (GRUPO ACP) e outra que recebeu suplementação de 20% de gema de ovo (GRUPO ACP-GEMA). Estas amostras foram refrigeradas à 4°C em caixa térmica e avaliadas quanto ao vigor e motilidade nos tempos 60, 120,180min, e após 24h em microscópio óptico (400x). Para análise estatística os dados foram expressos na forma de média e desvio padrão. Para a comparação entre os grupos utilizou-se teste t para motilidade, e para o vigor, Mann-Whitney. Para comparação entre tempos foi utilizada ANOVA seguido do teste de tukey para a motilidade, e teste de Wilcoxon para o vigor.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os grupos (ACP x ACP-GEMA) foram semelhantes nos tempos testados, tanto para motilidade quanto para vigor (Tabela 1). Estes resultados diferem daqueles encontrados por

Cardoso et al. (2010), onde observaram um aumento na motilidade do sêmen com diluidor acrescido de 20% de gema. Ainda neste trabalho o autor relatou semelhança nos valores de vigor dos grupos acrescido de gema e sem gema, o que corrobora com os resultados aqui expostos, ressaltando que tais autores utilizaram espermatozoides ejaculados e não epididimários como neste trabalho.

Ainda em relação à motilidade, foi possível observar que houve um declínio desta a partir dos 180min para o grupo com ACP, e a partir dos 120 para o grupo com ACP e gema (Tabela 1). Quanto ao vigor foi possível observar declínio deste somente a partir das 24 horas de refrigeração. Apesar dos valores de motilidade estarem baixos após os 180 minutos de conservação, é importante ressaltar que estes estão dentro dos limites aceitáveis considerando um sêmen criopreservado, que é de 30 a 40%.

Tabela 1. Motilidade e vigor (média ± DP) dos grupos com ACP-106c e ACP-106c/gema nos tempos de 0, 60, 120,180 min e com 24 horas.

TEMPO	MOTILIDADE		VIGOR	
	ACP	ACP- GEMA	ACP	ACP- GEMA
0min.	58,0 ± 10,95Aa	58,0 ± 10,95Aa	2,6 ± 0,41Aa	2,6 ± 0,41Aa
60min.	48 ± 17,88Aa	50 ± 14,14Aab	1,9 ± 0,65Aa	2,1 ± 0,65Aa
120min.	38 ± 16,43Aab	38 ± 13,03Ab	1,8 ± 0,57Aab	1,9 ± 0,54Aab
180min.	30 ± 17,3Ab	32 ± 19,23Abc	1,5 ± 0,7Aab	1,5 ± 1,0Aab
24h	3 ± 2,73Ac	2,7 ± 1,2Ad	0,4 ± 0,54Ab	0,6 ± 0,5Ab

A; Comparação entre diluidores (P>0,05)

a,b,c,d: Letras diferentes na mesma coluna implicam em diferença estatística (P<0,05) entre os tempos dentro de cada grupo.

## CONCLUSÃO

Podemos observar que espermatozoides provenientes de epidídimos de cães castrados podem ser resfriados com qualidade aceitável por até 120 minutos utilizando ACP-106c® acrescido ou não de gema de ovo. No entanto, novas repetições são necessárias, pois ainda são resultados preliminares.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Almeida, L. E. F. *Viabilidade espermática do sêmen de cães, nas 24 e 48 horas após a diluição e resfriamento em container para transporte*. 1998. 40p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Curso de pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal Fluminense.

Cardoso, J. F. S.; Paula, N. R. O.; Uchoa, D. C.; Silva, L. D. M. Diferentes concentrações de gema de ovo na qualidade do sêmen canino diluído em ACP®-106 e resfriado a 4 °C. *Comunicata Scientiae*, v. 1, n. 2, p.146-152, 2010.

England, G. C. W.; Ponzio, P.; Comparison of the quality of frozen-thawed and cooled-rewarmed dog semen. *Theriogenology*, v. 46, p.165-171, 1996.

Melo, M. I. V.; Oliveira, J.V.S. ; Valle, G.R. ; Rachid, M.A. ; Soares, F.C.G. ; Matos, J.J.R.T.; Efeito da centrifugação e do líquido prostático homólogo na criopreservação de espermatozoides epididimários caninos. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.62, n.3, p.603-608, 2010.

## SEMINOMA EM CANINO: RELATO DE CASO

[*Seminoma in canine: a case report*]

**Fernando Kelsen Araujo França<sup>1\*</sup>, Elenara Botelho Araújo<sup>1</sup>, Anelise de Sarges Ramos<sup>1</sup>, Nathalia Clemente Barreto<sup>1</sup>, Sebastião Tavares Rolim Filho<sup>1</sup>, Haroldo Francisco Lobato Ribeiro<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Universidade Federal Rural da Amazônia – UFRA. \* Autor para correspondência. E-mail: kelsen.fernando@me.com.

**ABSTRACT** – One of the most common types of testicular neoplasia in dogs is the seminoma, which afflicts mainly cryptorchid animals, being most prevalent in the right testicle of animals with an average age of 10 years, with no racial predisposition. This work aimed to report a clinical case of seminoma, assisted at the Veterinary Hospital Professor Mário Dias Teixeira (HOVET/UFRA), which was diagnosed by clinical, ultrasound and histopathological examination, and conducted to orchiectomy.

**Keywords:** tumor; testicles; cryptorchidism; dogs.

**Palavras-Chave:** tumor; testículos; criptorquidismo; cães.

### INTRODUÇÃO

Seminomas são o segundo tipo mais comum de neoplasia testicular em cães e mais prevalentes em testículos criptorquídicos do que em testículos normalmente posicionados. Originam-se dos túbulos seminíferos e não produzem hormônios. Essa neoplasia raramente é maligna. (Carlton; Gavin, 1998). Esse tumor é mais comum no testículo direito e não é descrita predisposição racial. Geralmente ocorre em cães machos, com idade média de 10 anos e raramente são descritas metástases (Souza et al., 2009). O presente estudo teve como objetivo relatar um dos casos clínicos reprodutivos mais relevantes atendido no Hospital Veterinário Professor Mário Dias Teixeira (HOVET/UFRA), pelo Setor de Reprodução Animal (SRA/UFRA),

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram atendidos pelo Setor de Reprodução Animal da Universidade Federal Rural da Amazônia (SRA/UFRA), HOVET/UFRA, no período de 01 de março e 20 de dezembro de 2013, 19 caninos, machos, com média de idade de 9 anos, dentre os quais, cinco (26,31%) apresentaram como suspeita neoplasia testicular.

Dos cinco animais suspeitos, três (60%) tiveram confirmação do quadro, através de análise histopatológica posterior a orquiectomia, sendo um com sertolioma, um apresentando seminoma e leydigocitoma nos testículos esquerdo e direito respectivamente, e outro com seminoma em

testículo localizado em região subcutânea, o qual é apresentado no presente trabalho.

Para a realização do procedimento cirúrgico do animal em questão, foi utilizado como medicação pré-anestésica 0,5mg/kg de Morfina por via intramuscular, prosseguindo-se para indução anestésica com 10mg/kg de quetamina associados a 0,5mg/kg de midazolam em administração intravenosa, e a manutenção da anestesia foi realizada com Isoflurano 2%.

A cirurgia procedeu-se com a retirada de testículo esquerdo com massa neoplásica localizado em região subcutânea, o qual foi enviado para o Laboratório de Histopatologia da UFRA (Labopat/UFRA), onde foi fixado em Formol Tamponado 10%, passando por histotecnologia de rotina, para posterior corte à 5µm em micrótomo rotativo, e em seguida, as lâminas foram montadas e coradas por H.E. (Hematoxilina e Eosina), e analisadas em microscópio óptico em aumentos de 10x e 40x.

### RESULTADOS

Durante avaliação clínica de rotina em um canino, macho, da raça Pinscher, com 13 anos de idade, pela inspeção constatou-se criptorquidia bilateral pela palpação. Evidenciou-se a presença de massa estendendo-se de região abdominal à inguinal esquerda, com consistência flutuante em algumas áreas e firme em outras, de coloração vermelha.

Em exame ultrassonográfico, foram visualizados testículos ectópicos, sendo o esquerdo, em região subcutânea ilíaca inguinal esquerda, com desfiguração do parênquima anatômico, ecogenicidade mista, ecotextura homogênea, com fluxo ao mapeamento Doppler em neovascularização do processo neoplásico; e o direito em região intra-abdominal inguinal direita, com contornos definidos, dimensões preservadas, ecogenicidade e ecotextura preservada, mediastino regular e delgado. Os parâmetros apresentados pelo testículo alterado diferiram do descrito por Souza et al. (2010), em seu trabalho sobre aspectos ultrassonográficos de seminoma em cão, no qual foi encontrado nódulo em testículo esquerdo de aspecto circunscrito, hipocóico, bem delimitado, mensurando aproximadamente 1,0 cm seu maior diâmetro e promovendo perda de definição no mediastino testicular.

No exame macroscópico do testículo esquerdo visualizou-se, ao corte, aspecto multilobular (fasciculado), com áreas de coloração avermelhada, mesclando com áreas esbranquiçadas, e pequenas áreas de hemorragias multifocais. Ao exame histopatológico, observou-se neoformação composta por grandes lobos, indicando origem tubular. As células volumosas, muitas com citoplasma vesiculoso e em grupos, mostrando anisonucleose e aleatórias áreas de necrose coagulativa. O crescimento neoplásico formou um conjunto sólido com alto índice mitótico.

Pela análise histopatológica acima descrita, confirmou-se o diagnóstico morfológico de seminoma, confirmando a suspeita clínica.

As observações macroscópicas no presente estudo diferiram do abordado por Carlton e Gavin (1998), que afirmaram que este tipo de neoplasia é branca a cinza-rósea, firme e salienta-se ao corte e possui finas trabéculas fibrosas. Na histopatologia, as lesões descritas no presente caso assemelharam-se dos encontrados por estes autores, que indicaram que microscopicamente esses tumores podem ser encontrados em arranjos intratubulares ou difusos de células grandes, poliédricas, com contornos bem demarcados, núcleo grande e muito pouco citoplasma.

### CONCLUSÕES

Por meio do presente estudo, foi possível concluir que a ocorrência de neoplasias testiculares no atendimento clínico reprodutivo, é bem relevante (26,31%), sendo o seminoma um dos mais encontrados nos animais estudados (66,66%), e que a realização de exame ultrassonográfico, concomitante à avaliação clínica, e o exame histopatológico pós-cirúrgico, é de suma

importância para fechar o diagnóstico de patologias reprodutivas.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Carlton, W. W.; Mc Gavin, M. D. *Patologia Veterinária Especial de Thomson*. 2ª edição. Porto Alegre. Editora Artmed. 579p. 1998.

Souza, M. E. P.; Zetun, M. C.; Pereira, J. N.; Coswosck, L. D.; Costa, F. S. *Aspectos Ultra-Sonográficos de Seminoma em Cão – Relato de Caso*. UFES. 2009. Acesso em 03 de março de 2014.

## **Caprinos**

## COMPARAÇÃO DA CITOLOGIA VAGINAL DE CABRAS CÍCLICAS E GESTANTES DA RAÇA CANINDÉ EXPLORADAS NA REGIÃO SEMIÁRIDA DO NORDESTE DO BRASIL

*[Comparison of Vaginal Cytology between Cyclic and Pregnant of Canindé goats raised in the Semiarid Zone of Northeastern Brazil]*

**Bruna Swell Freire de Medeiros<sup>1\*</sup>, Leilanne Cristina de Andrade Pinto<sup>1</sup>, Raniela de Sousa Nunes<sup>1</sup>, Ewerton de Medeiros Filho<sup>1</sup>, Ana Indira Bezerra Barros<sup>2</sup>, Aracely Rafaelle Fernandes Ricarte<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> Graduandos do Curso de Medicina Veterinária - UFERSA/Mossoró. \*Autor para correspondência. E-mail: brunaswellfmedeiros@gmail.com.

<sup>2</sup> Graduanda do Curso de Zootecnia – UFERSA/Mossoró.

<sup>3</sup> Docente do Departamento de Ciências Animais - UFERSA/Mossoró.

**ABSTRACT** - The aim of this study was to compare vaginal cytology profile of cyclic and pregnant goats Caninde breed. To this end, eight goats cyclical and eight pregnant goats were subjected daily for 20 days to vaginal cytology, while the pregnant group only weekly to avoid excessive stress them. There was a significant increase in the amount of parabasal (PB) and surface nucleated (SN) cells in the group of pregnant compared with the group of cyclic females, however the average percentage of cells Intermediate (IN) was significant higher in the group non-pregnant females. Finally, variables quantities Polymorphonuclear cells was observed in both groups, in the group of pregnant females rather high quantity observed in all slides but these cells were not quantified in this experiment. Thus it can be concluded that the use of vaginal cytology in the diagnosis goats Caninde as gestational not shown reliability.

**Keywords:** goats; pregnancy diagnosis, reproduction.

**Palavras-chave:** caprinos; diagnóstico de gestação; reprodução.

### INTRODUÇÃO

O diagnóstico da gestação em cabras atualmente pode ser feito através de radiografia, laparoscopia e ultra-sonografia. São técnicas que exigem equipamentos caros e muitas vezes de manuseio não muito simples.

Neste contexto, a citologia vaginal surge como uma técnica alternativa de fácil execução, manuseio e economicamente viável para o diagnóstico gestacional em cabras, já tendo sido testada e avaliada em várias raças caprinas (Yamada & Kozicki, 1998). Tendo em vista a importância de raças nativas para região Nordeste, o estudo dos parâmetros reprodutivos de raças como a Canindé, pode ser de grande valia para melhorar a adaptabilidade de rebanhos desta região. Sendo assim, o objetivo do presente estudo foi de comparar o perfil citológico vaginal de cabras da raça Canindé cíclicas e gestantes.

### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no Núcleo de Produção de Pequenos Ruminantes da Universidade Federal Rural do Semiárido, no município de Mossoró, Rio Grande do Norte. Foram utilizadas oito cabras da raça Canindé, cíclicas, com peso médio de 32 Kg e oito cabras gestantes, estando estas no primeiro terço gestacional. As gestações foram diagnosticadas através de ultrassonografia antes do período experimental. As fêmeas cíclicas foram submetidas diariamente durante 20 dias à citologia vaginal, enquanto que o grupo das gestantes apenas semanalmente para evitar o estresse excessivo das mesmas. Para a citologia vaginal foi utilizado um swab estéril de algodão e lâminas de vidro, estas foram coradas pelo Panótico Rápido (Laborclin<sup>®</sup>) e levadas ao microscópio de luz (400X) para contagem das células do epitélio vaginal, classificadas em Superficiais Anucleadas (SA), Superficiais Nucleadas (SN), Intermediárias (IN) e Parabasais (PB), foram contadas 200 células de cada lâmina. Foram comparados os percentuais

médios dos diferentes tipos celulares encontrados durante todo um ciclo estral com os percentuais médios das células encontradas durante o mesmo período nas fêmeas gestantes. A análise estatística foi realizada utilizando-se análises de variância (ANOVA) e teste t de Student, sendo considerado significativo quando  $P < 0,05$ .

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Como se pode averiguar na Tab. 1, foi observado um aumento significativo na quantidade de células Parabasais (PB) e Superficiais Nucleadas (SN) no grupo das fêmeas gestantes quando comparado com o grupo das fêmeas cíclicas, de acordo com Raposo et al. (2000), tanto na ocasião do diestro como também da gestação pode haver uma elevação na porcentagem de células PB. Por outro lado, ao contrário do que se esperava, houve também

aumento significativo do número de células SN na gestação, fato este que não foi encontrado relatos na literatura, podendo ser atribuída a uma característica da raça, necessitando para isto, de trabalhos futuros que utilizem um número maior de animais. Observou-se ainda diferença significativa da porcentagem média de células Intermediárias (IN) no grupo de fêmeas não gestantes, esse achado difere daqueles descritos por Raposo et al. (2000), que observaram valores de células (IN) semelhantes nas diferentes fases do ciclo estral e no grupo de fêmeas gestantes da raça Saanen. Por fim, foi observado no grupo das fêmeas não gestantes quantidades variáveis de células Polimorfonucleares, enquanto que no grupo das fêmeas gestantes uma quantidade bastante elevada em todas as lâminas observadas, porém, estas células não foram quantificadas neste experimento.

Tabela 1. Porcentagem média ( $\pm$ DP) de células do epitélio vaginal observadas nos grupos de cabras Canindé gestantes e não gestantes

Tipos Celulares	Gestantes	Não Gestantes
Superficiais Anucleadas (AS)	6,0 $\pm$ 5,8 <sup>a</sup>	4,4 $\pm$ 5,0 <sup>a</sup>
Superficiais Nucleadas (SN)	23,1 $\pm$ 8,5 <sup>a,b</sup>	12,9 $\pm$ 11,8 <sup>a</sup>
Intermediárias (IN)	36,6 $\pm$ 5,9 <sup>a</sup>	56,2 $\pm$ 23,9 <sup>a,b</sup>
Parabasais (PB)	30,5 $\pm$ 15,7 <sup>a,b</sup>	17,6 $\pm$ 15,5 <sup>a</sup>

Letras diferentes na mesma linha indica diferença significativa ( $P < 0,05$ ) do tipo celular entre os grupos

## CONCLUSÕES

A utilização da citologia vaginal em cabras Canindé como diagnóstico gestacional não demonstrou confiabilidade, uma vez que os achados entre cabras gestantes e não gestantes não foram muito distintos.

## AGRADECIMENTOS

Ao Banco do Nordeste (BNB) e ao Núcleo de Produção de Pequenos Ruminantes da Universidade Federal Rural do Semiárido (UFERSA) pela cessão e manutenção dos animais utilizados no experimento, à FAPERN pelo financiamento de parte do material da pesquisa e ao Laboratório de Conservação de Germoplasma Animal da UFERSA por fornecer suporte técnico.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Raposo, R.S.; Silva, L.D.M.; Lôbo, R.N.B.; Freitas, V.J.F.; Dias, F.E.F. Comparação da Citologia Vaginal de Cabras Cíclicas e Gestantes da Raça Saanen. *Rev. Cient. Prod. Anim.*, v.2, n.1, p. 12-16, 2000.

Yamada, M.L.A.; Kozicki, L.E. Contribuição ao estudo do diagnóstico de gestação em *Capra hircus*, através da histologia e citologia do epitélio vaginal. *Braz. J. vet. Res. anim. Sci.*, São Paulo, v. 35, n. 6, p. 246-251, 1998.

## EFEITO DA ADIÇÃO DE PROTEÍNA ANTICONGELANTE NA MATURAÇÃO *IN VITRO* DE COMPLEXOS *CUMULUS*-OÓCITO CAPRINO VITRIFICADOS E POSTERIORMENTE AQUECIDOS

[Effect of addition of antifreeze protein on *in vitro* maturation of goat cumulus-oocyte complexes vitrified and warmed]

Dowglis Ferreira Chaves<sup>1</sup>, Joanna Maria Gonçalves de Souza-Fabjan<sup>1\*</sup>, Iana Sales Campelo<sup>1</sup>, Rodrigo Rabêlo de Castro Sousa<sup>1</sup>, Vicente José de Figueirêdo Freitas<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Faculdade de Veterinária, PPGCV, Universidade Estadual do Ceará (UECE). \*Autor para correspondência. E-mail: joannavet@gmail.com.

**ABSTRACT** - The aim was to evaluate the effect of adding antifreeze protein (AFP) on *in vitro* maturation (IVM) of vitrified/warmed goat oocytes. Cumulus-oocyte complexes (COC) were selected, allocated into three groups and vitrified with 0, 500 or 1000 ng of AFP added in the vitrification solution. After warming, COC underwent IVM for 23-24 h, were denuded, stained and evaluated regarding IVM, under ultraviolet light. The results showed that the proportion of degenerated oocytes reduced from 58% to 21% with increased concentrations of AFP. Furthermore, the rate of *in vitro* maturation addition of AFP had a positive effect enhancing rates of 3% (0 ng) to 13% (1000 ng). Therefore it can be concluded that the addition of AFP was beneficial for IVM of goat COC previously vitrified, and more studies should be performed to validate this result.

**Keywords:** criopreservação; gamete; *in vitro* maturation.

**Palavras-Chave:** criopreservação; gameta; maturação *in vitro*.

### INTRODUÇÃO

A criopreservação de oócitos pode ser uma ferramenta útil para pesquisas biotecnológicas, formação de bancos de germoplasma e, conseqüentemente, preservação de material genético. No entanto, todas essas vantagens são limitadas pelas baixas taxas de maturação, fecundação e desenvolvimento embrionário de oócitos criopreservados (Saragusty & Arav, 2011).

Dentre as formas de criopreservação, a vitrificação trata-se de um método rápido que não utiliza aparelho de congelamento (Vajta et al., 1998). Em estudos recentes, uma proteína que apresenta potencial de preservar os tecidos de danos provocados pelo frio ártico em plantas, peixes e insetos foi incorporada na solução de vitrificação de oócitos de camundongos. Essa proteína anticongelante (PAC) possibilitou 97% de sobrevivência oocitária pós-aquecimento, o que por conseqüência refletiu em melhores taxas de clivagem (91%) e de produção de blastocistos (56%) (Jo et al., 2012). Diante disso, a suplementação com PAC na solução de vitrificação pode ser uma alternativa importante para a melhoria

nas taxas de produção *in vitro* (PIV) de embriões a partir de oócitos vitrificados. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da adição de PAC sobre a maturação de oócitos caprinos vitrificados/aquecidos.

### MATERIAL E MÉTODOS

Para a obtenção dos complexos cumulus-oócito (CCO), 14 fêmeas caprinas passaram por tratamento hormonal para sincronização do estro e superestimulação ovariana conforme descrito por Avelar et al. (2012). As cabras foram posteriormente abatidas e os ovários recuperados. Para aspiração folicular, foi utilizada uma agulha 22 G acoplada a um sistema de vácuo com pressão ajustada para 35 mmHg. Os CCO aspirados foram encaminhados para tubos tipo Falcon com meio de colheita oocitária que consistiu de 15 mg/mL de TCM 199 tamponado com 2,2 g/L de NaHCO<sub>3</sub> e suplementado com 20 UI/mL de heparina e 40 mg/mL de sulfato de gentamicina. Após esse procedimento os CCO graus I e II foram selecionados e imediatamente vitrificados pela técnica de *Open Pulled Straw* (OPS) conforme Vajta et al. (1998). Os CCO foram então

distribuídos em três grupos e vitrificados com 0, 500 ou 1000 ng de PAC adicionados na solução de vitrificação. O armazenamento dos CCO foi realizado em nitrogênio líquido e o aquecimento seguiu a mesma metodologia de Vajta et al. (1998). Após o aquecimento, os CCO foram submetidos à maturação *in vitro* (MIV) por 23-24 h à temperatura de 38,5 °C e atmosfera umidificada de 5% de CO<sub>2</sub> em meio constituído de 15 mg/mL de TCM 199 tamponado com 2,2 g/L de NaHCO<sub>3</sub> e suplementado com 50 µg/mL de gentamicina, 10% de soro fetal bovino, 0,2 mM de piruvato de sódio, 10 ng/mL de EGF, 100 µM cisteamina, 20 µg/mL FSH/LH, 1 µg/mL estradiol e 10% soro cabra em estro. Posteriormente a esse processo, os CCO foram desnudos em vórtex, corados com Hoechst 33342 (15 µg/mL) e avaliados sob luz ultravioleta, quanto à maturação oocitária.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram recuperados 130 CCO e, destes, somente 109 foram utilizados por apresentarem qualidade grau I e II. No presente estudo, a proporção de oócitos degenerados reduziu significativamente na concentração de 1000 ng de PAC (Tab. 1). A PAC aumentou a porcentagem de oócitos atingindo o estágio intermediário da meiose (metáfase I) ( $P < 0,05$ ) e elevou as taxas de MIV de 3% (0 ng) para 13% (1000 ng), embora não significativo. Esses resultados ainda são inferiores aos resultados obtidos na literatura e em nosso laboratório (~85%) utilizando oócitos não vitrificados previamente. Os resultados desse estudo estão de acordo com a pesquisa desenvolvida por Jo et al. (2012). Esses autores sugerem que a adição de PAC melhora a competência de desenvolvimento oocitário após a vitrificação.

Tabela 1. Avaliação da maturação *in vitro* de complexos *cumulus*-ócito (CCO) caprinos vitrificados sob diferentes concentrações de proteína anticongelante (PAC) na solução de vitrificação.

	Concentrações de PAC/mL na solução de vitrificação		
	0 ng	500 ng	1000 ng
<i>n</i> (CCO)	36	34	39
QVG* (%)	8 (22) <sup>a</sup>	6 (18) <sup>a</sup>	4 (10) <sup>a</sup>
MI*(%)	6 (17) <sup>a</sup>	13 (38) <sup>b</sup>	22 (56) <sup>b</sup>
MII*(%)	1 (3) <sup>a</sup>	3 (9) <sup>a</sup>	5 (13) <sup>a</sup>
Degenerados (%)	21 (58) <sup>a</sup>	12 (35) <sup>a,b</sup>	8 (21) <sup>b</sup>

\* quebra de vesícula germinativa (QVG), metáfase I (MI), metáfase (MII).

<sup>a,b</sup> Valores com letras diferentes na mesma linha são diferentes pelo teste do qui-quadrado.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

No presente estudo pode-se concluir que a adição de PAC foi benéfica para MIV de CCO caprinos vitrificados. Mesmo com resultados de MIV inferiores aos encontrados na literatura para oócitos não vitrificados previamente, este estudo indica que é possível reparar, ao menos parcialmente, os danos causados pela vitrificação. Mais estudos devem ser realizados para confirmar se a PAC pode representar avanços na criobiologia de gametas.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem aos Drs. M. Costa e M. Krieger (IBMP) o fornecimento da proteína anticongelante.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Avelar, S. R. G.; Moura, R. R.; Sousa, F. C.; Pereira, A. F.; Almeida, K. C.; Melo, C. H. S.; Teles-Filho, A. C. A.; Baril, G.; Melo, L. M.; Teixeira, D. I. A.; Freitas, V. J. F. Oocyte production and *in vitro* maturation in Caninéd goats following hormonal ovarian stimulation *Animal Reproduction*, v. 9, n. 1, p. 27-32, 2012.
- Jo, J. W.; Jee, B. C.; Suh, C. S.; Kim, S. H. The beneficial effects of antifreeze proteins in the vitrification of immature mouse oocytes. *PLoS one*, v. 7, n. 5, p. e37043, 2012.
- Saragusty, J.; Arav, A. Current progress in oocyte and embryo cryopreservation by slow freezing and vitrification, *Reproduction*, v. 141, p. 1-19, 2011.
- Vajta, G.; Holm, P.; Kuwayama, M.; Booth, P. J.; Jacobsen, H.; Greve, T.; Callesen, H. Open pulled straw (OPS) vitrification: a new way to reduce cryoinjuries of bovine ova and embryos. *Molecular reproduction and development*, v. 51, p. 53-8, 1998.



## **EFEITO DA APLICAÇÃO DUPLA DE PGF 2 $\alpha$ (D-CLOPROSTENOL) NA INDUÇÃO DO ESTRO DE CABRAS CANINDÉ EXPLORADAS NA REGIÃO SEMIÁRIDA DO NORDESTE DO BRASIL**

*[Effect of Estrus Synchronization with double injection of PGF 2 $\alpha$  (D-Cloprostenol) of Canindé goats raised in the Semiarid Zone of Northeastern Brazil]*

**Rizya Valéria da Silva Oliveira<sup>1\*</sup>, Ana Carolina Guimarães Teixeira<sup>1</sup>, Clarisse Caroline de Oliveira e Silva<sup>1</sup>, Thayane Dayse Rodrigues da Cunha<sup>1</sup>, Aline Martins Rosendo<sup>1</sup>, Aracely Rafaelle Fernandes Ricarte<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>UFERSA/Mossoró. \*Autor para correspondência. E-mail: rizya\_valeria@hotmail.com.

**ABSTRACT:** The present study aimed to evaluate the effect of double application of PGF2 $\alpha$ , interval of seven days to induction estrus of goats Canindé. Eight goats cyclic Canindé were subjected to two applications of PGF2 $\alpha$  intramuscularly at day zero the first seven days following the second being. It was observed that 62.5% of goats showed signs of estrus after the second application of PGF2 $\alpha$  and the time of appearance of these signals was variable among females, a time of 0,5 to 4 days has been observed. Based on these results it was concluded that the use of treatment induction of estrus of goats Canindé using PGF2 $\alpha$  in two doses interspersed by seven days is technically feasible.

**Keywords:** estrus; goats; prostaglandin; reproduction.

**Palavras-Chave:** estro; caprinos; prostaglandina; reprodução.

### **INTRODUÇÃO**

O estudo de técnicas que auxiliem na reprodução dos rebanhos de caprinos nativos é imprescindível para o melhor aproveitamento do potencial genético destes animais.

A indução de estro em fêmeas caprinas é empregada para que um grande número de fêmeas sejam fecundadas em um curto período de tempo, possibilitando aos produtores programar o nascimento das crias para épocas mais favoráveis do ano, planejar o manejo alimentar e formar lotes uniformes (Nogueira et al., 2009).

O estro de fêmeas caprinas pode ser eficientemente induzido com o uso de análogos da PGF2 $\alpha$  (d-cloprostenol) em dose única ou em duas doses intervaladas de dez a onze dias. No entanto, a redução do intervalo entre aplicações de PGF2 $\alpha$  para sete dias tem se apresentado viável, sobretudo por permitir uma sincronização das ovulações (Sousa et al., 2012). Sendo assim, o objetivo do presente estudo foi de avaliar o efeito da aplicação de PGF2 $\alpha$ , com um intervalo de sete dias, para sincronizar o estro e avaliar o desempenho reprodutivo de cabras Canindé.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

O experimento foi desenvolvido em fevereiro de 2014, no Setor de Caprinocultura da Universidade Federal Rural do Semiárido, no município de Mossoró, Rio Grande do Norte, localizado a uma latitude de 05° 11' 15" S, longitude de 37° 20' 39" O, altitude de 16 metros e média pluviométrica anual de 685,15 mm (IBGE, 2010).

Foram utilizadas oito cabras da raça Canindé, cíclicas, com peso médio de 32 Kg. As fêmeas foram submetidas a duas aplicações de 0,8mL de PGF2 $\alpha$  (d-Cloprostenol) por via intramuscular, sendo a primeira no dia zero e a segunda sete dias depois. Dois dias antes e cinco dias após a segunda aplicação, um macho foi utilizado para identificar as fêmeas em estro, pela manhã e à tarde, para posterior cobertura. A fêmea foi considerada em estro pelo reflexo de imobilidade em relação à monta pelo macho, frequência de micção e de vocalização.

A análise estatística foi realizada através do programa SAS "Software Analysis System". Os dados encontrados foram expressos em média e desvio padrão e foram submetidos à ANOVA e

teste t de Student, sendo considerado significativo quando  $P < 0,05$ .

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Cerca de 62,5% das cabras Canindé apresentaram sinais de estro, 37,5% não demonstraram nenhum sinal comportamental de estro até o quinto dia após a aplicação da segunda dose. Esses achados foram inferiores aos encontrados por Sousa et al. (2012) que observaram uma taxa de 75% de cabras da raça Moxotó com sinais de estro após a segunda aplicação da PGF2 $\alpha$  e muito próximos aos encontrados por Nogueira et al. (2009) que foi de 65% para cabras ½ Boer/SRD.

O tempo de aparecimento dos sinais de estro variou entre as fêmeas, tendo sido observado intervalos de 0,5 dia para 12,5% dos animais, 1 dia para 25%, 2 dias para 12,5% e 4 dias nas outras 12,5%. Nos achados de Nogueira et al. (2009) o tempo médio de aparecimento do estro foi de cerca de um dia em cabras mestiças de Boer, porém, nos achados de Sousa et al. (2012) esse tempo subiu para 2, 3 e 4 dias em cabras Moxotó.

O sucesso deste protocolo de curta duração com dupla aplicação de PGF2 $\alpha$  com intervalo de sete dias pode ter ocorrido, devido ao fato de uma segunda dose de PGF2 $\alpha$ , aplicada sete dias após a primeira, coincidir com uma onda folicular em crescimento e os corpos lúteos formados há três a cinco dias já estarem responsivos à ação da PGF2 $\alpha$  (Rubianes et al., 2003)

### CONCLUSÕES

A utilização do tratamento para a indução do estro de cabras Canindé com o uso de PGF2 $\alpha$  (d-cloprostenol) em duas doses intercaladas de sete dias apresentou-se como tecnicamente viável.

### AGRADECIMENTOS

Ao Banco do Nordeste (BNB) e ao Núcleo de Produção de Pequenos Ruminantes da Universidade Federal do Semiárido (UFERSA) pela cessão e manutenção dos animais utilizados no experimento, à FAPERN pelo financiamento de parte do material da pesquisa e ao Laboratório de Conservação de Germoplasma Animal da UFERSA por fornecer suporte técnico.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Nogueira, D.M.; Lopes Júnior, E.S.; Sousa, P.H.F.; Carvalho Júnior, G.M. Efeito da Sincronização do Estro com Dupla Aplicação de D-Cloprostenol Associada ou não à ECG Sobre o Desempenho Reprodutivo de Cabras ½ Boer/SRD Exploradas na Região Semiárida do Nordeste do Brasil. *Ciência Animal Brasileira*, v. 10, n. 2, p. 618-626, abr./jun. 2009.

Rubianes, E.; Menchaca, A.; Carbajal, B. Response of the 1 to 5-day aged ovine corpus luteum to Prostaglandin F2 $\alpha$ . *Animal Reproduction Science*, v. 78, p. 47-55, 2003

Sousa, S. D.; Silva, N. M. M.; Santos, F. C. P.; Eloy, A. M. X. Avaliação da Sincronização de Estro com Protocolo Curto em Caprinos da Raça Moxotó. In: Encontro de Iniciação Científica da Universidade Estadual Vale do Acaraú, 2011, Sobral. Ciência, Cultura e Inovação: Desafios da Universidade Contemporânea. Sobral: UVA, 2012. 1 f. Acesso em: 30 jan. 2013. Disponível em: [http://www.uvanet.br/ini\\_cien/mostra\\_trabalho\\_vigente.php?id=490](http://www.uvanet.br/ini_cien/mostra_trabalho_vigente.php?id=490)>

## EFEITO DA BIÓPSIA DE GLÂNDULA MAMÁRIA SOBRE A PRODUÇÃO DE LEITE EM CABRAS CANINDÉ DURANTE LACTAÇÃO INDUZIDA

*[Effect of mammary gland biopsy on the milk production in Canindé goats during induced lactation]*

Amanda Albuquerque Rocha<sup>1\*</sup>, Francisco Carlos de Sousa<sup>1</sup>, Joanna Maria Gonçalves de Souza-Fabjan<sup>1</sup>, Luciana Magalhães Melo<sup>1</sup>, Vicente José de Figueirêdo Freitas<sup>1</sup>, Dárcio Ítalo Alves Teixeira<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Faculdade de Veterinária, Universidade Estadual do Ceará. \*Autor para correspondência. E-mail: verdenin@gmail.com

**ABSTRACT** - The aim of this study was to evaluate the mammary biopsy effect on milk production in goats, during induced lactation. Ten Canindé females were subjected to induced lactation and two mammary biopsy procedures. On Day 0 (D0) all goats were lactating, on D5 and D26, biopsy 1 was performed on right teat and biopsy 2 on left teat, respectively. The hormonal therapy used was 90% effective to induce lactogenesis. No differences ( $P > 0.05$ ) on milk production were observed on both biopsies at different moments examined. In conclusion, the milk production was not affected by mammary biopsy in Canindé goats during induced lactation.

**Keywords:** caprine; surgical biopsy; udder.

**Palavras-Chave:** caprino; biópsia cirúrgica; úbere.

### INTRODUÇÃO

Os caprinos naturalizados apresentam características peculiares como rusticidade e adaptabilidade. Além destas características a raça Canindé apresenta melhor capacidade leiteira (Mariante & De Bem, 1992). Para evitar o descarte de fêmeas com glândula mamária sadia e falhas reprodutivas, pode-se utilizar a indução hormonal da lactação. Além disso, o leite produzido não difere do leite do pós-parto (Mellado et al., 1996). A indução da lactação auxilia na elucidação dos fatores que controlam a proliferação e diferenciação do tecido mamário. Isto pode ser obtido em associação com a biópsia mamária, que tem sido utilizada em diferentes espécies, incluindo caprinos (Cvek et al., 1998). No entanto, é necessário investigar os efeitos desta técnica sobre a fisiologia da glândula. Assim, o objetivo do trabalho foi avaliar o efeito da biópsia mamária sobre a função produtiva da glândula de cabras Canindé durante lactação induzida.

### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Fisiologia e Controle da Reprodução, da Universidade Estadual do Ceará. Foram utilizadas 10 cabras da raça Canindé, adultas, com peso médio de 32 Kg, criadas em sistema semi-intensivo. Para indução da lactação foi utilizado o protocolo de

Cammuso et al. (2000). Os animais foram submetidos à ordenha manual, higiênica. Foi registrado o volume de leite por teta, considerando Dia 0 (D0) o começo da lactação.

Em cada fêmea foram realizadas duas biópsias da glândula mamária, uma no D5 (Biópsia 1) na teta direita e outra no D26 (Biópsia 2) na teta esquerda, ambas após ordenha. A anestesia consistiu na aplicação IV de 0,1 mg/Kg de xilazina a 2% associado a 5 mg/Kg de quetamina a 10%. Uma incisão foi feita na região caudal à teta para colher um fragmento (0,5 cm<sup>3</sup>) e, em seguida, foi feita sutura com fio absorvível. Os animais receberam Terramicina, IM 20mg/kg, após o procedimento.

O volume de leite obtido de cada animal foi comparado em diferentes momentos (0 h – antes da biópsia), 24, 48 e 72 h pós-biópsia pelo teste de Kruskal-Wallis. Os dados foram expressos como média  $\pm$  EPM, sendo considerado significativo  $P < 0,05$ .

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

A terapia hormonal utilizada no presente estudo induziu a lactogênese em 90% das cabras, resultado similar aos 95% obtidos previamente em caprinos (Mellado et al., 1996). Em adição, a lactação iniciou no dia 17 do tratamento hormonal como esperado (Cammuso et al., 2000).

O procedimento de biópsia foi minimamente invasivo e apresentou duração média de 11,6 min. A produção total média de leite foi de 152,3; 119,1; 179,2 e 200,4mL às 0, 24, 48 e 72 h relativos à biópsia 1 e 209,0; 149,2; 210,5 e 206,3 nos mesmos momentos, em relação à biópsia 2. Todos esses

valores foram superiores aos encontrados em lactação hormonalmente induzida também na raça Canindé por Moura et al. (2013). O volume de leite obtido na teta direita e esquerda nos momentos 0, 24, 48 e 72 h referentes às biópsias 1 e 2 são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Produção de leite por teta, antes e após procedimento de biópsia em cabras Canindé durante lactação induzida.

Procedimento	Volume (mL) <sup>1</sup>				Valor de P
	0 h	24 h	48 h	72 h	
Biópsia 1 (Teta direita)	76,8 ± 18,1	43,3 ± 9,6	80,3 ± 17,6	98,8 ± 19,9	0,1402
Biópsia 2 (Teta esquerda)	110,7 ± 27,9	77,6 ± 20,5	110,05 ± 28,02	130,24 ± 28,15	0,5245

<sup>1</sup> Volume de leite é apresentado como média ± EPM. Teste de Kruskal-Wallis (P>0,05).

### CONCLUSÃO

A biópsia da glândula mamária não afetou a produção de leite em cabras Canindé durante a lactação induzida.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Cammuso, C.; Porter, C.; Nims, S.; Gaucher, D.; Melican, D.; Bombard, S.; Hawkins, N.; O'coin, A.; Ricci, C.; Brayman, C.; Buzzell, N.; Ziomek, C.; Gavin, W. Hormonal induced lactation in transgenic goats. *Animal Biotechnology*, v. 11(1), p.1-17, 2000.

Cvek, K.; Dahlborn, K.; Ridderstale, Y. Localization of carbonic anhydrase in the goat mammary gland during involution and lactogenesis. *Journal Dairy Scientific*. v.65, p.43-54, 1998.

Mariante, A. S.; De Bem, A. R. Animal genetic resources conservation program in Brasil. *Animal Genetic Resource Information*, v.10, p.9-32, 1992.

Mellado, M.; Bernal, A.; Mendoza, R.; Carrillo, E. Hormonal induction of lactation in prepuberal and multiparous crossbred goats kept under extensive conditions. *Small Ruminant Research*. v.19, p. 143-147, 1996.

Moura, R. R.; Albuquerque, E. S.; Melo, C. H. S.; Alcântara-Neto, A. S.; Batista, R. I. T. P.; Nunes-Pinheiro, D. C. S.; Pereira, A. F.; Teixeira, D. I. A.; Melo, L. M.; Serova, I. A.; Andreeva, L. E.; Serov, O. L.; Freitas, V. J. F. Dynamics of recombinant hG-CSF in transgenic goat: preliminary study in the founder during hormonally induced lactation. *Animal Biotechnology*, v.24, p. 10-14, 2013.

## EFEITO DA INIBIÇÃO DA ENZIMA CONVERSORA DE ANGIOTENSINA (ECA) ASSOCIADO A UM PROTOCOLO DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL SOBRE A FERTILIDADE DE CABRAS SPRD

*[Effect of inhibition of Angiotensin Converting Enzyme (ACE) associated with a protocol of artificial insemination about the fertility of goats SPRD]*

Sávio Ruan Sampaio de Sousa\*, Martins Neto Bueno, Ícaro Oliveira Torres de Sousa, Antônio de Sousa Júnior, Amilton de Paulo Raposo Costa, José Adalmir Torres de Souza

UFPI. \*Autor para correspondência. E-mail: savio.ruan@hotmail.com

**ABSTRACT** - The use of enalapril associated with protocols of estrus synchronization in goats has demonstrated improvements in reproductive efficiency when used during all the protocol, being it is impracticable your use in the field in these conditions. Therefore, the aim of this study was to evaluate the effect of enalapril in single dose on the rate of pregnancy, farrowing and prolificacy of goats undergoing artificial insemination. 94 goats were divided into three groups, submitted to synchronization estrus for 12 days with sponge intravaginal and application of enalapril via intravaginal or subcutaneous in tenth day. Statistical analysis was performed using program SAS version 9.0 to 5% significance. There was no difference significant between the pregnancy rate, farrowing and prolificacy among groups.

**Keywords:** enalapril; artificial insemination; goats.

**Palavras-Chave:** enalapril; inseminação artificial; cabras.

### INTRODUÇÃO

No intuito de melhorar os índices reprodutivos em espécies de interesse econômico, o maleato de enalapril surge como uma boa ferramenta no incremento das técnicas reprodutivas, por inibir a Enzima Conversora de Angiotensina (ECA) e, consequentemente, a produção de Angiotensina II (Ang II), evidenciando a produção de outros peptídeos do Sistema Renina Angiotensina Ovariano (SRAo), como a Angiotensina-(1-7), vindo a favorecer a eficiência reprodutiva (Costa et al., 2003). O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da inibição da Enzima Conversora de Angiotensina (ECA) utilizando maleato de enalapril em dose única, associado a um protocolo de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) sobre a fertilidade de cabras sem padrão racial definido (SPRD).

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram selecionadas 94 fêmeas com base no histórico reprodutivo e sanitário favoráveis, submetidas à sincronização do estro (DO) com esponjas intravaginais (Progespon®, Syntex,

Argentina) impregnadas com 60 mg de medroxiprogesterona- MAP, por 12 dias (D12), com aplicação intramuscular de 300 UI de Gonadotrofina Coriônica equina - eCG (Novormon®, Sintex, Argentina) e 75µg de Cloprostenol Sódico -PGF2α (Prolise®, Tecnopec, Brasil) no décimo dia de tratamento (D10).

Os animais foram divididos aleatoriamente em três grupos experimentais: G1 (n=30), receberam “óvulos” intravaginais contendo 60 mg de enalapril no D10; G2 (n=30), receberam por via subcutânea 3,0 mL de suspensão de enalapril em óleo na concentração de 20 mg/ml no D10 e G3 (n=34), controle, submetido à sincronização do estro sem tratamento de efeito placebo.

Foram realizadas duas inseminações utilizando sêmen fresco de dois reprodutores de fertilidade comprovada, diluído em Água de Coco *in natura* (1:9; sêmen:diluidor), sendo a primeira realizada 36 horas após a retirada das esponjas (dose=0,5 mL) e a segunda 12 horas após a primeira (dose=0,25 mL). O diagnóstico de gestação foi realizado via transretal, aos 35 dias, utilizando um aparelho ALOKA SSD 500 acoplado a um transdutor transretal linear de 5,0 MHz. Foi realizado o teste

Qui-Quadrado ( $\chi^2$ ) para as taxas de prenhez e taxa de parição e a prolificidade foi submetida ao teste de Tukey para verificar diferença entre as médias. Os dados foram analisados através do programa SAS versão 9.0 a 5% de significância ( $P < 0,05$ ).

### RESULTADO E DISCUSSÃO

Não houve diferença entre os tratamentos quanto aos parâmetros analisados (Tabela-1). A taxa geral de prenhez foi maior que as taxas encontradas por Holtza et al. (2008) ao utilizar protocolo com esponja (50%) e Ovsynch (58%), enquanto a taxa geral de parição situa-se na margem reatada pelos mesmos autores, que foi de 58 e 46% para os tratamentos Ovsynch e esponja, respectivamente. A

prolificidade do grupo enalapril intravaginal foi maior que a encontrada por Fernandes Neto (2012), ao administrar 120 mg de enalapril diluído em salina, por via subcutânea em dosagens crescentes durante onze dias de tratamento, com prolificidade de  $1,57 \pm 0,81$ . Os resultados do presente estudo apontam para uma melhoria da eficiência reprodutiva com o uso de maleato de enalapril, entretanto são necessários outros estudos para se determinar a dosagem e a via de aplicação mais eficaz. Uma vez que estudos anteriores mostraram que a Ang (1-7) tem efeitos positivos no desempenho reprodutivo, atuando no aumento da produção de estradiol ou no fluxo de sangue para o útero e ovário ou por outro mecanismo ainda desconhecido.

Tabela 1. Parâmetros reprodutivos de cabras submetidas ou não ao tratamento com maleato de enalapril durante protocolo de IATF.

	Enal. Intravaginal (G1)	Enal. Subcutâneo (G2)	Controle (G3)
Prenhez aos 35 dias (%)	73,33 (22/30)	70,00 (21/30)	70,59 (24/34)
Parição (%)	60,00 (18/30)	53,33 (16/30)	52,94 (18/34)
Prolificidade	$1,78 \pm 1,0$ (32/18)	$1,56 \pm 0,63$ (25/16)	$1,50 \pm 0,62$ (27/18)

\*Não houve diferença entre os tratamentos para as variáveis analisadas.

### CONCLUSÃO

A utilização de maleato de enalapril em dose única não apresenta efeito favorável sobre os parâmetros reprodutivos avaliados quando utilizadas as dosagens e formas de administração expressas no presente trabalho.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Costa, A.P.; Fagundes-Moura, C.R.; Pereira, V.M.; Silva, L.F.; Vieira, M.A.; Santos, R.A.; Dos Reis, A.M. Angiotensin-(1-7): a novel peptide in the ovary. *Endocrinology*, v.144, n.5, p.1942-1948, 2003.

Fernandes Neto Vp. *Efeito da Inibição da enzima conversora de angiotensina em protocolo de inseminação artificial em tempo fixo em cabras (Capra aegagrus hircus, LINNAEUS, 1758)*. 2012. 55p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal). Universidade Federal do Piauí.

Holtza, W.; Sohnrey, A. B.; Gerlanda, M.; Driancourt, M.A. Ovsynch synchronization and fixed-time insemination in goats. *Theriogenology*, V. 69, p. 785–792, 2008.

## **EFEITO DA SOMATOTROPINA BOVINA RECOMBINANTE (RBST) EM UM PROTOCOLO DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO (IATF) EM CABRAS**

*[Effect of recombinant bovine somatotropin (rbST) in a Fixed Time Artificial insemination (FTAI) protocol in goat]*

**Silvana Benvindo Ferreira<sup>1</sup>, José Adalmir Torres de Souza<sup>1</sup>, Lauro César Soares Feitosa<sup>1</sup>, Glayde Maria Carvalho Veras<sup>2</sup>, Marlon de Araújo Castelo Branco<sup>1</sup>, Weverton Lopes da Silva<sup>3\*</sup>**

<sup>1</sup> UFPI – Teresina, PI.

<sup>2</sup> IFMA – Codó, MA.

<sup>3</sup> UFPI – CPCE- Bom Jesus, PI. \* Autor para correspondência: E-mail: siluanabf@hotmail.com.

**ABSTRACT** – The objective of this study was to evaluate the association of rbST to a FTAI protocol on pregnancy rate of goats SPRD. A total of goats were used for the estrus synchronization protocol, intravaginal sponges impregnated with 60 mg medroxyprogesterone were inserted for 11 days. In D6, animals were divided into two groups: GI (n = 42) received 250 mg of rbST in a single dose, and G-II (n = 41) received saline solution (control). At D9 all females received 300 IU of eCG and 75µg-PGF2α. In D11 sponges were removed and after approximately 36 ± 2 hours inseminations were performed. Pregnancy rate did not differ between groups : GI - 57.14% and GII 56.09% (P<0.05). We concluded that rbST did not promote improvement in pregnancy rates in goats.

**Keywords:** goat; fertility; somatotropin; insemination.

**Palavras-Chave:** cabra; fertilidade; somatotropina; inseminação.

### **INTRODUÇÃO**

A inseminação artificial em tempo fixo (IATF) precedida por protocolos de sincronização do estro vem sendo realizada com sucesso, pois permite uma previsão da manifestação do estro e ovulações e, portanto, o momento ideal de inseminação. Contudo, são grandes as variações na taxa de prenhez de animais inseminados. Além disso, é importante considerar as perdas econômicas oriundas do aborto e mortalidade embrionária, fatores que comprometem diretamente o desempenho reprodutivo nesses animais (Amorim et al. 2008). A somatotropina bovina recombinante (rbST) surge atualmente como uma ferramenta no incremento das técnicas reprodutivas.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da associação da somatotropina bovina recombinante (rbST) a um protocolo de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) sobre a taxa de prenhez de cabras Sem Padrão Racial Definido (SPRD).

### **MATERIAL E MÉTODOS**

Foram utilizadas 83 fêmeas adultas, selecionadas de acordo com o histórico reprodutivo e sanitário favoráveis. Como protocolo de sincronização do estro, no D0, foram inseridas esponjas intravaginais impregnadas com 60 mg de medroxiprogesterona, por um período de 11 dias. No D6, os animais foram divididos aleatoriamente em dois grupos experimentais: G-I (n=42) que recebeu por via subcutânea, em dose única, 250 mg de rbST, e G-II (n=41) que recebeu solução fisiológica (controle). No D9 todas as fêmeas receberam injeções intramusculares de 300 UI de Gonadotrofina Coriônica Equina-eCG e 75µg de Cloprostenol Sódico-PGF2α. No D11 as esponjas foram removidas e aproximadamente 36±2 horas depois as cabras foram inseminadas em tempo fixo por via transcervical. Utilizou-se sêmen congelado/descongelado, oriundo de um único reprodutor, selecionado por exame andrológico e registro de fertilidade comprovado. O diagnóstico de prenhez foi realizado por exame ultrassonográfico aos 30 e 45 dias após a IATF. Os dados referentes à taxa de prenhez foram avaliados

pelo teste  $\chi^2$  (Qui-quadrado). As diferenças foram consideradas significativas quando  $P < 0,05$ .

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da taxa de prenhez, sugerem que a utilização de rbST não promoveu melhoria nas taxas de prenhez, não havendo assim diferença estatística entre os grupos (Tab. 1). Esses resultados concordam com os obtidos por Amorim *et al.* (2008), que em cabras lactantes tratadas com quatro injeções de 250 mg de rbST aplicadas a cada 14 dias, associado à um protocolo de sincronização do estro, verificaram que a rbST não exerceu influência sobre a duração do estro, número de ovulações, tamanho dos folículos ovulatórios e taxa de prenhez. Já Carrillo *et al.* (2007) utilizando um protocolo de sincronização do estro em ovelhas, observaram que o tratamento

com rbST cinco dias antes da retirada do progestágeno aumentou a fertilidade e prolificidade, sendo que a elevação dos índices foram associados ao aumento das concentrações circulantes de IGF-I no período periovulatório.

O mecanismo pelo qual a rbST melhora a fertilidade e prolificidade não está claro, contudo, as evidências indicam que ele pode estar relacionado com os efeitos diretos e indiretos da somatotropina, através do Fator de Crescimento Semelhante a Insulina (IGF-I), durante a maturação de oócitos, fertilização e início do desenvolvimento embrionário (De La Sota *et al.*, 1993). Observa-se, ainda variações entre espécie, dose de rbST, posologia e o momento da aplicação, são indicativos da necessidade de que outros estudos sejam realizados.

Tabela 1. Número de animais e taxas de gestação em cabras SPRD, tratadas ou não com r-bST (250mg), cinco dias antes da retirada do progestágeno.

Tratamentos	N	Taxa de Gestação
Grupo I (250 mg r-bST)	42	57,14 (24/42) <sup>a</sup>
Grupo III (Controle)	41	56,09 (23/41) <sup>a</sup>

\* Não houve diferença significativa entre os tratamentos ( $P > 0,05$ ) pelo teste Qui-quadrado.

### CONCLUSÃO

A taxa de prenhez não foi influenciada pela rbST (250mg), em aplicação única, cinco dias antes da retirada do progestágeno em cabras SPRD.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Amorim, E.A.M.; Torres, C.A.A.; Fonseca, J.F.; Amorim, L.S.; Maffili, V.V.; Bruschi, J.H.; Guimarães, J.D.; Cecon, P.R.; Alves, N.G. Sincronização de estro com CIDR reutilizado em cabras lactantes da raça Toggenburg tratadas com somatotropina bovina recombinante (r-bST). *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.60, n.1, p.51-57, 2008.

Carrillo, F.; Hernandez-Ceron, J.; Orozco, V.; Hernandez, J.A.; Gutierrez, C.G. A single dose of bovine somatotropin 5 days before the end of progestin-based estrous synchronization increases prolificacy in sheep. *Animal Reproduction Science*, v.102, p. 31-37, 2007.

De La Sota, R. L.; Lucy, M. C.; Staples, C. R. et al. Effect of recombinant bovine somatotropin (somatotribove) on ovarian function in lactating and nonlactating cows. *Journal of Dairy Science*, v.76, p.1002-1013, 1993.



## EFEITO DO ENALAPRIL E DO HORÁRIO DE INSEMINAÇÃO SOBRE TAXA DE PREENHIZ DE CABRAS SUBMETIDAS À INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO

*[Effect of enalapril and moment of insemination in the pregnancy rate of goats submitted to Fixed Time Artificial insemination.]*

Karoline Figueredo Rodrigues<sup>1\*</sup>, Martins Neto Bueno<sup>1</sup>, Ícaro Oliveira torres de Souza<sup>1</sup>, Antônio de Sousa Júnior<sup>1</sup>, José Adalmir Torres de Souza<sup>1</sup>, Amilton Paulo Raposo Costa<sup>1</sup>

<sup>1</sup> UFPL. \*Autor para correspondência. E-mail: karol-figueredo@hotmail.com.

**ABSTRACT** - Artificial insemination in goats is not yet widespread due to the complex ovulatory physiology, which hinders the synchronize estrus. Thus, enalapril associated with estrus synchronization treatments has been investigated to improve the reproductive index. The objective was to evaluate the effect of time of insemination about the site of semen deposition and of the enalapril in the pregnancy rate of goats submitted to artificial insemination. 94 goats were divided into three groups, submitted to synchronization estrus for 12 days with sponge intravaginal and application of enalapril via intravaginal or subcutaneous in tenth day. Statistical analysis was performed using program SAS version 9.0 to 5% significance. Enalapril intravaginally promoted greater percentage of intrauterine inseminations 36 hours after sponge removal without increasing the pregnancy rate.

**Keywords:** enalapril; artificial insemination; goats.

**Palavras-Chave:** enalapril; inseminação artificial; cabras.

### INTRODUÇÃO

No intuito de melhorar os índices reprodutivos em espécies de interesse econômico, o maleato de enalapril surge como uma boa ferramenta no incremento das biotécnicas reprodutivas, por inibir a Enzima Conversora de Angiotensina (ECA) e, conseqüentemente, Angiotensina II (Ang II), evidenciando a produção de outros peptídeos do Sistema Renina Angiotensina Ovariano (SRAo), como a Angiotensina-(1-7), vindo a favorecer a eficiência reprodutiva (Costa et al., 2003). Entretanto, necessita-se do desenvolvimento de formulações que viabilizem sua utilização a campo, pois quando utilizado associado a protocolos de sincronização do estro e da ovulação por um período de onze dias vem demonstrando aumentar o desempenho reprodutivo na espécie caprina.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do tratamento com enalapril durante a sincronização do estro e do horário de inseminação sobre o local de deposição do sêmen e a taxa de prenhez de cabras submetidas à inseminação artificial em tempo fixo

### MATERIAL E MÉTODOS

Um total de 94 cabras foi submetido à sincronização do estro (D0) com esponjas intravaginais (Progespon®, Syntex, Argentina) impregnadas com 60 mg de medroxiprogesterona-MAP, por um período de 12 dias, com aplicação intramuscular de 300 UI de Gonadotrofina Coriônica equina - eCG (Novormon®, Sintex, Argentina) e 75µg de Cloprostenol Sódico -PGF2α (Prolise®, Tecnopec, Brasil) no décimo dia de tratamento (D10). As cabras foram divididas em três grupos: G1 (n=30), receberam “óvulos” intravaginais contendo 60 mg de enalapril; G2 (n=30), receberam por via subcutânea 3,0 mL de suspensão de enalapril em óleo na concentração de 20 mg/ml e G3 (n=34), controle, submetido à sincronização do estro sem tratamento de efeito placebo.

Foram realizadas duas inseminações utilizando sêmen fresco proveniente de dois reprodutores de fertilidade comprovada, diluído em *Água de Coco*, sendo a primeira realizada 36 horas após a retirada das esponjas (dose=0,5 mL) e a segunda 12 horas após a primeira inseminação (dose=0,25 ml). O

diagnóstico de gestação foi realizado via transretal, aos 35 dias, utilizando aparelho ALOKA SSD 500 acoplado a um transdutor transretal linear de 5,0 MHz. Os dados foram analisados através do programa SAS versão 9.0 a 5% de significância ( $P < 0,05$ ). Foi realizado o teste Qui-Quadrado ( $\chi^2$ ) para o local de deposição do sêmen e taxa de prenhez.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Às 36 horas após a retirada das esponjas foi observada maior percentagem de inseminações intrauterinas (IU) no grupo que recebeu enalapril

intravaginal ( $P < 0,05$ ), o que não foi observado às 48 horas (Tabela-1), pois o efeito direto da Ang-(1-7), através do seu receptor específico (MAS) ou interagindo fracamente com os receptores para Ang II, aumenta produção de estrógeno (Viana, 2005), que atua na dilatação cervical. Assim, a realização da dupla inseminação foi responsável pela falta de diferença entre os tratamentos quanto à taxa de prenhez, que foi maior que a relatada por Fernandes Neto (2012) que ao administrar 120 mg de enalapril diluído em salina, por via subcutânea em dosagens crescentes durante onze dias de tratamento, relatou 62,86% .

Tabela 1. Local de deposição do sêmen e taxa de prenhez de cabras submetidas ou não a tratamento com enalapril durante a sincronização do estro.

Grupos	36 horas		48 horas		Taxa de prenhez (%)
	IA Cervical	IA intrauterina	IA Cervical	IA intrauterina	
Controle	91,18 <sup>a</sup> (31/34)	8,82 <sup>a</sup> (3/34)	44,12 (15/34)	55,88 (19/34)	70,59 (24/34)
Enal. subcutân.	93,33 <sup>a</sup> (28/30)	6,67 <sup>a</sup> (2/30)	53,33 (16/30)	46,67 (14/30)	70,00 (21/30)
Enal. Intravag.	56,67 <sup>b</sup> (17/30)	43,33 <sup>b</sup> (13/30)	43,33 (13/30)	56,67 (17/30)	73,33 (22/30)

<sup>a,b</sup> Valores seguidos de letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem entre si ( $X^2$ ,  $P < 0,05$ )

## CONCLUSÃO

O enalapril, administrado pela via intravaginal, proporcionou maior percentagem de IA intrauterina às 36 horas sem aumentar a taxa de prenhez das cabras.

## REFERÊNCIAS

Costa, A.P.; Fagundes-Moura, C.R.; Pereira, V.M.; Silva, L.F.; Vieira, M.A.; Santos, R.A.; Dos Reis, A.M. Angiotensin-(1-7): a

novel peptide in the ovary. *Endocrinology*, v.144, n.5, p.1942-1948, 2003.

Fernandes Neto Vp. *Efeito da Inibição da enzima conversora de angiotensina em protocolo de inseminação artificial em tempo fixo em cabras (Capra aegagrus hircus, LINNAEUS, 1758)*. 2012. 55p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal). Universidade Federal do Piauí.

Viana Gen. *Angiotensina-(1-7) em ovários de coelha: efeitos sobre a esteroidogênese e ovulação*. 2005. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas – Fisiologia), Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

## EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO COM CAROÇO DE ALGODÃO SOBRE O DESENVOLVIMENTO FETAL EM CABRAS PRENHES

[Effects of supplementation with cottonseed on fetal development in pregnant goats]

Lamartine José Brito Medeiros\*<sup>1</sup>, Verônica Medeiros da Trindade<sup>1</sup>, Pablo da Costa Sousa<sup>1</sup>, Ramon Tadeu Galvão Alves Rodrigues<sup>1</sup>

<sup>1</sup> UFCG. \*Autor para correspondência. E-mail: lamartinevet01@gmail.com.

**ABSTRACT** - The cottonseed is used in the diet of animals for milk production, this product is responsible for causing reproductive problems. A property in Santa Terezinha-PB, goats was borned with anatomical malformations, these goats were fed during gestation with cottonseed and black jurema, thereafter it was decided to investigate whether this could have been the cause of reproductive problems on property. Given the above, the study used six female goats divided into two groups of three animals (G1, G2), plus a male. The animals of G1 were supplemented with cottonseed in the proportion of 1.5% of body weight from the confirmation of pregnancy, 18 days, until the birth took place. The G2 received feeding roughage and concentrate in the ratio of 1.5%. The goats of the G1 and G2 showed no reproductive problems throughout pregnancy, the offspring of both groups was born healthy and had no problems malformation.

**Keywords:** goats; gestation; malformations.

**Palavras-Chave:** cabras; gestação; malformações.

### INTRODUÇÃO

Muitos criadores adotam medidas de manejo alimentar que comprometem a reprodução do rebanho. Em relação a estes acontecimentos, pesquisadores têm procurado esclarecer quais os tipos de plantas que afetam o desempenho desses animais.

No nordeste duas plantas são conhecidas por afetar a reprodução dos animais de produção, que são: a *Aspidosperma pyrifolium* (pereiro) e a *Mimosa tenuiflora* (jurema preta) (Dantas et al., 2010).

O caroço de algodão é um alimento com moderado nível de proteína, alta gordura, fibra e energia, além disso, sua alta disponibilidade no mercado produtor, seu alto valor energético e o baixo preço, têm estimulado pecuaristas a adotarem sua utilização na alimentação animal. Apesar de tantas vantagens o caroço de algodão apresenta o gossipol, um pigmento fenólico de coloração amarelada, que afeta o sistema reprodutor dos animais de produção (Gadelha et al., 2011).

Numa propriedade localizada no município de Santa Terezinha-PB nasceram inúmeros cabritos com malformações anatômicas. Durante o período de gestação as cabras foram alimentadas com

caroço de algodão e pastagem nativa, contendo um número considerável de *Mimosa tenuiflora* (jurema preta). Tendo em vista que na propriedade nunca havia aparecido malformações em cabritos e que na fazenda vizinha as fêmeas pariram sem apresentar problemas reprodutivos, e sendo a primeira vez que se introduziu caroço de algodão na alimentação das fêmeas gestantes, atribuiu-se o problema à utilização do caroço de algodão na alimentação das cabras gestantes. Assim, este trabalho teve como objetivo verificar os efeitos da suplementação com caroço de algodão durante a gestação, sobre as características anatômicas dos fetos e desempenho reprodutivo das matrizes.

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 07 caprinos das raças Saanen e Parda Alpina da fazenda Santo Estevão localizada no município de Santa Terezinha, Paraíba, em idade reprodutiva, sendo seis fêmeas e um macho. As fêmeas foram divididas em dois grupos contendo três animais cada (G1 e G2). Os animais foram submetidos a um período de adaptação de 15 dias e após este, as cabras foram submetidas à sincronização do estro e colocadas com o reprodutor, que teve a região abdominal ventral marcada com tinta xadrez vermelha, com a finalidade de identificar as cabras que foram

cobertas. O diagnóstico de prenhez foi realizado por ultrassonografia, 15 a 18 dias após o acasalamento.

A partir da confirmação da prenhez um grupo foi suplementado diariamente com caroço de algodão na proporção de 1,5% do seu peso corporal (G1), e o segundo grupo (G2) foi alimentado somente com volumoso e concentrado na proporção de 1,5% do seu peso. Todos os animais tiveram acesso à pastagem nativa, sem a presença de jurema, além de água a vontade.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

A taxa de prenhez foi de 100% em ambos os grupos, provavelmente devido a realização do procedimento para sincronização do cio, pois em estudos realizados por Maia Junior et al. (2009), com cabras leiteiras, o índice de gestação foi de 95%. A gestação dos animais foi confirmada e acompanhada através de exames de ultrassonografia, realizados a cada 30 dias. Durante a realização dos exames, não foi identificado nenhum problema nem com os fetos nem com a mãe.

As cabras que foram suplementadas com o caroço de algodão (G1) não apresentaram nenhum problema reprodutivo nem com elas nem com suas

crias, que nasceram no tempo previsto de gestação (150 dias), sendo visto, nessas cabras apenas um crescimento da mama. A progênie das cabras do grupo controle também nasceu saudável e não apresentaram problemas de malformação.

### CONCLUSÕES

Apesar dos animais utilizados na pesquisa não terem apresentado nenhum problema reprodutivo causado pelo caroço de algodão, os resultados deste estudo demonstram a necessidade da realização de outras pesquisas em relação ao tema, já que este produto é bastante utilizado na suplementação de animais de produção.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Dantas, A.F.M; Riet-Correa, F; Medeiros, R.M.T; Galiza, G.J.N; Pimentel, L.A; Anjos, B.L; Mota, R.A. Malformações congênitas em ruminantes no semiárido do Nordeste Brasileiro. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.30, n.10, p.807-815, 2010.

Gadelha, I.C.N; Rangel, A.H.N; Silva, A.R; Soto-Blanco, B. Efeitos do gossipol na reprodução animal. *Acta Veterinaria Brasilica*, v.5, n.2, p.129-135, 2011.

Maia Júnior, A; Araújo, A.A; Salles, M.G.F. Indução e sincronização do estro e da ovulação em cabras leiteiras saanen com uso de dispositivos vaginais associados ou não à ECG ou efeito macho. *Acta Veterinaria Brasilica*, v.3, n.4, p. 157-162, 2009.

# ÍNDICES REPRODUTIVOS DA RAÇA ANGLO-NUBIANA MANEJADA COM ESTAÇÃO DE MONTA EM DIFERENTES ÉPOCAS DO ANO, NO PIAUÍ

[Reproductive rates of Anglonubian race managed with breeding seasons at different times of the year, in Piauí]

Pâmela Christina Magalhães<sup>1\*</sup>, Pollyana Oliveira da Silva<sup>1</sup>, Felipe Pereira da Silva Barçante<sup>1</sup>, Naylene Carvalho Sales da Silva<sup>1</sup>, José Elivalto Guimarães Campelo<sup>1</sup>, José Adalmir Torres de Souza<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal do Piauí, Teresina, PI, Brasil. \*Autor para correspondência: pamelavetzoo@hotmail.com.

**ABSTRACT** - The research was conducted at the Division of Goat UFPI, located in Teresina, with headquarters managed under a semi-intensive system. The ewes were divided into two groups and submitted to the breeding season at different times of the year, controlled ride. Confirmation of pregnancy was made by ultrasonography 30 days after the breeding season. The serological test for leptospirosis, toxoplasmosis, brucellosis and neosporosis. The data were submitted to descriptive analysis of frequency, considering the body condition and age of mother and positive serology for reproductive pathologies. The rate of coverage of more than 90 % in both seasons, showed no influence of photoperiodicity and body condition. There was a higher frequency of animals positive for toxoplasmosis, leptospirosis and not followed by positive animal was found to brucellosis and neosporosis in isolation, but other associated pathology analyzed. It is recommended breeding seasons throughout the year with Anglo-nubian breed.

**Keywords:** breeding season; reproduction; photoperiodicity.

**Palavras-Chave:** estação de monta; reprodução; fotoperiodicidade.

## INTRODUÇÃO

A melhor época de parto para matrizes caprinas só é possível ser determinada na perspectiva de melhoria dos aspectos sanitários e insensibilidade a efeitos fotoperiódicos, cenário esse típico do Nordeste brasileiro. Com base nesse aspecto, a raça Anglo-nubiana vem sendo pesquisada com o objetivo de estimar seus índices reprodutivos, em diferentes épocas do ano, no estado do Piauí, através de taxas reprodutivas adquiridas com informações das estações de monta conduzidas no período seco e chuvoso.

## MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada com 63 animais da raça Anglo-nubiana criada em manejo semi-intensivo no Setor de Caprinocultura da UFPI, localizada em Teresina. O clima da região é o tropical seco, com precipitação pluviométrica distribuída em sua maioria de janeiro a maio. A temperatura média anual varia de 27 a 33°C, sendo mais elevada no segundo semestre do ano (período quente e seco).

As matrizes foram manejadas em pastagem nativa raleada em consorciação com gramíneas cultivadas

(prevalendo o capim *Andropogon - Andropogon gayanus*) e suplementadas com ração contendo 16% de proteína bruta, com fornecimento médio de 300g/animal, além de sal mineral e água *ad libitum*. Submetidas à duas Estação de monta, uma no período chuvoso (iniciada em outubro de 2009, utilizando-se 31 matrizes) constituindo o Grupo I e a outra no período seco (iniciada no mês de março de 2010, utilizando-se 32 matrizes) constituindo o Grupo II, com duração de 52 dias. O diagnóstico de gestação foi realizado por ultrassonografia - 30 dias após o fim da estação de monta. Entre as duas Estação de monta, foi realizado o teste sorológico para as patologias reprodutivas: Leptospirose, Toxoplasmose, Neosporose e Brucelose em todos os animais do rebanho.

Os dados foram submetidos à análise descritiva de frequência, considerando-se como fonte de variação a condição corporal, a idade da matriz e a ocorrência ou não de patologias reprodutivas.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao se considerar as Estações de monta em diferentes épocas do ano, os dados podem ser vistos numa perspectiva de considerar a raça Anglo-

nubiana adaptada às condições de manejo reprodutivo e/ou de ambiente da região, principalmente pelo fato de que as taxas reprodutivas mostraram-se aceitáveis tecnicamente. A taxa de cobertura foi superior a 90% nas duas épocas avaliadas, demonstrando assim não haver influência da fotoperiodicidade sobre a raça estudada, com repetição de estro de 35,48% no período seco e de 15,63% no período chuvoso, resultando em taxa de gestação de 70,97% e de 75%, respectivamente.

Ao se analisar a influência da condição corporal das matrizes, constatou-se que os animais com escore superior a 2,5, dentro da faixa considerada adequada para reprodução (Machado et al., 2008), apresentaram taxa de cobertura e de repetição de estro de 70 e 30%, respectivamente, e taxa de gestação de 70%, percentual que foi inferior ao observado para os animais com escore inferior a 2,5 (78,26%). Por sua vez, nesse grupo as taxas de cobertura e de repetição de cios foram 82,61 e 17,39%, respectivamente. Tais resultados permitem inferir que não foi a condição corporal que levou os animais a uma nova cobertura e à diminuição da taxa de gestação. Os animais mais jovens apresentaram taxas relativamente melhores que os animais com idade superior a 5 anos, 75,76% e

70% respectivamente, portanto indicando pequena influência do fator idade. A maior frequência de animais soropositivos foi para Toxoplasmose, seguido de Leptospirose, porém, com proporção similar de repetição de estro e maior taxa de gestação entre as cabras com Leptospirose. Não foi constatado animal positivo para Brucelose e os animais positivos para Neosporose estavam associadas às demais patologias reprodutivas analisadas. Os animais mostraram-se assintomático para todas as patologias e uma matriz do Grupo I abortou, mas a mesma não apresentou sorologia positiva para as patologias testadas

### **CONCLUSÃO**

A raça Anglo-nubiana não apresenta estacionalidade, sendo recomendada estações de monta ao longo do ano na região. Não foi possível associar a ocorrência de abortos com as patologias estudadas.

### **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- Machado, R. Corrêa, R.F. Barbosa, R.T. Bergamaschi, M.A.C.M. Escore da condição corporal e sua aplicação no manejo reprodutivo de ruminantes. *Circular Técnica*, 57. Embrapa Pecuária Sudeste: São Carlos, SP, 16p, 2008.

## INFLUÊNCIA DA APLICAÇÃO DE TESTOSTERONA BIOIDÊNTICA POR VIA TRANSDÉRMICA ESCROTAL SOBRE OS NÍVEIS HORMONAIS E LIBIDO EM CAPRINOS

*[Influence of bioidentical testosterone transdermal scrotal on hormone levels and libido in goats]*

Talita Soares Câmara<sup>1\*</sup>, Leonardo Rodrigues Cabral<sup>1</sup>, Priscila Palácio de Queiroz Farias<sup>1</sup>, Bruna Farias Brito<sup>1</sup>, Ana Gláudia Vasconcelos Catunda<sup>2</sup>, José Ferreira Nunes<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Estadual do Ceará - UECE. \* Autor para correspondência. E-mail: talitavet2003@gmail.com.

<sup>2</sup> Rede Nordeste de Biotecnologia – RENORBIO.

**ABSTRACT** - The aim of this study was to evaluate the effect the scrotal transdermal application of bioidentical testosterone in goats on sexual behavior and concentrations of testosterone, follicle stimulating hormone (FSH) and luteinizing hormone (LH) for the treatment of reproductive unable to reproduction. Four male goats (Saanen=3 and Anglo Nubian =1), with low libido were used. The application of bioidentical testosterone was carried out weekly over two months, as well as assessment of sexual behavior by testing libido and blood samples for determine the serum concentrations of testosterone, FSH and LH. Significant differences on serum testosterone was observed according the treatment period, however, no significant difference was found for serum FSH, LH. It was concluded that the absorption of bioidentical testosterone transdermal scrotal was effective in raising goats serum concentrations of testosterone and libido becoming acceptable.

**Keywords:** hormones; libido; goat.

**Palavras-Chave:** hormônios; libido; bode.

### INTRODUÇÃO

A testosterona é o hormônio reprodutivo de maior predominância no macho, sendo essencial às funções reprodutivas destes animais, de modo que animais com baixa testosteronemia terão pouca expressão da libido (Bearden & Fuquay, 1997). Em virtude disso, o presente estudo teve como objetivo avaliar a aplicação de testosterona bioidêntica por via transdérmica escrotal, nas concentrações hormonais e libido em caprinos.

### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no período de julho a setembro de 2012, no município de Pacatuba-CE (3°53'49,9''S e 38°34'32,5''W). Foram utilizados quatro caprinos, (Saanen=3 e Anglo Nubiano =1), com idade média de 4,5 anos. Uma vez por semana, realizou-se a avaliação da libido cronometrando-se o tempo de monta (TM). A aplicação da testosterona bioidêntica, (Evidence – Farmácia com manipulação, Fortaleza/CE), foi realizada diariamente, pela manhã, diretamente na bolsa escrotal (após tricotomia e limpeza do local). As colheitas de sangue foram realizadas antes do início

das aplicações de testosterona bioidêntica (P0 - Período 0), e continuaram semanalmente, para acompanhar as concentrações séricas deste hormônio, além do FSH e LH. As amostras foram colhidas por venopunção da jugular, centrifugadas 2014G/15minutos e congeladas a - 20° C, até que se procedessem as análises.

As concentrações hormonais foram quantificadas pelo método de quimioluminescência, usando um sistema automatizado Abbott Architect i 2000sr (Abbott Diagnostics, Abbott Park, IL, USA), com kits ARCHITECT FSH, LH e Testosterona Reagentes. Para análise dos dados, as colheitas semanais foram agrupadas em três períodos de três colheitas consecutivas: P1 – 1ª à 3ª semana (julho), P2 – 4ª à 6ª semana (julho-agosto) e P3 – 7ª à 9ª semana (agosto-setembro).

Foi realizado um estudo de análise de variância pelo procedimento GLM do programa estatístico SAS (versão 8.0). As médias foram comparadas pelo teste *t-Student* com 5% de probabilidade de erro.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As concentrações séricas de testosterona dos animais entre os períodos do tratamento (P0, P1, P2 e P3) estão demonstrados na figura 1. Esses valores variaram significativamente ( $P < 0,05$ ) em função do período de tratamento, com aumento destas concentrações desde P0 até P2, com queda significativa da testosteronemia no P3. No que se refere às concentrações séricas médias de FSH ( $1,3 \pm 0,09$ ) e LH ( $1,5 \pm 0,11$ ), não foram observadas diferenças significativas ( $P > 0,05$ ) entre os

diferentes períodos de tratamento, com valores inferiores aos observados por Barkawi *et al.* (2006), que pode ser devido à diferença na técnica usada para determinação hormonal (Rojanasakul *et al.*, 1994). O tempo de monta (TM) foi outra variável que não apresentou diferença significativa entre os períodos avaliados, mas foi possível observar uma melhora deste parâmetro, já que no P3 a média do TM foi de  $76,78 \pm 17,11$ , tempo este considerado bom (60 a 120 segundos) de acordo com a classificação de Silva *et al.* (2006).

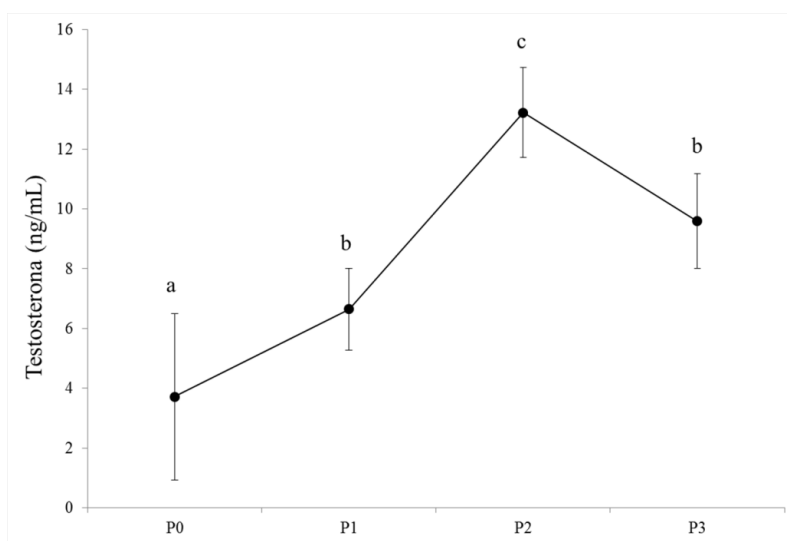


Figura 1. Níveis séricos de testosterona em caprinos tratados com testosterona biodêntica por via transdérmica escrotal ao longo do período de tratamento (P0, P1, P2 e P3). P0 - pré-coleta, P1 - 1ª a 3ª semana, P2 - 4ª a 6ª semana, P3 - 7ª a 9ª semanas de experimento. Letras distintas entre períodos diferem significativamente ( $P < 0,05$ ).

## CONCLUSÕES

O método de aplicação da testosterona biodêntica por via transdérmica foi eficiente para aumentar os níveis séricos de testosterona, tornando a libido aceitável para os animais do experimento.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Barkawi, A.H.; Elsayed, E.H.; Ashour, G.; Shehata, E. Seasonal changes in semen characteristics, hormonal profiles and testicular activity in Zaraibi goats. *Small Ruminant Research*, v. 66, p.209-213, 2006.

Bearden, H.J.; Fuquay, J. W. *Applied animal reproduction*. New Jersey: Prentice Hall, 1997.351p.

Rojanasakul, A., Udomsubpayakul, U., Chinsomboon, S. Chemiluminescence immunoassay versus radioimmunoassay for the measurement of reproductive hormones. *Jornal Internacional de Ginecologia e Obstetrícia*, v.45, p.141-146.1994.

Silva, E.M.N; Souza, B.B.; Silva, G.A; Cezar, M.F; Souza, W.H.; Benício, T.M.A.; Freitas, M. M. S. Avaliação da adaptabilidade de caprinos exóticos e nativos no semi-árido paraibano. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v.30, p.516-521, 2006. Avaliação da adaptabilidade de caprinos exóticos e nativos no semi-árido paraibano. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v.30, p.516-521, 2006.

Sas Institute. *SAS/STAT software*: version 8.0. Cary: Statistical Analysis System Institute, 2000.

Siyam T, Yuksel N. Beliefs about bioidentical hormone therapy: a cross-sectional survey of pharmacists. *Maturitas*. V. 74. P.196-202, 2013.



## PREVALÊNCIA E PERFIL DA MICROBIOTA BACTERIANA AUTÓCTONE DE VAGINAS DE CABRAS SADIAS

*[Prevalence and profile of autochthonous bacteria microbiota of healthy vaginas goats]*

**Júlia Caroline Paz dos Santos<sup>1\*</sup>, Sabrina Thabla Pereira Lopes<sup>1</sup>, Willames Costa Neves<sup>1</sup>, Isolda Marcia Rocha do Nascimento<sup>1</sup>, Maria José dos Santos Soares<sup>1</sup>, Ana Lys Bezerra Barradas Mineiro<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> UFPI/CCA. \*Autor para correspondência. E-mail: julia\_kroline@hotmail.com

**Abstract-** Reproductive infections on female goats can compromise fertility leading to low pregnancy rates and consequent productive losses for the sector. There are few studies that identify the composition and pathogenic potential of the autochthonous vaginal microbiota of goats. This study aimed to evaluate the prevalence and profile the aerobic and/or facultative bacteria indigenous isolated from vaginas of healthy goats. The vaginal bacteria of twenty-six goats in anestrus was isolated on sheep blood, MacConkey and Mannitol Salt Agar and showed the predominance of 93.0 % of Gram-positive bacteria. *Escherichia coli* were the most frequently coliform isolated in these animals. The detection of this bacterium not directed to the role of these infectious microorganisms. However, further studies should be conducted to establish the role of coliforms as indigenous or not micro - organisms from the normal vaginal micro biota of goats.

**Keywords:** goats; autochthonous; vaginal microflora.

**Palavras-Chave:** cabras; autoclone; microbiota vaginal.

### INTRODUÇÃO

Uma das primeiras atividades de subsistência do homem foi a caprinocultura, Hoje, esta cadeia produtiva, é uma das principais alternativas agropecuárias exercidas predominantemente por pequenos e médios produtores.

Caprinos apresentam estacionalidade reprodutiva, gerando comumente um animal por ano. Com o intuito de aumentar a eficiência reprodutiva destes rebanhos tem se desenvolvido vários protocolos para induzir e sincronizar o estro e favorecer a reprodução destes animais. Entretanto, o sucesso desses protocolos pode ser comprometido por patologias do trato reprodutor tais como: endometrites, vaginites, cervicites e vulvovagites. (Oliveira et al., 2013; Penna et al, 2013).

São escassos os estudos relativos à microbiota vaginal normal de caprinos, a maioria destes descrevem os efeitos das biotécnicas de reprodução e o surgimento de infecções decorrentes destes processos (Penna et al, 2013). O conhecimento da microbiota normal da vagina destes animais é de extrema importância para que se possa diferenciar micro-organismos autóctones, daqueles envolvidos com as enfermidades do trato reprodutivo direcionando o tratamento. Assim, este trabalho

teve por objetivo avaliar a prevalência e o perfil de bactérias aeróbias e/ou facultativas autóctones isoladas de vaginas de cabras sadias.

### MATERIAIS E MÉTODOS

Vinte e oito cabras mestiças, criadas em sistema semi-intensivo, com idade reprodutiva, cuja observação clínica e diagnóstica por imagem ultrassonográfica não revelou processos infecciosos ou prenhes e que se encontravam em período de anestro, tiveram o muco vaginal colhido com o auxílio de (swab estéril, com a utilização de espelho) para a avaliação da microbiota vaginal. Os swabs foram acondicionados em tubos esterilizados, identificados e encaminhados ao setor de Microbiologia, do LASAN/CCA/UFPI, para realização de análises microbiológicas envolvendo cultivos em Ágar sangue de carneiro, manitol salgado e MacConkey. Após o período de incubação (48 horas/37°C) as placas foram observadas quanto aos aspectos morfológicos e bioquímicos das colônias. Sendo analisada, a presença ou não de hemólise, fermentação ou não de manitol e lactose e estas foram submetidas à coloração de Gram. Em seguida foram feitas as provas bioquímicas para a identificação quanto aos gêneros e/ou espécies).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

No total foram analisadas 254 colônias bacterianas e por meio da coloração de Gram foi possível identificar que 93,0% da microbiota isolada era composta por micro-organismos Gram positivos (cocos, bacilos, cocobacilos) e 7,0% por Gram negativos. Estes resultados estão em acordo com os relatos descritos por Oliveira et al. (2013) e Penna et al. (2013) que observaram a predominância de bactérias Gram positivas variando entre 63,6% a mais de 90,0% para a microbiota vaginal de ovelhas e cabras. Todos os bacilos Gram negativos isolados pertenciam ao grupo dos coliformes sendo que 94,4% foram identificados como *Escherichia coli*. Estes resultados estão de acordo com os descritos por Ababneh e Degefa (2006) que também relataram a predominância deste micro-organismo na microbiota reprodutiva de cabras sem sinais clínicos inflamatórios, no período pós-parto destes animais. Martins et al. (2009) descreveram o papel infeccioso dos coliformes, em especial para *E. coli*, em vaginites, observadas, em ovelhas, após a retirada de esponjas intravaginais. Coliformes como membros da microbiota vaginal de ovelhas e cabras também foram observados por Oliveira et al. (2013) e Penna et al (2013), variando entre 0,0 a 33,4%. Os resultados aqui descritos não direcionam para o papel infeccioso destes micro-organismos, pois não foram observados sinais de processo infeccioso, contudo, é possível que estes possam ser considerados transitórios ou integrantes da microbiota vaginal normal, pelo menos para alguns dos animais avaliados.

## CONCLUSÃO

O conhecimento acerca da microbiota vaginal de cabras é de suma importância, visto que infecções genitais são causas de baixa fertilidade dessa espécie. Contudo, mais estudos deverão ser conduzidos para o estabelecimento do papel dos coliformes como micro-organismos autóctones ou não da microbiota vaginal normal de cabras.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ababneh, M. M.; Degefa, T.; Bacteriological Findings and Hormonal Profiles in the Postpartum Balady Goats. *Reproduction Domestic Animal*. v. 41, p.12–16. 2006.

Brandão, F.Z.; Fonseca, J.; Lilenbaum, W. Progesterone-impregnated intravaginal sponges for estrus induction and synchronization influences on goats vaginal flora and antimicrobial susceptibility. *Animal Reproduction Science*. v.142, p. 71– 74. 2013.

Fonseca, J.F.; Rodrigues, A.L.; Brandao, F.Z.; Lilenbaum, W. Changes in the vaginal flora of goats following a short-term protocol of oestrus induction and synchronisation with intravaginal sponges as well as their antimicrobial sensitivity *Small Ruminant Research*. v. 113. p. 162– 166. 2013.

Martins, G.; Figueira, L.; Penna, B.; Brandão, F.; Vargas, R.; Oliveira, J.K.; Martins, G.; Esteves, L.V.; Penna, B.; Hamond, C.; Penna, B.; Libonati, H.; Director, A.; Sarzedas, A.C.; Martins, G.; Vasconcelos, C.; Lilenbaum, W. Prevalence and antimicrobial susceptibility of vaginal bacteria from ewes treated with progesterone-impregnated intravaginal sponges. *Small Ruminant Research* v. 81. p. 182–184. 2009.

## PSEUDOGESTAÇÃO EM CABRAS LEITEIRAS: RELATO DE CASO

[*Pseudopregnancy in dairy goats: Case Report*]

Ediane Freitas Rocha<sup>1\*</sup>, Norma Lúcia de Souza Araújo<sup>1</sup>, Sara Vilar Dantas Simões<sup>1</sup>, Carlos Enrique Peña Alfaro<sup>1</sup>, Erlon Layme Batista Moura<sup>1</sup>, Bruno Guimarães Leal<sup>2</sup>

<sup>1</sup>UFCEG. \* Autor para correspondência. Email: edianemedvet@gmail.com.br.

<sup>2</sup>Médico Veterinário Autônomo.

**ABSTRACT** - The goat milk production is of great importance in the northeast of Brazil being a profit alternative for small properties. However, dairy goat production can be affected by several problems, among them pseudo pregnancy. This condition can contribute to reduce herd productivity by increasing the interval between parturition compromising the entire production process. This is a case of report of pseudo pregnancy in a goat.

**Keywords:** pseudopregnancy; goat; reproductive disorders.

**Palavras-Chave:** pseudogestação; caprinos; distúrbios reprodutivos.

### INTRODUÇÃO

A pseudogestação ou hidrometra é considerada, dentro dos sistemas de produção de caprinos de leite, um dos principais problemas que contribuem para redução da produtividade do rebanho (Souza & Fonseca, 2011). É uma situação patológica que se caracteriza pelo acúmulo de secreções no útero, podendo ser confundida com prenhez (Pimentel, 2001).

A etiologia desta condição uterina ainda não foi totalmente definida. Nascimento & Santos (2003), associavam o acúmulo de líquido uterino à obstrução do canal cervical ou da vagina, ao hiperestrogenismo e a persistência de hímen. Contudo, relata-se como causa primordial, a persistência do corpo lúteo, mantendo elevados os níveis de progesterona, que induz o bloqueio do eixo hipotálamo-hipófise-ovariano, inibindo, assim, o retorno da atividade reprodutiva (Souza & Fonseca, 2011).

Constitui-se como objetivo do presente trabalho, fazer um relato de caso de falha reprodutiva em um rebanho de cabras leiteiras acometido por pseudogestação, na região do município de Cacimba de Areia, no semiárido paraibano.

### HISTÓRIA E SINAIS CLÍNICOS

Este estudo foi realizado no município de Cacimba de Areia, localizado na região Centro-Oeste do Estado da Paraíba, Meso-Região Sertão Paraibano e

Micro-Região Patos. O Rebanho era constituído de 50 cabras leiteiras mestiças das raças Saanen, Pardo Alemão e Alpino Americano, com faixa etária variando entre três e cinco anos. Os animais eram criados de forma semi-extensiva e adequadamente vacinados e vermifugados. Eram submetidos ao regime de monta natural, alimentados com pasto nativo, farelo de soja, de trigo e de milho, além de torta de algodão e palma forrageira.

Dos animais do rebanho, 23 apresentaram manifestações clínicas caracterizadas por distensão abdominal que perdurava por aproximadamente cinco meses, seguida de profusa perda de líquido via vaginal e posterior repetição de cio. Os animais acometidos foram submetidos a exame de ultrassonografia com aparelho da marca Chison D-600 VET munido de transdutor transretal de 5 MHz, onde constatou-se o acúmulo de conteúdo não ecogênico intra uterino, com formações trabeculares, ausência de placentomas e de feto.

### TRATAMENTO

Após o diagnóstico, os animais foram tratados com duas doses (500 µg) de Cloprostenol Sódico (Ciosin-Coopers®), com intervalo de 12 dias, segundo Hesselink (1993), o que levou à liberação do líquido em cerca de 24 a 48 horas, já após a primeira aplicação. Após a segunda aplicação, todas as fêmeas demonstraram sinais de cio, e foram cobertas, após 30 dias foram submetidas ao exame de ultrassonografia para diagnóstico de gestação. Das 23 fêmeas tratadas, todas foram diagnosticadas

com prenhez positiva aos 30 dias. Confirmando a eficácia do tratamento, segundo relata Wittek (1998).

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Hesselink, J. W. Hydrometra in dairy goats: reproductive performance after treatment with prostaglandins. *Veterinary Record*, v. 133, p. 186-187, 1993.
- Nascimento, E. F.; Santos, R. L. *Patologia da reprodução dos animais domésticos*. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003. 137 p.
- Pimentel, A. C. *Infertilidade na fêmea bovina*. In: Riet-Correa, F. et al. *Doenças de ruminantes e equinos*. 2. ed. São Paulo: Livraria Varela, 2001. 574 p.
- Souza, J. M. G. De; Fonseca, J. F. da. *Pseudogestação ou Hidrometra em Cabras Leiteiras*. Acesso em: 15 de jan. 2013. Disponível em: <<http://www.cnpq.embrapa.br/admin/pdf/04111300013211240.doc102.pdf>>.
- Wittek, T., Erices, J., Elze, K. Histology of the endometrium, clinical-chemical parameters of the uterine fluid and blood plasma concentrations of progesterone estradiol 17  $\beta$  and prolactin during hydrometra in goats. *Small Ruminant Research*, v. 30, p. 105-112, 1998.

## QUANTIFICAÇÃO DE PROTEÍNAS TOTAIS E ELETROFORESE-1D DO FLUIDO FOLICULAR DE CABRA CANINDÉ: RESULTADOS PRELIMINARES

[Quantification of total protein and electrophoresis-1D in follicular fluid of Canindé goat: preliminary results]

Alexandre Rodrigues de Paula Junior<sup>1\*</sup>, Mauricio Fraga van Tilburg<sup>2</sup>, Joanna Maria Gonçalves de Souza-Fabjan<sup>1</sup>, Carlos Henrique Sousa de Melo<sup>1</sup>, Arlindo de Alencar Araripe Noronha Moura<sup>2</sup>, Vicente José de Figueirêdo Freitas<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Fisiologia e Controle da Reprodução, Faculdade de Veterinária, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza-CE. \* Autor para correspondência. E-mail: alexandre.rpj@gmail.com

<sup>2</sup>Laboratório de Fisiologia Animal, Departamento de Zootecnia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza-CE.

**ABSTRACT-** The objective of this study was to perform a preliminary assessment on the total protein in follicular fluid (FF) of Canindé goats subjected to hormonal stimulation treatment for oocyte production. By the use of video-laparoscopy the goat had small (< 3 mm), medium (3-4 mm) and large (> 4 mm) follicles aspirated and FF was separated for posterior determination of protein profile. It was observed similar values for total protein values for small, medium or large follicles (43.7; 41.0 and 40.0 µg/µL). However, it is necessary to improve the number of repetitions for definitive conclusions.

**Keywords:** goat; follicular fluid; ovarian stimulation; proteomics.

**Palavras-Chave:** caprino; fluido folicular; estimulação ovariana; proteômicas.

### INTRODUÇÃO

Caprinos da raça Canindé são animais altamente adaptados às condições climáticas no Nordeste do Brasil. Entretanto, esta raça está em vias de extinção devido à prioridade dada às raças exóticas de maior produtividade (Mariante et al., 2009). Com o intuito de preservar a raça, diversas biotécnicas aplicadas à reprodução podem ser utilizadas, com destaque para a produção *in vitro* de embriões (PIVE) que pode rapidamente formar um banco de embriões para posterior transferência (Freitas & Melo, 2010).

Estudos já demonstraram a importância da composição do fluido folicular (FF) para determinação de biomarcadores da função reprodutiva (Veenstra et al., 2005). Em função disso a importância de estudos da proteômica do FF, buscando uma melhor compreensão de sua participação no complexo mecanismo envolvido durante a foliculogênese terminal. Assim, o objetivo desse estudo foi realizar uma análise preliminar da quantificação e perfil 1D SDS-PAGE do FF em cabra Canindé tratada hormonalmente para produção de oócitos e posterior PIVE.

### MATERIAL E MÉTODOS

Esse estudo foi realizado no Laboratório de Fisiologia e Controle da Reprodução (estimulação hormonal e colheita de oócitos) e no Laboratório de Fisiologia Animal (quantificação de proteínas e eletroforese 1D SDS-PAGE), ambos localizados em Fortaleza-CE, Brasil.

Foi utilizada uma cabra Canindé, adulta e cíclica, a qual foi submetida a um tratamento de estimulação hormonal ovariana, com duração de 10 dias, consistindo de progestágeno, prostaglandina e hormônio folículo estimulante (FSH). Para colheita de oócitos e do FF, o animal foi anestesiado e colocado em decúbito dorsal sobre uma maca e submetido a vídeo-laparoscopia. Os folículos puncionados foram divididos em pequenos (< 3 mm), médios (3-4 mm) e grandes (> 4 mm). O FF de cada grupo de folículos foi separado em tubos distintos, os quais foram centrifugados a 3000 g, a 4°C por 20 min. O sobrenadante foi colhido e armazenado a -80°C. As amostras foram descongeladas e a quantificação das proteínas totais foi realizada conforme a metodologia de Bradford (Bradford, 1976). Para eletroforese 1D SDS-PAGE, usou-se 40µg de proteínas de cada grupo de FF (Amersham ECL gel 8-16%). O gel foi corado com

Cromassie G-250, escaneado (ImageScanner III, GE USA) e analisado pelo programa Quantity One versão 4.6.3.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

As concentrações proteicas totais dos folículos pequenos, médios e grandes foram de 43,7; 41,0 e 40,0 µg/µL respectivamente. Os resultados do perfil proteico em eletroforese 1D SDS-PAGE, não foram observadas diferenças entre os grupos de folículos. Fahiminiya et al. (2011) realizaram, em equinos, a análise proteômica do FF em vários estágios de desenvolvimento do folículo. Os autores também não encontraram diferenças entre folículos no início da dominância, dominante e pré-ovulatório.

O FF é o meio essencial para o crescimento e maturação das células somáticas e germinativas do ovário. Pode-se esperar que a determinação de sua composição proteica pode contribuir para uma melhor compreensão da fisiologia ovariana. Além disso, pode fornecer informações úteis sobre os mecanismos subjacentes de desenvolvimento folicular e maturação de oócitos, com o intuito de otimizar as biotecnologias reprodutivas.

### CONCLUSÃO

O FF de cabra da raça Canindé apresentou-se com uma rica concentração proteica, verificando-se perfis similares tanto para concentração proteico e

perfil proteico 1D SDS-PAGE entre folículos pequenos, médios e grandes. No entanto, torna-se essencial o aumento do número de repetições e estudos mais detalhados, como a eletroforese 2D para uma melhor compreensão da proteômica do FF como possível biomarcador na reprodução nessa espécie.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Bradford, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, v.72, p.248-254, 1976.

Fahiminiya, S.; Labas, V.; Roche, S.; Dacheux, J.L.; Gérard, N. Proteomic analysis of mare follicular fluid during late follicle development. *Proteome Science*, v.9, p.54, 2011.

Freitas, V.J.F.; Melo, L.M. *In vitro* embryo production in small ruminants. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 39, p. 409-413, 2010.

Mariante, A.S.; Albuquerque, M.S.M.; Egito, A.A.; Momanus, C.; Lopes, M.A.; Paiva, S.R. Present status of the conservation of livestock genetic resources in Brazil. *Livestock Science*, v.120, p.204-212, 2009.

Veenstra, T.D.; Conrads, T.P.; Hood, B.L.; Avellino, A.M.; Ellenbogen, R.G.; Morrison, R.S. Biomarkers: mining the biofluid proteome. *Molecular Cell Proteomics*, v.4, p.409-418, 2005.

## TAXA DE GESTAÇÃO EM CABRAS SAANEN TRATADAS COM GNRH NO MOMENTO DA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL

*[Pregnancy rate in Saanen goats treated with GnRH at the time of Artificial Insemination]*

Rebeca Santos da Silva<sup>2\*</sup>, Maria do Socorro Almeida Arnaldo<sup>1</sup>, Emerson Israel Mendes<sup>1</sup>, Heder Nunes Ferreira<sup>1</sup>, Antonio Matos Fraga Junior<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Curso de Medicina Veterinária da Faculdade Pio Décimo – Aracaju/SE. \*Autor para correspondência. E-mail: becasilva.vet@gmail.com.

<sup>2</sup>Dept. de Zootecnia, Universidade Federal de Sergipe – São Cristovão/SE.

**ABSTRACT** - This work aims to study the short-term protocols in order to increase the efficiency of synchronization, artificial insemination and increase the pregnancy rate in dairy goats. In experiment 32 (thirty two) Saanen goats were used, all pluriparous in healthy condition. The goats were divided into two groups: G1 (P<sub>4</sub>) and G2 (GnRH). All females received a vaginal sponge with progestagen (Progespon® - medroxyprogesterone acetate, 60 mg) for nine days and 200 IU eCG (Norvomom®) plus 37.5 mg of cloprostenol (Prolise®) in D7. Removal of sponges and heat detection was performed in D9. All females were inseminated 24 hours after removal of sponges, when G2 animals received a single application of Sincroforte® (12.5 mg GnRH). The estrus detection was made with the use of a ruffian for 72 hours. The diagnosis of pregnancy was made in 40 days. Regarding the pregnancy rate, the G2 animals showed a higher result with 62.5% compared to the G1 which showed 37.5%.

**Keywords:** goat; GnRH; reproduction; ovulation; synchronization.

**Palavras-Chave:** caprinos; GnRH; reprodução; ovulação; sincronização.

### INTRODUÇÃO

A caprinocultura apresenta um papel de destaque na economia, principalmente no nordeste, porém a mesma vem obtendo um crescimento significativo, principalmente nos países em desenvolvimento. Métodos para sincronizar o estro e a ovulação têm sido desenvolvidos e utilizados na caprinocultura, visando facilitar e tornar mais eficiente o manejo reprodutivo resultado no intuito de alavancar o potencial reprodutivo nos rebanhos, a qualidade dos animais e dos subprodutos oferecidos no mercado, concomitantemente à um bom retorno financeiro.

Diante de dessas constatações, verifica-se que existe a necessidade de estudos que forneçam informações para elaboração de protocolos que demandem o menor tempo para realização dos mesmos buscando a redução dos custos com a atividade, associados ao desempenho reprodutivo desejado.

Objetivou-se com este trabalho, avaliar as taxas de gestação em cabras da raça Saanen tratadas com GnRH no momento da Inseminação Artificial.

### MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado na zona rural do município de Pinhão, no estado de Sergipe. Foram utilizadas 32 cabras, da raça Saanen, com idade média de 6,7 anos, apresentando Escore da Condição Corporal (ECC), médio de 3,2 numa escala de 1–5. O status reprodutivo das fêmeas foi avaliado mediante exames ultrassonográfico. Todos os animais foram submetidos a regime semi-intensivo de produção, onde durante o dia tiveram livre acesso à pastagem nativa, além de receberem suporte alimentar à base de ração composta de farelo de milho e soja, sendo água e suplemento mineral fornecidos, à vontade. Os animais foram divididos de forma aleatória em dois grupos (G-1 e G-2) com dezesseis animais cada (n=16), no dia “0” (D0) às 09 horas, todos os animais receberam uma esponja contendo 60 mg acetato de medroxiprogesterona; no dia “7” (D7), às 09 horas uma aplicação intramuscular (IM) de 200 UI de Gonadotrofina coriônica equina (eCG) e 37,5 µg de d-Cloprostenol. No dia “9” (D9), às 09 horas realizou-se a remoção das esponjas e 12 horas após foi introduzido um rufião para detecção dos animais em estro. As inseminações artificiais foram realizadas no dia “10” D10, a parti das nove horas,

inclusive naquelas que não manifestaram estro. Os animais do G-2 receberam 12,5µg de um análogo do GnRH. A observação do estro foi feita três vezes ao dia e o estro foi confirmado quando observados sinais clínicos como edema de vulva, presença de muco cristalino e aceitação da monta pelo rufião. Os diagnósticos de gestação foram realizados 40 dias após a IA, através da ultrassonografia, por via transretal utilizando o aparelho da marca Kaixin, modelo Kx 5000 vet, equipado com um transdutor de 6,5 Mhz. Os dados foram submetidos à análise pelo Teste de Qui-quadrado, ao nível de significância de 5%, para detecção de diferenças entre os tratamentos.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados estão sumariados na Tabela 1. Com relação a taxa de gestação constatou-se que houve

Tabela 1. Taxa de gestação em cabras da raça Saanen tratadas com GnRH no momento da Inseminação Artificial.

GRUPO	N	TAXA DE PREENHES %
G-1	16	37,5 <sup>a</sup> (6/16)
G-2 (GnRH)	16	62,5 <sup>b</sup> (10/16)

Letras minúsculas distintas na mesma coluna, indicam diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre grupos.

### CONCLUSÃO

Conclui-se que a aplicação de GnRH imediatamente antes da inseminação tem efeito benéfico sobre a taxa de prenhez.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Borges, J. B. S. Alternativas para indução da atividade cíclica ovariana em vacas de corte no pós-parto. *Acta Scientiae Veterinariae*. v. 31, n. 2., p. 127-128, 2003.

diferenças entre os grupos, apresentado efeito significativo. Constatação, também encontrada por Pavarina (2007), em vacas que obteve resultados de 55,18% em animais tratados com o GnRH e 48,15% nos animais que não foram tratado com GnRH, Cavalcanti (2008) obteve resultados de 35,7% de gestação em ovelhas; Moreira et al. (2007) obtiveram resultados onde o grupo das vacas nulíparas que receberam GnRH, como sincronizador da ovulação mostrou, numericamente a maior porcentagem de nascimentos entre todos os tratamentos, aproximadamente 53%. Porém, Borges (2003), avaliando a aplicação de GnRH, no momento da Inseminação artificial em tempo fixo IATF, não observou diferença, significativa em que observou 48% de prenhez nas ovelhas que receberam GnRH e 54% nas que não receberam, em protocolos com progestágenos.

Cavalcanti, A. S. Avaliação do uso do GnRH em protocolos curtos de indução e sincronização do estro e da ovulação em ovelhas. na *R. Bras. Zootec.* [online]. 2012, vol.41, n.6.

Moreira, R.J.C. et al. Uso do protocolo Crestar® em tratamentos utilizando benzoato de estradiol, PGF2V, PMSG e GnRH para controle do ciclo estral e ovulação em vacas de corte. *Braz. J. vet. Res. anim. Sci.* São Paulo, v. 44, n. 1, p. 56-62, 2007.

Pavarina M.G. *Utilização de GnRH como Efeito Somatório na Indução de Ovulação de Bovinos* Universidade Castelo Branco. Dissertação de Pós-Graduação em Reprodução e Produção em Bovinos. São José do Rio Preto – SP, 2007.



## **Equídeos**

## INFLUÊNCIA DA ÉPOCA DO ANO SOBRE OS PARÂMETROS SEMINAIS DE GARANHÕES PÔNEI

*[Influence of season on seminal parameters of stallions Pony]*

**Claudio Avelino de Oliveira Lucena<sup>1\*</sup>, Marciane da Silva Maia<sup>2</sup>, José Jussier Aquino Maia<sup>3</sup>, Gizele Fonseca da Silva<sup>1</sup>, Técio Marlos Lourenço de Sousa<sup>1</sup>, Carlos Eduardo Bezerra de Moura<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> UFRN. \*Autor para correspondência. E-mail: claudioavelinozoo@gmail.com.

<sup>2</sup> Embrapa/EMPARN.

<sup>3</sup> Med. Veterinário – autônomo.

**ABSTRACT** - The objective of this study was to investigate the influence of season on seminal parameters of Brazilian Pony stallions, reared in the Santa Maria - RN. Five stallions, clinically healthy and in reproductive activity were used. The ejaculates and environmental data were collected once a week in periods of March-April and August-September 2012. The seminal parameters evaluated were the volume, motility, vigor, concentration, % of live and sperm morphology. Was observed significant effects ( $P < 0.05$ ) of the collection period on vigor, sperm concentration, larger defects and minor defects. Our results demonstrate that in our climatic conditions clear seasonal differences occur in spermatid quality of fresh semen of stallion pony during the year

**Keywords:** stallion; season; semen quality; sperm morphology; ambient temperature.

**Palavras-Chave:** garanhão; estação; qualidade do sêmen; morfologia espermática; temperatura ambiente.

### INTRODUÇÃO

No hemisfério Norte, a atividade reprodutiva dos equinos é sazonal, concentrando-se nos períodos de maior luminosidade (primavera/verão). Nesse caso produção de espermatozoides e a função endócrina testicular são influenciadas pelo fotoperíodo. Entretanto, segundo Leme (2003) em ambiente tropical não ocorre variação na produção espermática de garanhões em função do fotoperíodo. Provavelmente, porque nos trópicos os animais estão adaptados em responder a outras variações sazonais que não seja o fotoperíodo, e sim as alterações ambientais mais representativas das regiões tropicais, como a temperatura, a concentração de chuvas e a disponibilidade e qualidade de alimentos. O presente trabalho objetivou avaliar a influência da época do ano e dos fatores climáticos (temperatura e umidade) sobre os parâmetros seminais de garanhões da raça Pônei Brasileira criados no Município de Santa Maria, Rio Grande do Norte.

### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Haras Orlando Martins, localizado no município de Santa Maria – RN, na mesorregião Agreste Potiguar, situado a 5°50'23" de latitude sul e 35°41'43" de longitude oeste. Foram utilizados cinco garanhões adultos da raça Pônei Brasileira, cujos ejaculados foram

colhidos semanalmente, nos períodos de 18 de março a 15 de abril e 26 de agosto a 30 de setembro de 2012, com o auxílio de uma vagina artificial modelo Botucatu a 42° C e de uma égua em estro. Imediatamente após a colheita, os ejaculados foram examinados quanto ao volume de sêmen, volume de gel, motilidade (subjativa), vigor (0-5) e concentração espermática (hematocítmetro). Em seguida preparou-se um esfregaço corado com eosina-nigrosina para posterior análise da viabilidade e morfologia espermática. Os dados foram submetidos à análise de variância com comparação de médias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre os períodos de coleta para as características seminais: vigor, concentração espermática, defeitos maiores e defeitos menores. Estudos realizados na região nordeste do Brasil, relataram a influência da estação do ano e/ou dos parâmetros ambientais, sobre as características espermáticas de garanhões (Silva, 2007) e a incidência de estros em éguas (Mariz et al., 2008). Os fatores ambientais, temperatura ambiente e umidade do ar, também variaram entre os períodos, sendo maiores no segundo período. Esperava-se uma melhoria na qualidade do sêmen no segundo período de coleta, uma vez que o mesmo ocorreu após o período de chuvas com

consequente melhoria na disponibilidade de forragem. No entanto, a qualidade seminal no segundo período foi inferior ao primeiro, afetando principalmente a morfologia e a concentração espermática. Essa variação pode ser atribuída à elevação dos parâmetros ambientais no segundo período, interferindo no conforto térmico do animal e possivelmente na termorregulação testicular.

Efeito da época do ano sobre a concentração espermática de garanhões também foi relatado por Silva (2007) ao observar menor concentração espermática, no verão. Janett et al. (2003) observaram uma maior porcentagem de defeitos maiores no verão (estação reprodutiva) que nas demais estações do ano, fato atribuído ao efeito das condições ambientais.

Tabela 1. Características seminais de garanhões Pônei, em diferentes épocas do ano, no agreste Potiguar.

Parâmetros	Período	
	I (Seco)	II (Chuvoso)
Volume de sêmen (ml)	12,24 ± 1,06	12,15 ± 1,06
Volume de Gel (ml)	4,66 ± 1,26	5,24 ± 1,26
Motilidade (%)	82,4 ± 1,52	82,8 ± 1,52
Vigor (0-5)	4,08 ± 0,10 <sup>a</sup>	4,40 ± 0,10 <sup>b</sup>
Concentração (ml)	268,02 ± 17,41 <sup>a</sup>	208,54 ± 17,41 <sup>b</sup>
Vivos (%)	78,97 ± 1,32	81,81 ± 1,32
Total de defeitos (%)	36,08 ± 2,20	37,58 ± 2,20
Defeitos maiores (%)	25,52 ± 2,00 <sup>b</sup>	31,98 ± 2,00 <sup>a</sup>
Defeitos menores (%)	10,58 ± 0,66 <sup>a</sup>	5,60 ± 0,66 <sup>b</sup>
Temperatura ambiente (°C)	29,5 ± 1,4 <sup>b</sup>	30,3 ± 1,2 <sup>a</sup>
Umidade do ar (%)	82,4 ± 3,7 <sup>b</sup>	83,6 ± 3,7 <sup>a</sup>

### CONCLUSÃO

Existe variação nas características seminais de garanhões pônei durante o ano na região agreste potiguar. Os ejaculados coletados no período chuvoso demonstraram melhor qualidade que aqueles colhidos no período seco. No entanto, novos estudos devem ser realizados, abrangendo no mínimo um ano de avaliações para que se possa confirmar ou não esse padrão reprodutivo.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Janett, F.; Thun, R.; Niederer, K.; Burger, D.; Hassig, M. *Seasonal changes in semen quality and freezability in the Warmblood stallion*. Theriogenology, v. 60, p. 453–461, 2003.

Leme, D. P. *Características reprodutivas de garanhões mantidos sob luz natural ou contínua, em ambiente tropical*. 2003. 85 p. Tese (Doutorado em Reprodução Animal) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, 2003.

Mariz, T.M.A.; Anjos, A.G.; Flor, J.M.; Flor, L.M.A.M.; Lima, C.B.; Givisiez, P.E.N.; Azevedo, P.S. *Influências do clima sobre a atividade reprodutiva de éguas da raça mangalarga marchador no estado de Sergipe*. Acta Veterinaria Brasilica, v.2, n.2, p.39-43, 2008.

Silva, K.M.G. *Efeito da estacionalidade e da adição de antioxidantes em algumas características espermáticas em equinos*. 2007. 90 p. Tese (Doutorado em Ciência Veterinária) – Universidade Federal Rural do Pernambuco. Departamento de Medicina Veterinária. Recife – PE.

## PESQUISA DE ANTICORPOS ANTI-*Brucella abortus* EM EQUINOS DA CIDADE DE BOM JESUS – PIAUÍ

[Detection of anti-*Brucella abortus* in horses from the town of Bom Jesus – Piauí]

Gustavo Henrique Chaves Martins<sup>1\*</sup>, Rogério Ramos Moreira<sup>1</sup>, Sabrina Thabla Pereira Lopes<sup>1</sup>, Júlia Caroline Paz dos Santos<sup>1</sup>, Lauro César Soares Feitosa<sup>1</sup>, Ana Lys Bezerra Barradas Mineiro<sup>1</sup>

<sup>1</sup> UFPI/CCA. \* Autor para correspondência. E-mail: gustavomartinsufpi@hotmail.com.

**ABSTRACT** -Brucellosis is an infectious disease that affects animals and humans. Its occurrence in the equine species is cosmopolitan. The main source of contamination direct contact with infected cattle. The diagnosis is made by techniques buffered acidified antigen 2 - mercaptoethanol, among others (Brazil, 2006). The objective of this work, diagnose the occurrence of Brucellosis in horses of Bom Jesus, Piauí. Blood samples were collected to obtain the blood serum of 52 horses from the town of Bom Jesus - Piauí. Later tests Buffered Acidified Antigen and 2-Mercaptoethanol were performed. It is concluded that 38 horses were reactive in buffered acidified antigen test for brucellosis, with only 4 also reacted in the 2-mercaptoethanol test, so there are horses that can be potential sources of infection for other animals, or even the human being in the town of Bom Jesus-Piauí.

**Keywords:** brucellosis; horses; 2-mercaptoethanol.

**Palavras-Chave:** brucelose; cavalos; 2-mercaptoetanol.

### INTRODUÇÃO

A brucelose é uma enfermidade infecto-contagiosa e crônica comum dos animais e da espécie humana. É causada por bactérias do gênero *Brucella* e caracterizada por distúrbios da reprodução nos animais. A ocorrência da brucelose equina é cosmopolita, sendo que o quadro epidemiológico varia segundo os hábitos e práticas zootécnicas; a principal fonte de contaminação em equinos no Brasil é o contato direto com bovinos infectados, seja através da ingestão de pastagens contaminadas com a bactéria ou através da utilização de agulhas, seringas e materiais cirúrgicos não esterilizados, práticas frequentes no meio rural (Oliveira et al., 1973). Na espécie equina, as lesões mais sugestivas da doença são inflamações, de caráter purulento em bursas, ligamentos, tendões, sinóvias e articulações, preferencialmente na região da cernelha ou na espinha da escápula, com presença ou não de fístulas (Paulin, 2003). O diagnóstico da brucelose equina pode ser realizado por métodos diretos ou indiretos (Nielsen *et al.*, 1998). De acordo com o programa, o diagnóstico indireto da brucelose bovina e bubalina é feito pelas técnicas do antígeno acidificado tamponado corado pelo Rosa Bengala (AAT), 2 – mercaptoetanol (2-ME), fixação de complemento e teste do anel em leite ou “Ring Test” (Brasil, 2006). Objetivou-se assim, no

presente trabalho, diagnosticar a ocorrência de Brucelose em equinos da cidade de Bom Jesus-Piauí.

### MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização do presente trabalho foram colhidas amostras sanguíneas de 52 equinos sem raça definida, de ambos os sexos, de diferentes idades e sem qualquer sintoma clínico da enfermidade. Cada animal foi cadastrado em um formulário, contendo o nome do proprietário e dados com informações sobre sexo, pelagem e idade do animal. As coletas foram realizadas em abril de 2012, em animais de seis propriedades da zona rural da cidade de Bom Jesus. Estas, realizadas de modo asséptico, por método de venopunção da jugular, em tubos *vacutainer* estéreis. Posteriormente, os tubos contendo as amostras de sangue, foram centrifugados para a obtenção do soro sanguíneo, que em seguida foram armazenados em micro tubos tipo *ependorfs*, identificados e mantidos sob temperatura de 20 °C negativos. Os testes sorológicos utilizados foram os preconizados pelo Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose, criado em 2001 pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (Brasil, 2006), já que para a espécie equina não existem métodos padronizados para o diagnóstico de brucelose. Assim, foram

utilizados dois métodos indiretos, o Antígeno Acidificado Tamponado (AAT), teste de triagem, e o 2-Mercaptoetanol (2-ME), teste confirmatório, os quais foram realizados no Laboratório de Fisiopatologia da Reprodução Animal, do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Piauí.

### RESULTADOS E DISCUSSÕES

Dos cinquenta e dois soros sanguíneos analisados, trinta e oito (73,07%) foram positivos e catorze (26,69%) negativos no teste de AAT; quatro (7,69%) foram positivos e quarenta e oito (92,30%) foram negativas no teste de 2-ME. Foram considerados como infectados os animais que apresentaram resultados positivo simultaneamente no AAT e no 2-ME. Assim o rebanho em estudo mostrou prevalência de 7,69% (4/52).

Estes resultados, foram semelhantes com os encontrados por Furquim et al. (2012), que diagnosticou resultado positivo no teste de Antígeno acidificado Tamponado (AAT) em maior quantidade (40%), onde somente 5,0% destes, foram positivos no teste confirmatório de 2-Mercaptoetanol (2-ME).

A diferença de reações positivas entre o teste de AAT e o teste de 2-ME, foi consideravelmente grande, assim podendo-se afirmar que houve resultados falsos positivos no teste de triagem. Esse acontecimento, segundo Carrazza et al. (2010) que obtiveram semelhantes dados, deve-se pelo fato de outras bactérias Gram-negativas possuírem constituição de parede bacteriana similar ao gênero *Brucella*, tais como *Yersinia enterocolitica* (09), *Escherichia coli*, *Salmonella* spp e *Pseudomonas aeruginosa*, ocorrendo dessa forma, reação cruzada no teste. No entanto, para se confirmar a presença ou não de anticorpos anti-brucela abortus, após o teste de triagem AAT, foi realizado o teste de 2-ME, este sendo realizado em tubos com várias diluições (1:25, 1:50, 1:100, 1:200) com leitura em 48 horas, confrontando os resultados com a prova de soroaglutinação em tubos, com vistas a anular qualquer reações inespecíficas geralmente ocasionadas por IgM (Nielsen *et al.*, 2004). Assim, qualquer que seja a reação de aglutinação (completa) nas diferentes diluições no teste de 2-ME, o animal, é qualificado como positivo (Brasil, 2006), igualmente considerado nos animais deste estudo.

### CONCLUSÃO

Conclui-se nesta pesquisa que, 38 equinos foram reagentes no teste do antígeno acidificado tamponado para brucelose, sendo que apenas quatro também reagiram no teste confirmatório de 2-mercaptoetanol. Tais resultados demonstram que

existem equinos que podem ser potenciais fontes de infecção para os outros animais, ou até mesmo o ser humano na cidade de Bom Jesus-Piauí.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Carrazza, L.G.; Junqueira, Y.F.; Carrazza, T.G.; Oliveira, P.R.; Correia, A.M.; Ribeiro, L. Soroepidemiologia da brucelose em equinos de tração em áreas urbanas no município de Uberlândia-MG. *Horizonte Científico*. v.4, n.2. 2010.
- Nielsen, K.; Gall, D.; Lin, M., Massngill, C, Samartino, L, Perez, B, Coats, M, Hennager, S, Dajer, A, Nicoletti, P, Thomas, F. Diagnosis of bovine brucellosis using a homogeneous fluorescence polarization assay. *Vet Immunol Immunopatol*, v.66, p.321-329, 1998.
- Nielsen, K.; Gall, D.; Lin, M.; Massangill, C.; Samartino, L.; Perez, B.; Coats, M.; Hennager, S.; Dajer, A.; Nicoletti, P.; Thomas, F. Diagnosis of bovine brucellosis using a homogeneous fluorescence polarization assay. *Vet. Immunol. Immunopatol.*, n.66, p.321-329, 1998.
- Oliveira, Q.C. et al. Brucelose em equinos. *Revista do Centro de Ciências Rurais*, v.3, n.1-4, p.111-120, 1973.
- Paulim, L. M. Brucelose. *Arq Inst Biol*, São Paulo, v.70, p.239-249, 2003.

## PESQUISA DE ANTICORPOS PARA *Leptospira* spp. EM SORO DE EQUINOS DA CIDADE DE BOM JESUS – PIAUÍ

[Antibodies to *Leptospira* spp. in equine serum city of Bom Jesus – Piauí]

Sabrina Thabla Pereira Lopes<sup>1\*</sup>, Lauro César Soares Feitosa<sup>1</sup>, Ítalo Sena Carvalho<sup>1</sup>, Júlia Caroline Paz dos Santos<sup>1</sup>, Vanessa Castro<sup>1</sup>, Ana Lys Bezerra Barradas Mineiro<sup>1</sup>

<sup>1</sup>UFPI/CCA. \*Autor para correspondência. E-mail: sabrina.pereiralopes@hotmail.com.

**ABSTRACT** - Leptospirosis is a worldwide zoonosis that the equine species is manifested mainly by fever, pulmonary hemorrhage, abortions and other reproductive disorders. This study aimed to estimate the occurrence of antibodies to *Leptospira* spp. in plasma of horses of Bom Jesus, using as diagnostic method, the Microscopic Agglutination Test (MAT). Of the 52 samples analyzed, 50 (96.15%) samples were positive to one or more serovars used. 22 of the most prevalent serovars were used: Icterohaemorrhagiae (27.78%), Copenhageni (16.11%), Hardjo (15.55%), Wolffi (15.00%), castellonis (10.00%) and Grippotyphosa (6.67%). None of the horses showed clinical symptoms of leptospirosis, but 9 samples gave positive results. Thus, *Leptospira* spp. Icterohaemorrhagiae, Canicola Pomon, Grippotyphosa, Wolffi, Hardjo, castellonis, Copenhageni and Pyrogenes, are present in the region causing infection in the equine species.

**Keywords:** leptospirosis; horses; Bom Jesus – PI.

**Palavras-Chave:** leptospiroses; cavalos; Bom Jesus – PI.

### INTRODUÇÃO

A leptospirose é uma doença infecciosa de ocorrência mundial, que acomete animais domésticos, silvestres e o homem. Trata-se de uma zoonose, que conseqüentemente, torna-se um problema de saúde pública e econômico. A leptospirose no equino é uma doença de importância considerável em países, onde cavalos ainda são usados como uma fonte principal de trabalho, transporte, na segurança pública, no tratamento de doenças humanas pela equoterapia, além de atividades de lazer e esporte (Viotto et al., 2008). Assim, conhecer os aspectos clínicos e epidemiológicos da leptospirose em equinos visaria minimizar a exposição humana aos fatores de risco (Sellnow, 2004). Objetivou-se estimar a ocorrência de anticorpos para *Leptospira* spp. em soro de equinos da cidade de Bom Jesus, utilizando-se como método de diagnóstico, a Soroaglutinação Microscópica (SAM).

### MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização do presente trabalho foram colhidas amostras sanguíneas de 52 equinos sem raça definida, de ambos os sexos, de diferentes idades e sem qualquer sintoma clínico da enfermidade. Foram coletadas amostras de sangue de modo asséptico, por método de venopunção da

jugular, em tubos *vacutainer* estéreis de 9,0 ml. Posteriormente, o material foi levado ao laboratório de patologia clínica da Universidade Federal do Piauí, *Campus* de Bom Jesus e centrifugado a 2500rpm durante 10 minutos. Os soros foram armazenados em micro tubos tipo *ependorfs*, identificados e mantidos à temperatura de 20 °C negativos.

O diagnóstico sorológico da leptospirose foi realizado no Laboratório de Doenças Bacterianas da Reprodução do Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Sanidade Animal do Instituto Biológico de São Paulo – SP, utilizando-se como método de diagnóstico, a técnica de Soroaglutinação Microscópica (SAM). Para a realização da mesma, foram empregados como antígenos, os seguintes sorovares: *icterohaemorrhagiae*, *canicola*, *pomona*, *grippotyphosa*, *wolffi*, *hardjo*, *australis*, *autumnalis*, *bataviae*, *bratislava*, *butembo*, *castellonis*, *copenhageni*, *cynopteri*, *hebdomadis*, *javanica*, *panama*, *pyrogenes*, *shermani*, *tarassovi*, *whitcombi*, *sentot*.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO.

Das 52 amostras de soros analisadas pela técnica de Soroaglutinação Microscópica (SAM), 50 (96,15%) apresentaram reação de aglutinação frente a um ou

mais sorovares de *Leptospira Interrogans* utilizados. Apenas duas (3,85%) amostras não reagiram a nenhum dos sorovares testados. Entre os 22 sorovares empregados na SAM, detectaram-se apenas nove. Dos 50 soros positivos, os sorovares mais frequentes foram: *Icterohaemorrhagiae*, que esteve presente em todas, representando 28,40% dos mesmos; *Copenhageni*, com 29 (16,47%); *Hardjo*, com 28 (15,91%); *Wolffi*, com 27 (15,79%). O restante dos sorovares detectados (*Castellonis*, *Grippotyphosa*, *Pyrogenes*, *Canicola*, *Pomona*), apareceu em menor frequência. Os únicos antígenos que sofreram reação, na diluição de 1:1600, foram os sorovares *Grippotyphosa* e *Hardjo*. O sorovar *Icterohaemorrhagiae* foi mais frequente na titulação de 1:200 (43 dos 50 positivos), sendo o único antígeno a sofrer aglutinação em todas as amostras positivas, tornando-se o sorovar mais provável. Por outro lado, a maioria dos equinos que foram diagnosticados com anticorpos para *Leptospira* spp. apenas oito não foram reagentes para mais de um antígeno. Os mesmos reagiram apenas para o sorovar *Icterohaemorrhagiae*.

Os sorovares *Hardjo*, *Wolffi* e *Copenhageni*, também foram encontrados com alta incidência positiva no presente estudo, com respectivamente 15,91%, 15,79% e 16,47%, onde os primeiros valores citados acima foram semelhantes aos encontrados por Moraes et al., (2010), que detectou o sorovar *Hardjo* com 29,73% de prevalência, porém, os dois últimos estão bem distantes, que foi de 2,7% para *Wolffi* e, para o sorovar *Copenhageni*, não houve nenhuma amostra reagente. Dois sorovares que apresentaram consideráveis índices que não pertencem à espécie de *Leptospira Interrogans*, foram encontrados, sendo os sorovares *Grippotyphosa*, pertencente à espécie *L. Kirshneri* e *Castellonis*, pertencente à espécie *L. Borgpetersenii*, com 6,82% e 10,22% de prevalência, respectivamente.

Os sorovares que sofreram reação de aglutinação na SAM, nesta pesquisa, estão de acordo com Linhares et al., (2005), que descrevem os seguintes sorovares como prevalentes em amostras de soro de equino: *Icterohaemorrhagiae*, *Pomona*, *Wolffi*, *Hardjo*, *Canicola*, *Pyrogenes*, *Grippotyphosa*, *Castellonis*, *Ballum*, *Butembo*, *Bataviae*, *Javanica*, *Tarassovi*, *Panamá*, *Sejroe*, *Hebdomadis*.

### CONCLUSÃO

Detectou-se a presença de anticorpos para *Leptospira* spp. nas amostras de equinos da cidade de Bom Jesus, Piauí. Assim, pode-se afirmar que os sorovares de *Leptospira* spp. *Icterohaemorrhagiae*, *Canicola*, *Pomona*, *Grippotyphosa*, *Wolffi*, *Hardjo*, *Castellonis*, *Copenhagenie* *Pyrogenes*, estão

presentes na região causando infecção na espécie equina.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Linhares, G. F. C.; Girio, R. J. S.; Linhares, D. C. L.; Mondeiro, L. C. M.; Oliveira, A. P. A. Sorovares de *Leptospira interrogans* respectivas prevalências em cavalos da microrregião de Goiânia, GO. *Ciência Animal Brasileira*, 2005, 6, p.255-259.
- Moraes, C. C. G.; Kuroda, R. B. S.; Pinho, A. P. V. B.; Ywasaki, F. A. M.; Meneses, A. M. C.; Martins, A. V.; Júnior, J. M. A.; Dias, H. L. T. Pesquisa de anticorpos para sorovares de *Leptospira interrogans* patogênicas em equídeos criados na ilha de Algodão, Estado do Pará. *Rev. Ci. Agra.*, v.53, n.2, p.188-194, Jul/Dez 2010.
- Sellnow, L. Leptospirose: mal de muitas faces. *Revista Horse Business*, Ed. 56. São Paulo, dez/1999.
- Viotto, P. S.; Cavicchioli, J. H.; Freitas, J. C.; Silva, L. C.; Júnior, L. A. L.; Okano, W.; Zanluchi, A. T.; Grecco, F. C. A. R.; Prevalência de Anticorpos para *Leptospira* Spp. em Equinos não Vacinados na Região Norte do Estado do Paraná / UNOPAR *Cient., Ciênc. Biol. Saúde*, Londrina, v. 10, n. 2, p. 47-52, Out. 2008

## **Felinos**



## ANORMALIDADES ULTRASSONOGRÁFICAS GESTACIONAIS EM FETOS CANINOS E FELINOS

*[Pregnancy ultrasound abnormalities in canine and feline fetuses]*

Luana Azevedo de Freitas<sup>1\*</sup>, Cynthia Levi Baratta Monteiro<sup>2</sup>, Lúcia Daniel Machado da Silva<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratório de Reprodução de Carnívoros, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Faculdade de Veterinária, Universidade Estadual do Ceará. \* Autor para correspondência. E-mail: lualaf@hotmail.com.

<sup>2</sup> Médica Veterinária – Profissional Autônoma (Fortaleza/Ceará).

**ABSTRACT-** Studies concerning ultrasonographic fetal abnormalities are still scarce in the literature. Thus, we aimed to report gestational changes in bitches and cats detected by ultrasound in the period from 2005 to 2013 in patients referred to the Laboratory of Carnivore Reproduction (UECE). For this purpose, 2,561 pregnant bitches and queens were evaluated. From this total, gestational abnormalities were diagnosed in 434 animals, being 108 queens and 326 bitches. The changes found, in order of frequency, were: fetal death, embryonic death, fetal stress, obstetric spring, hernias, fetal hydrops, evisceration, fetal malformation and superfetation. It was concluded that ultrasound allows pregnancy monitoring and abnormalities detection accurately in domestic carnivores.

**Keywords:** ultrasound; abnormalities; fetuses; dogs; cats.

**Palavras-Chave:** ultrassom; anormal; concepto; cães; gatos.

### INTRODUÇÃO

A ultrassonografia é uma técnica não invasiva em tempo real que permite a detecção precoce e o acompanhamento da gestação quanto aos parâmetros de vitalidade e desenvolvimento embrionário e fetal (Davidson; Baker, 2009). Além disso, é um acurado método de detecção de condições que podem ocorrer durante gestações anormais, tais como: reabsorção fetal, aborto, desenvolvimento embrionário retardado, anomalias de desenvolvimento, estresse fetal, morte fetal, dentre outros. No entanto, tais anormalidades ainda são raramente relatadas na medicina veterinária (Nyland; Matton, 2005). Desta forma, este trabalho tem por objetivos relatar alterações ultrassonográficas gestacionais de carnívoros domésticos encaminhados ao Laboratório de Reprodução de Carnívoros no período de 2005 a 2013.

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram avaliadas 2.561 fêmeas gestantes das espécies felina e canina encaminhadas ao Laboratório de Reprodução de Carnívoros (LRC) no período de 2005 a 2013. Todos os exames foram realizados com o aparelho SONOACE PICO (Medison) com sondas multifrequenciais linear de 5

– 9 MHz e microconvexa de 4 – 9MHz. As avaliações foram realizadas com os animais posicionados em decúbito dorsal, previamente tricotomizados e com gel acústico em região abdominal para aumentar a superfície de contato entre a sonda e a região a ser avaliada. Os achados anormais foram descritos em frequência e porcentagem de acordo com as alterações encontradas.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Diferente do que ocorre na medicina humana, a veterinária tem poucos relatos sobre achados anormais durante a gestação, sendo desta forma, de grande valia o diagnóstico precoce, tanto para o paciente, quanto para o clínico veterinário (Nyland; Matton, 2005). Neste trabalho, do número total avaliado somente 434 animais apresentaram alterações ao longo da gestação, 108 gatas e 326 cadelas. Mesmo apresentando baixa incidência, aproximadamente 17%, representam grandes riscos para saúde animal, pois se não diagnosticadas precocemente podem levar a partos distócicos e até ao óbito do paciente (Luz et al., 2005).

Muitas destas alterações têm como causa primária doenças infecciosas (virais ou bacterianas) e/ou não infecciosas (traumas, estresse, má alimentação e

alterações metabólicas e/ou endócrinas e congênitas ou genéticas). Outras ocorrem em consequência da fisiologia reprodutiva, como a superfetação em felinos (Verstegen et al., 2008). Ressaltando, assim,

a importância do exame clínico reprodutivo prévio ao acasalamento e o acompanhamento ultrassonográfico gestacional. As anormalidades encontradas foram dispostas na tabela 1.

Tabela 1. Anormalidade, frequência e porcentagem das alterações gestacionais em cães e gatos direcionados ao LRC no período de 2005 a 2013.

<b>Anormalidade</b>	<b>Frequência</b>	<b>Porcentagem (%)</b>
Morte fetal	203	46,77
Maceração	98	22,58
Mumificação	122	28,11
Reabsorção embrionária	193	44,47
Estresse fetal	11	2,53
Molas gestacionais	8	1,85
Hérnias	5	1,15
Umbilical	4	0,92
Diafragmática	1	0,23
Hidrópsia fetal	5	1,15
Hidrocefalia	1	0,23
Anasarca	4	0,92
Evisceração	4	0,92
Má formação	3	0,70
Superfetação	2	0,46
<b>TOTAL</b>	<b>434</b>	<b>100</b>

### CONCLUSÃO

A técnica de ultrassonografia gestacional permite um acompanhamento, bem como a detecção de anormalidades de forma acurada em carnívoros domésticos.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Davidson, A. P.; Baker, T. W. Reproductive ultrasound of dogs and tom. *Topics in Companion Animal Medicine Journal*, v. 24, p. 64-70, 2009.

Luz, M. R.; Freitas, P. M. C; Pereira, E. Z. Gestação e parto em cadelas: fisiologia, diagnóstico de gestação e tratamento de distocias. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*. 29, ¾, p. 142 – 150, 2005.

Nyland, T. G.; Mattoon, J. S. Próstata E Testículos. In: Nyland, T.G.; Mattoon, J.S. *Ultra-som diagnóstico em pequenos animais*. 2º Ed. São Paulo. Editora Roca p.257 -260. 2005.

Verstegen, J.; Dhaliwal, G.; Verstegen-Onclin, K. Canine and feline pregnancy loss due to viral and non infectious causes: A review. *Theriogenology*, v. 70, n. 3, p. 304 -319, 2008.

## CASTRAÇÃO QUÍMICA: UMA SOLUÇÃO PARA O CONTROLE POPULACIONAL DE CÃES E GATOS

*[Chemical Sterilization: a solution to control the population of dogs and cats]*

**Allynneide Emannelly da Silva Rodrigues<sup>1\*</sup>, Cibele Cavalcanti Souza de Melo<sup>1</sup>, Rebeca Pinto Ramos<sup>1</sup>, Adriana Kátia da Rocha Neves<sup>1</sup>, Thaís Gusmão Ferraz de Andrade<sup>1</sup>, Érika Christina Santos Oliveira<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Laboratório de Andrologia (ANDROLAB), UFRPE, Recife-PE. \*Autor para correspondência: allynneide.medicinaveterinaria@gmail.com

**ABSTRACT** - The purpose of the study reported here was to describe the use of chemical sterilization with zinc gluconate (Testoblock) on male dogs and cats in terms of acceptance by owners, facility of use, and short-term outcomes. Information media included brochures and posters, car audio and interviews on the radio. Dogs and cats were presented by their owners during the animal campaign. Three dogs and two cats were castrated in an animal contraception campaign. The owners well accepted the procedure in their animals, which was considered fast and safe. However, there was some concern due to lack of technical knowledge. Furthermore, the maintenance of male behavior, observed in the dog, was also a limiting factor in the number of animals that were chemically castrated. The low cost, ease of technique, and cultural acceptance of the procedure make zinc gluconate a promising alternative for large-scale use, particularly in remote locations lacking sophisticated clinical facilities and sparse infrastructure.

**Keywords:** chemical sterilization; testoblock; testis.

**Palavras-Chave:** esterilização química; testoblock; testículo.

### INTRODUÇÃO

Uma das alternativas para o controle populacional de cães e gatos seria a esterilização química. De acordo com Oliveira et al. (2007), trata-se de um método seguro, eficaz, eficiente, além de ser uma técnica de esterilização menos invasiva, características estas que corroboram ainda mais com questões de ordem social e com o bem-estar animal. Este método pode ser usado em um vasto número de animais machos contribuindo para o decréscimo de fêmeas gestantes. A técnica já foi utilizada em cães (Oliveira et al., 2007; 2012) e gatos (Oliveira et al., 2011; 2013). Portanto, o objetivo do trabalho foi demonstrar o impacto da esterilização química com gluconato de zinco (Testoblock) em campanhas de controle populacional de cães e gatos, levando-se em consideração a aceitação por parte da comunidade, a facilidade de utilização da técnica e os resultados encontrados nos animais.

### MATERIAL E MÉTODOS

As esterilizações foram realizadas nas Ações Cívico Social (ACISO) na cidade do Recife-PE em parceria com a Polícia Militar de Pernambuco e

demais instituições governamentais e sem fins lucrativos. Os meios de divulgação utilizados incluíam, folders e cartazes informativos, além do carro de som e entrevistas em rádio. No dia da campanha, os machos caninos e felinos passaram por uma triagem e aqueles clinicamente saudáveis foram submetidos ao procedimento. Foram esterilizados cinco animais, sendo três caninos (9-12 meses; 7,5-12 kg) e dois felinos (5-24 meses; 3,3-3,5 kg). Os cães foram sedados com sulfato de atropina (0,044 mg/kg, SC) e cloridrato de xilazina (1,0 mg/kg, IM); os gatos, por sua vez, com cloridrato de xilazina (0,5mg/kg, IM), quetamina (0,5mg/kg, IM) e sulfato de atropina (0,044 mg/kg, SC). Ambos os testículos foram higienizados com solução anti-séptica. As doses do Testoblock foram administradas segundo o diâmetro testicular do animal (Oliveira et al., 2013) que foi mensurado com a utilização de um paquímetro. Uma única injeção foi realizada na região dorso-cranial de cada testículo, ao lado da cabeça do epidídimo (o mais próximo possível do ducto eferente e rede testicular) e a agulha foi inserida num plano paralelo em relação ao testículo. Foram utilizadas seringas e agulhas de insulina (13 x 4,5mm), uma para cada testículo.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os proprietários se mostraram interessados pela técnica e satisfeitos com o procedimento que foi considerado rápido e seguro, uma vez que não houve a necessidade de cirurgia. Entretanto, foi observada ainda relutância de alguns em submeterem seus animais à castração química, provavelmente devido à falta de conhecimento da técnica aplicada. Além disso, a manutenção do comportamento de macho, observada na espécie canina, também foi um fator que limitou o número de animais castrados quimicamente. Entretanto, nos gatos, o procedimento mostrou-se bastante adequado uma vez que este leva à mudança de comportamento. A esse respeito Oliveira et al. (2013) afirma que o comportamento de macho, em gatos, foi alterado devido à modificação na concentração da droga. Além do mais, estes autores enfatizam a existência de atrofia testicular, diminuição da libido e da demarcação de urina (spray), do comportamento de monta e da agressividade. Enquanto, que em cães utilizou-se a concentração original da droga, por isso não houve observação de mudança comportamental. Ainda, por se tratar de uma técnica que foi desenvolvida apenas para castração de machos, percebeu-se uma limitação no número de animais atendidos, uma vez que a maioria dos proprietários levaram fêmeas para serem castradas, já que estas sempre foram o foco dessas campanhas. Em consequente, já que o procedimento normalmente mantém o comportamento de macho, nos casos de tutores que procuravam a mudança de seus cães, foi sugerida a orquiectomia, que é o método contraceptivo muito utilizado na esterilização de animais que não são destinados à reprodução. Além disso, previne o surgimento de alterações escrotais e testiculares,

como orquites/epididimites; ocorre supressão ou eliminação dos sinais clínicos associados a doenças andrógeno-dependentes, como hipertrofia prostática, adenomas (Oliveira et al. 2007).

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

O baixo custo, a simplicidade da técnica, aliados a uma conscientização da população faz da injeção intratesticular de gluconato de zinco uma alternativa promissora para ser utilizada em campanhas de controle populacional, principalmente em locais carentes e com pouca infraestrutura.

## REFERÊNCIAS

- Oliveira, E.C.S. *Esterilização de cães com injeção intratesticular de solução à base de zinco*, 2007. p.90. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais.
- Oliveira, E.C.S., Moura, M.R., Sá, M.J.C., Silva Jr, V.A., Kastelic, J.P., Douglas, R.H., Marques Jr, A.P. Permanent contraception of dogs induced with intratesticular injection of a zinc gluconate-based solution. *Theriogenology*, v.77, p.1056-1063, 2012.
- Oliveira, E.C.S; Silva, F.L.M; Muller, P.M; Brito, L.T; Fagundes, A.K.F; Sá, M.J.C; Melo, C.C.S; Silva Jr, V.A. Castração química de caninos e felinos por meio de injeção intratesticular de gluconato de zinco - Quebrando paradigmas. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, Belo Horizonte, v.35, n.2, p.262-265, 2011.
- Oliveira, E.C.S; Fagundes, A.K.F; Melo, C.C.S; Nery, L.T.B; Rêvored, R.G; Andrade, T.F.G; Oliveira-Esquerre, K; Kastelic, J.P; Silva, V.A. Intratesticular injection of a zinc-based solution for contraception of domestic cats: A randomized clinical trial of efficacy and safety. *The Veterinary Journal* (London, England. 1997), v. 197, p. 307-310, 2013.

## EFEITO DO TRIS-CITRATO EM DIFERENTES OSMOLARIDADES SOB ESPERMATOZÓIDES EPIDIDIMÁRIOS DE FELINOS DOMÉSTICOS

*[Effect of tris-citrate in different osmolarity below epididymal spermatozoa of domestic felines]*

Silmara Leticia Gonçalves Lima<sup>1\*</sup>, Danielle Cristina Calado de Brito<sup>1,2</sup>, Danuza Leite Leão<sup>1</sup>, Maria Hilma Soares Sodrê<sup>1</sup>, Regiane Rodrigues dos Santos<sup>3</sup>, Sheyla Farhayldes Souza Domingues<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratório de Biotecnologia e Medicina de Animais da Amazônia, UFPA, Brasil. \* Autor para correspondência. E-mail: Silmaraleticiagl@gmail.com

<sup>2</sup> Laboratório de Citogenética Animal, UFPA, Brasil.

<sup>3</sup> Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Utrecht, Holanda.

**ABSTRACT** - We aimed to evaluate the efficiency of the extender TRIS-citrate on epididymary spermatozoa from domestic cats. Different osmolarities (275, 325, 375, 425, 475 and 525 mOsm) were tested. Sperm motility, vigor and integrity of plasmatic membrane from five cats were evaluated at three different time-points (T0, T1 and T2) with an interval of 30 minutes between each one. The best results were obtained with the osmolarities of 275, 325 and 375 mOsm. However, the osmolarity of 275 was harmful for spermatozoa along time ( $P < 0.05$ ). We concluded that the extender TRIS-citrate at osmolarities of 325 or 375 allows the harvesting of good quality spermatozoa within one hour.

**Keywords:** osmolarity; spermatozoa; epididymis; Tris-citrate.

**Palavras-Chave:** osmolaridade; espermatóide; epidídimo; Tris-citrato.

### INTRODUÇÃO

Diluidores espermáticos influenciam na sobrevivência celular durante o armazenamento, e com a utilização de uma osmolaridade ideal desse meio, o gameta pode tornar-se mais resistente durante o processo de criopreservação, podendo esta biotécnica levar a alterações na pressão osmótica e pH, causando efeitos deletérios aos espermatozoides (Martinez-Pastor et al., 2005). Contudo, o diluidor Tris, como substância tamponante, é capaz de manter o pH do meio durante a congelamento (Holt, 2000). Diante disto, o objetivo desse estudo é verificar o efeito do diluidor Tris associado ao Citrato de Sódio em diferentes osmolaridades (275, 325, 375, 425, 475 e 525mosm).

### MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi realizado a partir da utilização dos testículos de gato ( $n=5$ ) coletados durante procedimento rotineiro de orquiectomia no Hospital veterinário do campus universitário de Castanhal (UFPA). Com isso, foi realizado a incubação de espermatozoides retirados da cauda do epidídimo em soluções de Tris-Citrato com osmolaridades variando de 275-525 mOsm (275, 325, 375,

425,475 ou 525mOsm). Em seguida, cada amostra submetida a diferentes faixas de osmolaridade foi mantida a uma temperatura de 37°C em banho-maria. E, para verificar a eficiência de cada osmolaridade, os espermatozoides foram avaliados com relação à motilidade, vigor e integridade de membrana plasmática, sendo as duas primeiras realizadas imediatamente após a adição da amostra ao diluidor (tempo 0, 1 e 2, com intervalos de 30 minutos cada). E quanto a integridade de membrana plasmática, foi feito posteriormente, com a confecção de lâminas nos mesmos tempos acima descritos, coradas com eosina negrosina, adicionando-se 5 microlitros de eosina 1% e 5 microlitros de nigrosina 1% a 5 microlitros do espermatozoide diluído, em uma lâmina previamente aquecida (37°C). A avaliação foi feita pela contagem do total de 100 espermatozoides em microscópio óptico, em cada tempo de cada osmolaridade. Os testes estatísticos utilizados foram a moda para estabelecer o vigor espermático analisado, com valores de 5-0; a média + desvio padrão para o percentual dos outros parâmetros espermáticos; one-way ANOVA para comparação dos tempos em cada osmolaridade e two-way ANOVA para analisar diferenças entre as osmolaridades e os tempos entre si, com  $P < 0.05$ .

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste experimento, foi observado que dentre todas as osmolaridades, nenhuma foi deletéria ao ponto de promover uma grande taxa de danificação ou morte espermática total, mostrando com isso resultados satisfatórios. Contudo, os parâmetros de motilidade, vigor e integridade de membrana plasmática espermática (IMP), nos tempos 0, 1 e 2 de análise, indicaram que seus respectivos percentuais das osmolaridades de 275, 325 e 375osm obtiveram melhores resultados, pois não apresentaram diferença estatística ( $P>0.05$ ) entre si em todos os parâmetros. Este intervalo (275-375osm) mostra resultados semelhantes aos de Emerenciano et al. (2013), que utilizaram diluidor Tris com 295osm em espermatozoides de epidídimo de felinos domésticos. Entretanto, somente a osmolaridade de 275osm obteve diferença estatística ( $P<0.05$ ) entre o tempos 0 ( $64\% \pm 11,4$ ) quando comparado com o tempo 1 ( $42\% \pm 8,4$ ) e o 2 ( $26\% \pm 16,7$ ) de motilidade, mostrando que a taxa regredia consideravelmente a cada meia hora de análise. Porém, as osmolaridades 325 e 375osm foram as que apresentaram percentuais sem diferença estatística em todos ( $P>0.05$ ) seus respectivos parâmetros: motilidade nos tempos T0 ( $63\% \pm 34,9$  e  $54,4\% \pm 32,8$ ), T1 ( $40 \pm 38$  e  $36\% \pm 28,8$ ) e T2 ( $34 \pm 37,8$  e  $24\% \pm 25$ ); vigor T0 (5 e 5), T1 (4 e 4) e T2 (4 e 4); e IMP integra T0 ( $55,6 \pm 28,8$  e  $51\% \pm 19,7$ ), T1 ( $50,6 \pm 29,9$  e  $48,6\% \pm 31,5$ ) e T2 ( $55,6 \pm 23,68$  e  $53,4\% \pm 30,1$ ). Com relação às demais osmolaridades testadas (425, 475

e 525osm), mostraram ser menos eficazes em manter os parâmetros de análise dos espermatozoides epididimários, quando comparado com 325 e 375, apresentando resultados inferiores.

## CONCLUSÕES

O estabelecimento de um meio diluidor com um valor de osmolaridade ideal é de extrema importância para a manutenção e recuperação de espermatozoides epididimários. Com isso, o presente estudo mostra que o diluidor Tris-citrato com a osmolaridade de 325 e 375 permitem tanto a obtenção de espermatozoides com boa qualidade, com relação à motilidade, vigor e membrana plasmática íntegra, como também a manipulação espermática durante uma hora, sem alterar sua qualidade.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Emerenciano, K.D.M.; Lima, G.L.; Peixoto, G.C.X.; Silva, M.A.; Oliveira, M.G.C.; De Paula, V.V.; Silva, A.R. Recuperação de Espermatozoides Epididimários de gatos doméstico (*Felis catus*) utilizando soluções à base de Tris ou água de coco em pó. *Acta Veterinária Brasileira*, v.7, n.2, p.148-153, 2013.
- Holt, W.V. Basic aspect of frozen storage of semen. *Animal Reproduction*, 2000.
- Martinez-Pastor, F.; Guerra, C.; Kaabi, M.; Diaz, A.R.; Anel, E.; Herraes, P.; De Paz, P.; Anel, L. Decay of sperm obtained from epididymes of wild ruminants depending on postmortem time. *Theriogenology* 63, 24–40, 2005.

## INFLUÊNCIA DA MUDANÇA DAS FASES DA LUA NA OCORRÊNCIA DE PARTOS NATURAIS EM GATAS DA RAÇA PERSA: MITO OU VERDADE?- RESULTADOS PRELIMINARES

*[Influence of changing phases of the moon in the occurrence of natural births in Persian queens: myth or reality - Preliminary Results]*

Ticiano Franco Pereira da Silva<sup>1</sup>, Geórgia Chaves Mourão<sup>1</sup>, Carmen Vlândia Soares de Sousa<sup>1\*</sup>, David Baruc Cruvinel Lima<sup>1</sup>, Lúcia Daniel Machado da Silva<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Faculdade de Veterinária - Universidade Estadual do Ceará. \* Autor para correspondência. E mail: ticifranco@hotmail.com

**ABSTRACT-** The objective of this study was to compare dates of natural parturition in Persian queens and the changing dates of lunar phases in order to verify the influence of lunar phases on parturition. The date of first mating and calving was registered, and the development of pregnancy was evaluated by abdominal and pelvic ultrasonography. Two of the three deliveries occurred on the date of changing of the lunar phase and one of them on the next day of lunar phase change. Although it is not possible to conclude with the low number of natural deliveries in Persian queens the influence of the changing lunar phases is exerted on them, the proximity/coincidence of these should be considered.

**Keywords:** cats; parturition; moon; myth.

**Palavras-Chave:** gatas; parto; lua; mito.

### INTRODUÇÃO

A idéia de que a lua exerce influência sobre os nascimentos de gatos é um senso comum em meio aos criadores comerciais. As datas da mudança de suas fases são consideradas popularmente como pontos críticos de indução de parto natural em gatas no terço final da gestação. Esta cultura é reforçada por estudos científicos de retrospectiva de partos em mulheres que demonstram variação dos nascimentos em função de algumas fases da lua (Ghiandoni et al., 1997), embora estudo retrospectivo recente, relate a ausência de influência lunar no parto (Bharati et al., 2012). A influência lunar é bastante investigada não só em relação a partos, mas à menstruação, no número de acidentes de carro, ataque de animais e entrada de pacientes humanos em hospitais psiquiátricos (Zimeck, 2006). Assim, o objetivo do presente trabalho foi confrontar as datas de parto naturais e as datas de mudança de fases da lua a fim de verificar cientificamente, ainda que de forma preliminar, o senso comum divulgado pelos criadores.

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas informações relativas à primeira cobertura (data), gestação, e parto (data, ocorrência

de distocias e intervenções cirúrgicas, e número de filhotes) de 3 gatas Persas (1 gestação/gata), fornecidas pelo proprietário Gatil Sekhmetce, localizado em Fortaleza-Ce (3°44'S; 38°34'O). Em duas destas gatas (Gata 2 e 3), realizou-se ultrassonografia abdominal e pélvica em aparelho Medison Pico com sondas de 5 a 9MHz para avaliação da idade gestacional (organogênese), diâmetro médio do crânio fetal, e viabilidade fetal aos 60 e 51 dias da 1ª cobertura, respectivamente. As datas de mudança das fases da lua mais próximas de cada data de parto foram obtidas pelo site da *National Aeronautics and Space Administration* (NASA) e foram confrontados por estatística descritiva com as datas de parto obtidas.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

As datas de cobertura, parto e datas de mudança das fases da lua mais próximas do parto foram respectivamente: Gata 1- 08/11/2013, 02/01/2014 e 01/01/2014; Gata 2- 18/11/2013, 24/01/2014 e 24/01/2014; e Gata 3- 25/11/2013, 30/01/2014 e 30/01/2014. Assim, as partições ocorreram aos 56, 68 e 65 dias de gestação, respectivamente, a partir da 1ª cobertura. A duração da gestação nestes casos está em acordo com resultados já descritos para a espécie (mínima de 52 e máxima de 74 dias) (Munday e Davidson, 1993). Nas duas gestações

avaliadas por ultrassonografia, as estimativas de idade gestacional por organogênese foram compatíveis com as idades gestacionais relatadas (calculadas a partir da primeira cobertura), tendo sido estimado no mínimo 3 e 4 filhotes viáveis, respectivamente para as gatas 2 e 3. O diâmetro craniano médio encontrado foi de 2,11 e 1,79 cm, respectivamente. Todos os partos foram iniciados espontaneamente sem uso de indução medicamentosa, sendo necessária intervenção cirúrgica em 1 dos animais. A Gata 1 pariu espontaneamente 2 natimortos e um natimorto por cesariana. Os filhotes da Gata 1 apresentavam-se de grande tamanho para a fêmea e completamente formados à avaliação externa. Acredita-se que a desproporção de tamanho feto-pelve materna tenha sido o causador da distocia registrada, especialmente tratando-se da raça Persa, na qual comumente são registradas (Monteiro et al., 2012). A Gata 2 pariu 3 filhotes espontaneamente (2 natimortos e 1 viável, nesta ordem) após cerca de 24h de eliminação de secreção esverdeada (biliverdina), embora neste período não apresentasse sinais visíveis de contração ou ofegância, segundo o proprietário. A eliminação de biliverdina ocorre pelo descolamento da placenta, sendo indicativo de necessidade de intervenção imediata, sob risco de morte fetal (Johnston et al., 2002), como registrado neste caso. A Gata 3 pariu espontaneamente 5 filhotes, 4 filhotes viáveis e 1 natimorto com aparência de mumificação. A cultura da não intervenção cirúrgica com o aguardo de um disparo e trabalho de parto natural influenciado pela lua foi um dos principais motivos que levaram à espera do proprietário pelos partos naturais. Entretanto, percebe-se que intervenções, como avaliações de viabilidade fetal por ultrassonografia abdominal e cesariana, poderiam ser passíveis nestes casos se comprovados sofrimento fetal (Johnston et al., 2001).

## CONCLUSÃO

Embora não seja ainda possível concluir que haja influência da mudança das fases da lua sobre a parição de gatas Persas, a proximidade/coincidência dos mesmos deve ser considerada. Um levantamento com maior número de animais, e sua correlação ou não com as fases lunar faz-se necessário para corroborar ou desmistificar tal influência.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bharati, S; Sarkar, M; Halder, P. S.; Jana, S.; Mandal, S. The Effect of the Lunar Cycle on Frequency of Births: A Retrospective Observational Study in Indian Population. *Indian Journal of Public Health*, v.56, p.152-154, 2012.
- Ghiandoni, G; Secli, R.; Rocchi, M.B.; Ugolini, G. Incidence of lunar position in the distribution of deliveries. A statistical analysis. *Minerva Gynecology*, v.49, p.91-94, 1997.
- Johnston, S.D; Root-Kustritz, M.V; Olson, P.N.S. Canine and feline theriogenology. Filadelfia: W.B. Saunders Company, 2001, 591p.
- Monteiro, C.L.B.; Campo, A.I.M.; Madeira, V.L.H.; Silva, H.V.R., Freire, L.M.P.; Pinto, J.N.; Souza, L.P; Silva, L.D.M. Pelvic differences between brachycephalic and mesaticephalic cats and indirect pelvimetry assessment. *Veterinary Record*, v.172, n.1, p.16-222012.
- Moon phases (2001-2025). National Aeronautics and Space Administration (NASA). Acesso em 05 março de 2014. Disponível em: <http://eclipse.gsfc.nasa.gov/phase/phase2001gmt.html>.
- Munday, H.S.; Davidson, H.P.B. Normal gestation lengths in the domestic cat (*Felis domesticus*). *Journal of Reproduction and Fertility*, Suppl., v. 47, p. 559, 1993.
- ZIMECK, M. The lunar cycle: effects on human and animal behavior and physiology. *Postpy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*, v.60, p.1-7, 2006.



## MORTE FETAL EM CADELAS E GATAS SUBMETIDAS A TRATAMENTO COM ANTICONCEPCIONAIS ATENDIDAS NO HOSPITAL VETERINÁRIO DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE

*[Fetal death in bitches and queens treated with contraceptives assisted in the Veterinary Hospital of University of Campina Grande]*

Luana da Silva Araújo<sup>1\*</sup>, Norma Lúcia de Souza Araújo<sup>2</sup>, Carlos Enrique Peña Alfaro<sup>2</sup>, Rosileide Santos Carneiro<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Graduanda do Curso de Medicina Veterinária/ UFCG. \*Autor para correspondência. Email: luanna-60@hotmail.com.

<sup>2</sup> Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária - Universidade Federal de Campina Grande – Campus de Patos – PB.

<sup>3</sup> Médica Veterinária UFCG.

**ABSTRACT** - This study aimed to conduct a study conducted on the retention and fetal death in bitches and cats undergoing contraceptive treatment, which occurred in the Small Animal Clinic of the Veterinary Hospital of the Federal University of Campina Grande during the period between 2012 and 2013. Nine cases were reported in HV / CSTR / UFCG, being a bitch and eight queens. All with a history of pregnancy, where contraceptive drugs were used. The cases demonstrate the use of contraceptives indiscriminately by the owners, and the deleterious effects that such conduct causes to animals.

**Keywords:** small animals; pregnancy; progestagens.

**Palavras-Chave:** pequenos animais; prenhes; progestágenos.

### INTRODUÇÃO

A utilização dos progestágenos na Medicina Veterinária visa atender às necessidades dos criadores de cães e gatos no controle de características comportamentais inerentes ao estro nas fêmeas que são, por vezes, indesejáveis, e no controle populacional (Filgueira et al., 2008). Os anticoncepcionais a base de progesterona possuem a capacidade de suprimir a atividade miométrial e reduzir os níveis de estradiol, suprimindo, assim, as características do estro, entretanto quando administrado em fêmeas prenhes pode causar complicações no parto (Loretti et al., 2004; Monteiro et al., 2009; Montanha et al., 2012).

O objetivo deste trabalho foi realizar um estudo da casuística de retenção e morte fetal em cadelas e gatas submetidas a tratamento anticoncepcional, ocorrida na Clínica de Pequenos Animais do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Campina Grande durante o período compreendido entre 2012 e 2013.

### MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Campina Grande

(HV/UFCG), Campus de Patos-PB. Foi feito um acompanhamento da casuística em cadelas e gatas, com histórico de morte e retenção fetal após utilização de anticoncepcionais, atendidas no setor de Clínica Médica de Pequenos Animais (CMPA) nos anos de 2012 e 2013. Foram coletados os seguintes dados: raça, idade, história clínica, histórico reprodutivo, achados clínicos e laboratoriais, ocorrência de tratamentos anteriores e/ou utilização de terapia anticoncepcional. Avaliou-se também o quadro clínico e a evolução do paciente, além do tratamento instituído.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em um período de um ano foram atendidas uma cadela e oito gatas sem raça definida (SRD), com idade variando de 1 a 10 anos, com histórico de perda de apetite, desconforto e aumento de volume abdominal e presença de secreção vaginal. Todos os proprietários confirmaram o uso de anticoncepcional anterior ao atendimento. Os achados clínicos foram aumento de volume abdominal, secreção vaginal sanguinolenta com ou sem odor fétido. À ultrassonografia da região abdominal, visualizou-se útero com fetos sem contratilidade cardíaca, indicando a morte fetal e, avaliando-se os aspectos radiográficos, estes foram

compatíveis com maceração fetal em três das oito gatas atendidas. O tratamento instituído para todos os casos foi ovariosalpingohisterectomia associada à fluidoterapia e antibioticoterapia sistêmica pré e pós operatória.

O prolongamento da gestação, ocasionando a morte e não expulsão dos fetos, observados neste trabalho pode ser explicado pelo fato de a progesterona exógena administrada durante a gestação não ocasionar o aborto, permanecendo em níveis elevados até o momento do trabalho de parto, impedindo o seu desenvolvimento (González-Domínguez & Maldonado-Estrada, 2006; Moreira et al., 2008).

### CONSIDERAÇÕES FINAIS

A falta de orientação médica veterinária, além da facilidade de aquisição e baixo custo dos progestágenos, têm possibilitado o seu uso inadequado em cadelas e gatas, o que eforça a ovariosalpingohisterectomia como tratamento de eleição na esterilização das fêmeas em detrimento da utilização de métodos contraceptivos farmacológicos.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Filgueira, K. D.; Reis, P. F. C. C.; Paula, V. V. Hiperplasia mamária felina: sucesso terapêutico com o uso do aglepristone. *Ciência Animal Brasileira*, v. 9, n. 4. 2008. 1010-1016 p.
- González-Domínguez, M.S.; Maldonado-Estrada, J.G. Gestación prolongada asociada con la prescripción inadecuada de medroxiprogesterona acetato. ¿Es racional y ético el uso de progestágenos exógenos en perras?. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, v.19, p.442-450, 2006.
- Loretti, A.P.; Ilha, M.R.S.; Breitsameter, I.; Faraco, C.S. Clinical and pathological study of feline mammary fibroadenomatous change associated with depot medroxyprogesterone acetate therapy. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.25, p.270-274, 2004.
- Montanha, F. P.; Corrêa, C. S. S.; Parra, T. C. Maceração fetal em gata em decorrência do uso de contraceptivos – relato de caso. *Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária*, v. 10, n. 9, p. 1- 6, 2012.
- Monteiro, C. M. R.; Perri, S. H. V.; Carvalho, R. G.; Koivisto, M. B. Histologia e morfometria em cornos uterinos de cadelas nulíparas, múltiparas e tratadas com contraceptivos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 29, n. 10, p. 847- 851, 2009.
- Moreira, H.R.; Miranda, S.A.; Brito, A.B. et al. Complexo hiperplasia endometrial cística-piometra em uma cadela tratada com acetato de medroxiprogesterona como método contraceptivo. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, v.103, p.233-238, 2008.

## PREVALÊNCIA DE CASOS REPRODUTIVOS EM CÃES E GATOS ATENDIDOS EM BELÉM, PARÁ

*[Prevalence of reproductive cases in dogs and cats consulted in Belém city, Pará state]*

**Elenara Botelho Araújo<sup>1\*</sup>, Fernando Kelsen Araujo França<sup>1</sup>, Anelise de Sarges Ramos<sup>1</sup>, Nathalia Clemente Barreto<sup>1</sup>, Sebastião Tavares Rolim Filho<sup>1</sup>, Haroldo Francisco Lobato Ribeiro<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Universidade Federal Rural da Amazônia – UFRA. \* Autor para correspondência. E-mail: elenarabotelho@gmail.com.

**ABSTRACT** - The occurrence of reproductive problems in dogs and cats is increasing worldwide. Thus, the Reproduction Animal Sector of the Universidade Federal Rural da Amazônia began to perform the clinical care of animals with this type of pathology. In this context, the present study aimed to exam data about these clinical cases, and to evaluate the occurrence of reproductive problems in animals, obtaining as a result a significant amount of animals found, thus demonstrating the importance of a specialized service and by sector for the reproductive cases.

**Keywords:** reprodução; pequenos animais; problemas reprodutivos.

**Palavras-Chave:** reproduction; small animals; reproductive problems.

### INTRODUÇÃO

A importância da área de reprodução em pequenos animais vem crescendo, tendo a casuística de problemas reprodutivos se destacado no atendimento clínico não só no Brasil, mas no mundo (Romero, 2009; Amaral & Toniollo, 2010).

Devido ao acréscimo na expectativa de vida de cães e gatos, pode-se notar o aumento no número de doenças relacionadas ao aparelho reprodutor desses animais. A elevada incidência de nódulos mamários e piometra representam muito bem essas afecções (Romero, 2009). Dentro deste contexto, o atendimento clínico no Hospital Veterinário Professor Mário Dias Teixeira (HOVET/UFRA), passou a ser setorizado, ficando, estes casos, a critério do Setor de Reprodução Animal (SRA/UFRA).

O presente estudo objetivou a realização de um levantamento de dados sobre estes atendimentos, a fim de demonstrar a magnitude da ocorrência de problemas reprodutivos em pequenos animais.

### MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado através do levantamento dos dados dos arquivos armazenados no software de gerenciamento utilizado no HOVET/UFRA, o SISVET®, dos atendimentos realizados pelo Setor de Reprodução Animal da Universidade Federal Rural da Amazônia (SRA/UFRA), dentro do

HOVET/UFRA, três dias por semana, no período de 01 de março e 20 de dezembro de 2013.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram atendidos 51 animais da espécie felina e 161 da espécie canina, totalizando 212 animais, com idade média de 10 anos, dos quais 193 (91,04%) eram fêmeas, e 19 (8,96%) eram machos sendo, entre as fêmeas, 142 (73,58%) da espécie canina e 51 (26,42%) da espécie felina, e no grupo dos machos, 100% eram da espécie canina.

Dentre as gatas atendidas, as suspeitas variavam entre piometra, neoplasia mamária, parto distócico, gestação, e prolapso vaginal (Tabela 1).

Das gatas com suspeita de piometra, 12 (75,00%) tiveram confirmação do caso, já as demais (25,00%) foram diagnosticados como sendo períodos pós-parto e como vaginite, enquanto todas as outras suspeitas (68,63%) para esta espécie tiveram sua confirmação.

Em relação à triagem de cadelas para o atendimento clínico no SRA, as suspeitas variaram entre piometra, pseudociese, neoplasia mamária, produção láctea excessiva, OSH por conveniência, parto distócico, TVT, gestação, prolapso vaginal e dificuldade de fecundação (Tabela 1).

Dentre os casos atendidos, foram confirmados 25 (69,44%) de piometra, oito (5,64%) de pseudociese,

64 (98,5%) de neoplasia mamária, um (0,7%) de produção láctea excessiva, cinco (3,52%) de parto distócico, 14 (9,86%) de TVT, oito (5,64%) gestações, um (0,7%) prolapso vaginal e um (0,7%) de dificuldade de fecundação.

Das cadelas que apresentavam problemas reprodutivos variando entre piometra, neoplasia mamária, e parto distócico, 86 (81,13%) haviam recebido tratamento antinocicepcional injetável, diferindo dos resultados obtidos por Golçanves (2012), que em seu trabalho, encontrou, dentre os animais afetados, apenas 36% de uso de métodos contraceptivos; e do abordado por Souza (2006), que não obteve interferência do uso destes fármacos no surgimento de tumores mamários.

As fêmeas acometidas com neoplasias mamárias tinham, em sua maioria, idade mais avançada, variando entre 10 e 16 anos, dessa forma, pode-se indicar a idade como um fator influente na ocorrência destes quadros, o que corrobora com o encontrado por Souza (2006), que indicou a idade como um fator relevante e até de risco no surgimento de tumores mamários.

Tabela 1. Suspeitas em triagem de animais atendidos pelo Setor de Reprodução Animal da Universidade Federal Rural da Amazônia, no Hospital Veterinário Professor Mário Dias Teixeira (HOVET/UFRA), no período de 01 de março a 20 de dezembro de 2013.

Suspeita	Cadela	Gata	Total por patologia
Piometra	36 (25,36%)	16 (31,37%)	52
Neoplasia mamária	65 (45,78%)	23 (45,10%)	88
Parto distócico	5 (3,52%)	3 (5,88%)	8
Gestação	8 (5,64%)	7 (13,73%)	15
Prolapso vaginal	1 (0,7%)	1 (1,96%)	2
Pseudociese	8 (5,64%)	---	8
Produção láctea excessiva	1 (0,7%)	---	1
Ováriosalpingohisterectomia (OSH) por conveniência	1 (0,7%)	---	1
Tumor Venéreo Transmissível (TVT)	14 (9,86%)	---	14
Dificuldade para fecundação	1 (0,7%)	---	1

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Por meio desta pesquisa foi possível observar que a quantidade de animais com patologias reprodutivas é considerável, destacando-se como as principais ocorrências, em fêmeas, a neoplasia mamária, a piometra e o TVT, respectivamente, e em machos, o TVT, as neoplasias testiculares e inflamações penianas, na ordem citada.

Com estes resultados, ressalta-se a importância de um atendimento especializado e setorizado para os casos reprodutivos.

Dos 19 machos atendidos, cinco (26,32%) apresentavam suspeita de neoplasia testicular, um (5,26%) de neoplasia mamária, sete (36,85%) de TVT, um (5,26%) tinha quadro de parafimose, três (15,79%) de inflamação peniana, um (5,26%) animal era criptorquida, e um (5,26%) foi atendido para a realização de “check-up” reprodutivo.

O alto índice de TVT nos machos ocorreu devido à forma de criação dos mesmos, onde, em sua maioria, são criados com acesso livre à rua, tendo, portanto, contato com outros animais acometidos com esta patologia.

Já a ocorrência de neoplasias testiculares, que também foi bastante relevante, acometeu principalmente animais idosos, o que indica a idade como fator influente para estes casos, da mesma forma que o citado por Domingos e Salomão (2011), que afirmaram ser mais comum encontrar tumores em região testicular em cães mais velhos, com uma idade média de 10 anos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Amaral, L. A.; Toniollo, H. G. *Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal*. UNESP. 2010. Acesso em 03 de março de 2014. Disponível em: <http://jaguar.fcav.unesp.br/departamentos/reproducao/index.php>.
- Domingos, T. C. S.; Salomão, M. C. Meios de diagnóstico das principais afecções testiculares em cães: revisão de literatura. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, Belo Horizonte, v.35, n.4, p.393-399, out./dez. 2011. Disponível em :[www.cbpa.org.br](http://www.cbpa.org.br).
- Golçanves, M. V. P. *Avaliação imuno-histoquímica do gene supressor de tumor p53 e da molécula de adesão e-caderina nas neoplasias mamárias em cadelas*. 2012. 43p. Monografia (TCC) – Curso de Clínica Médica e Cirúrgica de Pequenos Animais, Universidade Castelo Branco.

Romero, F. *Relatório de estágio curricular supervisionado em reprodução e obstetrícia de pequenos animais*. 2009. 73p. Monografia (TCC) – Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Paraná.

Souza, D. M. B. *Caracterização patológica e gênica (gene p53) dos tumores mamários em cadelas*. 2006. 78f. Tese (Doutorado em Ciência Veterinária), Universidade Federal Rural de Pernambuco.

## RECUPERAÇÃO DE ESPERMATOZOIDES EPIDIDIMÁRIOS DE GATO DOMÉSTICO ATRAVÉS DA TÉCNICA DE FLUTUAÇÃO

*[Domestic cat epididymal spermatozoa recovery using the fluctuation technique]*

David Baruc Cruvinel Lima<sup>1\*</sup>, Herlon Rodrigues Silva<sup>1</sup>, Gabriela Guedelha de Carvalho<sup>1</sup>, José Nicodemos Pinto<sup>1</sup>, Breno Queiroz Pinheiro<sup>1</sup>, Lúcia Daniel Machado da Silva<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Reprodução de Carnívoros, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Faculdade de Veterinária, Universidade Estadual do Ceará. \* Autor para correspondência. E-mail: davidbaruc@ig.com.br.

**ABSTRACT-** The aim of this study was to report the utilization of flotation technique for collecting epididymal spermatozooids in two domestic cats. The animals were submitted to a bilateral orchietomy and after dissection of the epididymis, we proceeded to the recovery of spermatozooids through the flotation technique. It was possible to detect the presence of spermatozooids in only one animal, which proved that the technique can be applied in domestic cats, however further studies are needed aiming a better use and practical application of these cells in animal reproduction programs.

**Keywords:** spermatozooids; epididymis; flotation technique; cats.

**Palavras-Chave:** espermatozoides; epidídimo; técnica de flutuação; gatos.

### INTRODUÇÃO

As biotécnicas utilizadas na reprodução de gatos domésticos têm alcançado avanços significativos nos últimos anos e a recuperação de espermatozoides da cauda do epidídimo destes animais mostra-se como uma alternativa para a preservação do potencial reprodutivo do animal, criando novas perspectivas para os programas de reprodução artificial. Porém, apesar dos progressos recentes, essa técnica ainda necessita de investigação no intuito de proteger e viabilizar os gametas masculinos (Luvoni, 2013).

A aplicação desses avanços tecnológicos contribui para o melhoramento das características genéticas de gatos domésticos, assim como para os programas de conservação de felinos selvagens ameaçados de extinção (Villaverde & Lopes, 2007). A coleta dos espermatozoides epididimários apresenta-se como uma importante ferramenta na reprodução assistida, pois permite a preservação de reservas de gametas de animais com alto valor genético que tenham ido a óbito ou que tenham a necessidade de serem castrados (Mota Filho & Silva, 2012).

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi relatar a utilização da técnica de flutuação para recuperação de espermatozoides epididimários em gato doméstico.

### MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada no Laboratório de Reprodução de Carnívoros da Universidade Estadual do Ceará. Foram utilizados dois gatos machos púberes sem determinação racial, oriundos de proprietários particulares, pesando entre 2,5 e 4 Kg, que não apresentavam histórico de doenças reprodutivas. Os animais foram submetidos à orquiectomia bilateral para coleta do complexo testículo epidídimo (CTE). Após o procedimento cirúrgico, o CTE foi imerso em um Becker contendo solução salina a 0,9% previamente aquecida a 37 °C e encaminhado para a sala de análises. Procedeu-se então a dissecação dos contornos epididimários com auxílio de uma lâmina de bisturi. Após a dissecação, realizou-se a lavagem externa do epidídimo com solução salina a 0,9% pré-aquecida a 37 °C e os epidídimos foram colocados em placa de Petri igualmente pré-aquecida a 37 °C, na qual foram divididos em pequenos fragmentos com auxílio de uma tesoura. Em seguida, foi adicionado 1,0 mL de solução salina a 0,9% pré-aquecida a 37 °C, deixando em repouso por 1 minuto para que os espermatozoides entrassem em contato com a solução. Com o auxílio de um pipetador automático, uma alíquota de 10 µL do lavado epididimário foi utilizada para constatação da presença de espermatozoides, avaliação da motilidade total expressa em percentual e vigor espermático atribuído em uma escala de 0 a 5, sob microscopia de luz.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi possível recuperar espermatozoides em apenas um dos animais e este resultado pode está associado a fatores inerentes aos indivíduos ou a técnica empregada. A motilidade total das células recuperadas foi de 70% e o vigor de 3,5. Estes resultados são considerados aceitáveis para a espécie felina, entretanto, para a utilização posterior dessas células, desejam-se espermatozoides com mais qualidade, portanto, é necessário que se estabeleçam condições ideais de transporte e conservação, assim como a utilização de técnicas de colheita adequadas para a espécie em questão, com vistas a um melhor aproveitamento dos espermatozoides epididimários (Angrimani et al., 2013).

A utilização da técnica de flutuação para obtenção de espermatozoides da cauda do epidídimo mostrou-se como alternativa a ser utilizada na reprodução assistida de gatos, possibilitando avanços nas biotécnicas reprodutivas aplicadas a esta espécie. Estudos já demonstraram resultados satisfatórios com a obtenção e criopreservação destes espermatozoides em outras espécies, que quando morfológicamente viáveis foram capazes de ligar-se a zona pelúcida e fertilizar oócitos *in vitro* (Martins, 2007).

## CONCLUSÃO

A técnica utilizada neste estudo para coleta de espermatozoides epididimários de gatos domésticos é eficaz, entretanto, são necessários maiores estudos a fim de estabelecer protocolos com maior taxa de recuperação e possível utilização dessas células em programas de reprodução animal.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Angrimani, D. S. R.; Lúcio, C. F.; Veiga, G. A. L.; Regazzi, F. M.; Silva, L. C. G.; Nichi, M.; Vannucchi, C. I. Biotécnicas reprodutivas com o emprego de espermatozoides epididimários em cães. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.37, n.4, p.323-327, 2013.
- Luvoni, G. C. Recent advances in fertility preservation of dogs and cats. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.37, n.2, p.169-171, 2013.
- Martins, M. I. M. Perspectivas da aplicação comercial de biotecnologias envolvendo espermatozoides obtidos de epidídimo de cães e gatos. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.31, n.1, p.115-118, 2007.
- Mota Filho, A. C.; Silva, L. D. M. Recuperação e conservação de espermatozoides epididimários de mamíferos. *Acta Veterinaria Brasilica*, v.6, n.1, p.1-8, 2012.
- Villaverde, A. I. S. B.; Lopes, M. D. Inseminação artificial em gatos domésticos utilizando sêmen criopreservado. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.31, n.1, p.77-83, 2007.

## RPMI COMO MEIO PARA A CRIOPRESERVAÇÃO DE TECIDO OVARIANO DE GATA DOMÉSTICA (*Felis catus*)

[RPMI as the medium for the cryopreservation of domestic cat (*Felis catus*) ovarian tissue ]

Danielle Cristina Calado de Brito<sup>1,3\*</sup>, Silmara Leticia Gonçalves Lima<sup>1</sup>, Maria Hilma Soares Sodré<sup>1</sup>, Sheyla Farhayldes Souza Domingues<sup>1</sup>, Regiane Rodrigues dos Santos<sup>1,2</sup>, Julio César Pieczarka<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Biotecnologia e Medicina de Animais da Amazônia, UFPA, Brasil. \* Autor para correspondência. E-mail: danielcalado@gmail.com.

<sup>2</sup> Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Utrecht, Holanda.

<sup>3</sup>Laboratório de Citogenética Animal, UFPA, Brasil.

**ABSTRACT** - In a first experiment, ovarian tissue from three cats were vitrified in solutions containing RPMI, MEM, DMEM or TCM199 as basic medium, either or not supplemented with Trolox 50  $\mu$ M. Based on morphological analysis, it was observed that RPMI without trolox was the only medium that preserved the percentage of normal preantral follicles similar do control (79,6%). As the main difference between RPMI and the other media was the absence of phenol red and  $\text{CaCl}_2$  a second experiment was performed where ovarian tissue from three cats was vitrified in a solution containing RPMI as basic medium, either or not added by phenol red or  $\text{CaCl}_2$  alone or in combination. It was observed that phenol red supplementation led to follicular degeneration. Therefore, we conclude that RPMI is a best basic medium for vitrification of ovarian tissue from cat, mainly because it is a phenol red-free medium.

**Keywords:** vitrification; RPMI; morphology; phenol red.

**Palavras-Chaves:** vitrificação; RPMI; morfologia; vermelho fenol.

### INTRODUÇÃO

A criopreservação de tecido ovariano é indicada para a preservação para a restauração de populações de animais ameaçados de extinção (Wiedemann et al., 2013). Contudo, o sucesso desta técnica depende de inúmeros fatores (Lemma, 2011), um deles, muitas vezes negligenciado, consiste no meio-base de criopreservação. Desta forma, avaliamos a eficiência dos meios RPMI, MEM, DMEM e TCM199 sobre a vitrificação de tecido ovariano de gatas e o efeito da presença do vermelho fenol (comum indicador de pH) no meio de vitrificação sobre a morfologia de folículos pré-antrais (FOPA).

### MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi dividido em dois experimentos. No primeiro, nove fragmentos de tecido ovariano (2 mm<sup>3</sup>) de três gatas foram expostos à 20 °C por 5min a quatro tipos de meio-base (DMEM, MEM, TCM e RPMI) + 1 M etilenoglicol + 0.5 M sacarose (SC), adicionado ou não de trolox (50  $\mu$ M). A vitrificação foi realizada como descrito por Santos et al. (2006). Em suma, um fragmento controle foi imediatamente fixado

para análise morfológica. Os oito demais fragmentos foram expostos aos tratamentos, vitrificados e submetidos à análise morfológica. No segundo experimento, mais três gatas foram utilizadas e 5 fragmentos de tecido ovariano (2 mm<sup>3</sup>) foram obtidos por animal. Um fragmento ovariano controle foi fixado para análise histológica. Os quatro demais fragmentos foram expostos a quatro tratamentos: RPMI; RPMI +  $\text{CaCl}_2$ ; RPMI +Vermelho fenol; RPMI +  $\text{CaCl}_2$  +Vermelho fenol, vitrificados e submetidos à análise morfológica. Os dados foram analisados com ANOVA e teste *t* com  $P < 0.05$ .

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

No experimento I, a percentagem de folículos normais no fragmento controle (79,6%) foi similar ( $P > 0.05$ ) à observada após a exposição com o meio RPMI sem antioxidante (50%). A adição de trolox ao meio com RPMI reduziu a taxa de sobrevivência folicular produzindo apenas 25% de FOPAs com morfologia normal. Em gata o trolox 50 $\mu$ M não mostrou a mesma eficiência em combater o estresse oxidativo como em FOPAs de macaco-prego (Brito et al., 2014). Os FOPA degenerados do grupo controle apresentaram vacuolização oocitária com



núcleo degenerado, assim como os grupos expostos ao meio somente com RPMI, fenômeno relatado também por Oskam et al. (2010), após a criopreservação de tecido ovariano. Nos grupos restantes, tanto os folículos quanto o estroma do tecido exposto apresentaram vacuolização, degeneração e extração folicular. Após a comparação entre os componentes de todos os meios-base utilizados (DMEM, MEM, TCM e RPMI), foi observado que o que os diferenciavam, eram o vermelho fenol e o cloreto de cálcio. No experimento II, a percentagem de FOPA normais no fragmento controle foi de 67,1%, similar também aos meios com RPMI (50,3%) e o com RPMI + CaCl<sub>2</sub> (49,3%). Porém, a adição de vermelho fenol ao meio resultou em redução significativa na taxa de FOPA morfológicamente normais (25,4% e 14,1%, respectivamente para os meios com RPMI e o com RPMI + CaCl<sub>2</sub>). Os resultados indicam toxicidade do vermelho fenol como sugerido nos estudos realizados por Zhu et al. (2012), que relataram que o vermelho fenol é tóxico para células HELA em um meio de cultura celular livre de soro. Nosso meio de vitrificação não foi suplementado com soro, contudo, com o banimento do uso do soro em meios de cultivo e criopreservação, é crucial definir meios-base que suportem a sobrevivência folicular aos protocolos de vitrificação.

## CONCLUSÃO

Trolox 50µM, ao invés de agir como antioxidante, é um pro-oxidante para FOPA de gata doméstica. A presença do vermelho fenol em meio de vitrificação sem soro causa toxicidade para os FOPAs e estroma ovariano, sendo o RPMI o mais indicado meio-base.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Brito, d.c.; brito, a.b.; scalcio, s.r.; percário, s.; miranda, m.s.; rocha, r.m.; diniz, j.a.; oskam, i.c.; van den hurk, r.; paris, m.c.; domingos, s.f.; santos, r.r. Vitamin E-analog Trolox prevents endoplasmic reticulum stress in frozen-thawed ovarian tissue of capuchin monkey (*Sapajus apella*). *Cell Tissue Res*, v.355, p. 471- 480, 2014.
- Lemma, a. *Effect of Cryopreservation on Sperm Quality and Fertility*, Artificial Insemination in Farm Animals, p. 191-216, 2011.
- Oskam, i.c.; asadi, b.a.; santos, r.r. Histologic and ultrastructural features of cryopreserved ovine ovarian tissue: deleterious effect of 1,2-propanediol applying different thawing protocols. *Fertility and Sterility*, v. 93, p. 2764-2766, 2010.
- Santos, r.r.; tharasanit, t.; figueiredo, j.r.; van haefen, t.; van den hurk, r. Preservation of caprine preantral follicle viability after cryopreservation in sucrose and ethylene glycol. *Cell and Tissue Research*, v. 325, p. 523-531, 2006.
- Wiedemann, c.; zahmel, j.; jewgenow, k. Short-term culture of ovarian cortex pieces to assess the cryopreservation outcome in wild felids for genome conservation. *Bmc veterinary research*, v.9, p. 1-11, 2013.
- Zhu, y.; zhang, x.; zhu, j.; zhao, q.; li, y.; li, w.; fan, c.; huang, q. Cytotoxicity of phenol red in toxicity assays for carbon nanoparticles. *International Journal of Molecular Sciences*, v.13, p.12336–12348, 2012.

## USO DA ELETROEJACULAÇÃO NA REVERSÃO DE AGRESSIVIDADE A FÊMEAS EM ESTRO E ESTIMULAÇÃO DE COMPORTAMENTO SEXUAL EM GATO PERSA

*[Use of electroejaculation in reversing aggressively females in estrus and stimulation of sexual behavior in Persian tom cat]*

Ticiano Franco Pereira da Silva<sup>\*1</sup>, Ana Cristina Paulino Braga<sup>2</sup>, Lúcia Daniel Machado da Silva<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratório de Reprodução de Carnívoros, FAVET, Universidade Estadual do Ceará. \* Autor para correspondência. E-mail: ticifranco@hotmail.com.

<sup>2</sup> Serviço de Anestesiologia Veterinária- SAVE.

**ABSTRACT-** This study aimed to report a case of sexual stimulation behavior after electroejaculation (EEJ) in an extremely aggressive tom cat to queens in estrus. Two consecutive procedures of collection were performed in each day of collection (2 days) with 15 days intervals. Just a drop containing immobile sperm was obtained. However, after that, the male mated and fertilized 2 queens. The EEJ can be an alternative to reverse the aggression to females in estrus and stimulating sexual behavior in tom cats.

**Keywords:** tom cat; electroejaculation; sexual behavior.

**Palavras-Chave:** gato; electroejaculaçãocão; comportamento sexual.

### INTRODUÇÃO

O aumento da criação de gatos alavanca um mercado de produtos e serviços especializados, além de criar uma demanda por biotecnologias, a fim de potencializar a capacidade reprodutiva de seus animais (Silva Júnior, 2002). Dentre estas biotécnicas disponíveis, a electroejaculação (EEJ) é considerada o método de eleição para obtenção de sêmen felino. Este método possibilita análises andrológicas em animais de alto valor genético ou animais que não permitem avaliação sem anestesia devido à sua agressividade ou por não serem treinados para ejaculação em vagina artificial (Morato e Barnabe, 1998). Baseia-se na indução do reflexo ejaculador através de estímulos elétricos, com a introdução de uma sonda transretal lubrificada conectada a um estimulador elétrico, no assoalho da ampola retal do animal anestesiado. É considerado o método ideal para aplicação clínica em casos de questionamento por parte de criadores e proprietários da condição reprodutiva de seus animais (Platz e Seager, 1978). Agressividade a fêmeas em estro já foi relatado em gatos sem raça definida não castrados, embora o mesmo exibisse interesse pela fêmea, cheirando-a e realizando reflexo de Fleming durante o cortejo. Entretanto mesmo após quatro procedimentos de EEJ consecutivos não se observou reversão da agressividade, não sendo possível realização de monta natural (Silva, 2008). Assim, o objetivo deste

trabalho é relatar um caso de reversão de agressividade às fêmeas em estro e estímulo de comportamentos sexual com posteriores montas naturais em gato da raça Persa.

### MATERIAL E MÉTODOS

Um gato macho da raça Persa de 2 anos (5,5kg) de um gatil comercial localizado em Fortaleza (3° 44' S e 38° 34' O)- Gatil Sekhmetce, apresentava intensa agressividade a todas as fêmeas em estro às quais era apresentado para cópula, mesmo após período de adaptação em gaiolas próximas, não sendo possível realizar monta natural sob risco de vida da fêmea. Os procedimentos de EEJ foram realizados com intervalo de 15 dias com objetivo de coleta de sêmen e posterior inseminação artificial (IA). Foram realizados dois procedimentos consecutivos no mesmo plano anestésico em cada dia de coleta, intervalados por 10 minutos, segundo Axner et al. (1997). No primeiro dia de coleta, foi sedado com associação de cloridrato de cetamina (15 mg/Kg) e diazepam (0,25mg/kg) por via intramuscular. Após canulação, administrou-se cloreto de sódio (NaCl) a 0,9% e propofol (5mg/kg) em bolus, repetido segundo necessidade do procedimento. No 2º dia de coleta, procedeu-se sedação com tramadol (2mg/kg) e manutenção de anestesia com propofol. Para coleta do sêmen, foi utilizado um electroejaculador portátil (Eletrojet® - Electrovet®-Brasil), acoplado a uma sonda

transretal (13 x 1 cm) com os eletrodos voltados para o assoalho da ampola retal, previamente lubrificado com gel. Após a entrada em plano anestésico, o reto foi limpo de bolos fecais e a sonda introduzida cerca de 5 a 7 cm no reto, e então foram aplicados em cada procedimento de EEJ, 80 estímulos elétricos (de 20 a 60 mA) divididos em 3 séries. Entre cada série, foi realizado um intervalo de 5 minutos. O ejaculado de cada série de estímulos foi coletado em tubos plásticos de 1,5 mL e avaliado em microscopia de luz (100 e 400x). Para o segundo dia de procedimento, uma fêmea Persa no quarto dia de estro natural recebeu 250 UI de hCG a fim de se realizar IA.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

No primeiro dia de coleta, os procedimentos de EEJ resultaram na obtenção de uma gota de aproximadamente 5uL na segunda série do segundo procedimento contendo apenas poucos espermatozoides imóveis, permitindo-se apenas dizer que o animal possuía produção seminal. No segundo dia de coleta, não houve ejaculado para realização de inseminação artificial, somente foram eliminadas pequenas gotas levemente amareladas e sugestivas de urina. Ainda sob sedação, o animal foi deixado pelo proprietário na mesma gaiola que a fêmea e após cerca de 5 h em seu ambiente, realizou coberturas naturais várias vezes ao dia, durante 5 dias consecutivos com a mesma. Durante e após este período, o proprietário relatou extrema docilidade constante com pessoas e fêmeas (que se mantém após 9 meses da EEJ), gestando 2 gatas da mesma raça, uma com parição de 3 filhotes, e outra com gestação em curso de pelo menos 2 filhotes.

Não foram encontrados relatos de sucesso reversão de comportamento agressivo com uso da EEJ. Acredita-se que os estímulos elétricos realizados estimularam a libido e o comportamento sexual adequado deste animal, já que a EEJ baseia-se na indução do reflexo ejaculador promovendo estimulação do plexo pélvico e ereção (Silva, 2008).

### CONCLUSÃO

A EEJ pode ser uma alternativa para reversão de agressividade às fêmeas em estro e estimuladora de comportamento sexual padrão em gatos.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Axnér, E.; Holst Ström, B.; Linde-Forsberg, C. Sperm morphology is better in the second ejaculate than in the first in domestic cats electroejaculated twiceduring the same period of anesthesia. *Theriogenology*, v.47, p.929-934, 1997.
- Platz, C. C.; Seager, S. W. J. Semen collection by electroejaculation in the domestic cat. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 173, p.1353-1355, 1978.
- Silva-Júnior, F. X.; Aguiar, L.; Silva, F. M. O.; Monteiro, C.L.B.; Madeira, V. H. L.; Simões-Mattos, L.; Silva, L. D. M.; Mattos, M. R. F. Indução de estro em uma gata Persa. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*. Supl. 5, p. 159-161, 2002.
- Morato, R. G.; Barnabe, R. C. Biotécnicas de Reprodução Aplicadas à Preservação de Felídeos Selvagens. *Clinica Veterinária*, v. 12, p. 24-26, 1998.
- Silva, T.F.P. *Avaliação andrológica, métodos de coleta e tecnologia do sêmen de gatos domésticos utilizando água de coco em pó (ACP-117®)*. 2008. 164 p. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias)- Curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Estadual do Ceará.

## **Organismos Aquáticos**

## ANÁLISE CINÉTICA DO SÊMEN DE *Prochilodus brevis* CRIOPRESERVADO EM MÁQUINA DE CONGELAÇÃO PROGRAMÁVEL

[Kinetic analysis of *Prochilodus brevis* semen cryopreserved by programmable freezing machine]

Maria Daniele Vieira Matos<sup>\*1</sup>, João Paulo Silva Pinheiro<sup>1</sup>, Mayara Setúbal Oliveira<sup>1</sup>, Priscila Silva de Almeida<sup>1</sup>, Júlia Trugilho Lopes<sup>1</sup>, Carminda Sandra Brito Salmito-Vanderley<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Estadual do Ceará, Laboratório de Biotecnologia da Reprodução de Peixes. \*Autor para correspondência. E-mail: danielevm2013@outlook.com

**ABSTRACT** - The aim of this study was to evaluate the association of different seminal diluents on cryopreservation of *P. brevis* sperm using programmable freezing machine. It was used nine males hormonally induced. After induction, the sperm was collected and diluted in Glucose or BTS + DMSO, transferred to a programmed freezing machine, stored in liquid nitrogen, thawed and evaluated with the Sperm Class Analyzer. Data were analyzed by ANOVA followed by Tukey test ( $p > 0,05$ ). Sperm motility was reduced after cryopreservation, comparing to the fresh sperm (98,10 %) ( $P < 0,05$ ). Between treatments, the total motility rate was increased when BTS was used (44,10%) compared to glucose (22,78%). Regarding sperm velocities, the fresh sperm presented higher values ( $P > 0,05$ ) than cryopreserved sperm, however, there was no difference between treatments ( $P < 0,05$ ). Therefore, the semen of *P. brevis* can be cryopreserved in BTS associated with DMSO, ensuring good rates of total motility and sperm velocity

**Keywords:** fish; reproduction; curimatã.

**Palavras-Chave:** peixe; reprodução; curimatã.

### INTRODUÇÃO

A espécie *Prochilodus brevis* (curimatã comum), distribui-se em bacias hidrográficas interiores e costeiras do nordeste brasileiro, que drenam parcialmente ou estão inteiramente localizadas na Caatinga (Rosa et al., 2005). É uma espécie de peixe dulcícola nativa da região semiárida do Brasil e a compreensão da sua biologia reprodutiva é importante para a sua conservação e gestão (Nascimento et al., 2012).

Diante de seu interesse ecológico e econômico, surge nos pesquisadores o interesse do estudo da criopreservação dos seus gametas (Salmito-Vanderley, 2012).

Portanto, este trabalho teve como objetivo avaliar a cinética espermática do sêmen criopreservado de *P. brevis* em máquina de congelação programável utilizando os diluentes Glicose ou *Beltisville Thawing Solution* – BTS associado ao crioprotetor Dimetilsulfóxido, o mais utilizado em sêmen de Characiformes.

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados nove machos de curimatã comum (*P. brevis*) induzidos hormonalmente com única dose de extrato hipofisário de carpa comum (EHC: 3mg/Kg de peso vivo) na base da nadadeira peitoral, via intracelomática. Decorrido 18 horas da indução foi realizada a coleta seminal. O sêmen foi coletado em tubos graduados de polietileno e acondicionados em caixa térmica de poliestireno (~10 °C). Amostras contaminadas com água, sangue, urina ou fezes foram descartadas e utilizadas para a congelação amostras com motilidade superior a 80% pós-ativação.

O sêmen de cada *pool* (n= 3) foi diluído, na proporção 1:6 (sêmen: diluidor), em dois tratamentos: T1) Glicose + DMSO; T2) BTS + DMSO, sendo envasado em palhetas de 250µL e levadas ao freezer (~10 °C) por 10 minutos. As amostras foram transferidas para máquina de congelação programada (Dominium K, BIOCUM®, Brasil), sendo submetidas a duas rampas de congelação durante o processo (rampa 1: -12 °C/min.; rampa 2: -3 °C/min) até atingir

temperatura final de  $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$ , e serem transferidas para o botijão de nitrogênio líquido.

Após 10 dias, o sêmen foi descongelado em banho-maria a  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 30s. Foram avaliados parâmetros de: motilidade total; velocidade curvilínea (VCL); – velocidade em linha reta (VSL); e velocidade média do percurso (VAP) com o auxílio do software *Sperm Class Analyzer* (SCA®, versão 5.0, Microptics S.L., Barcelona, Espanha).

Os dados foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão e analisados por meio de análise de variância seguida pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de significância, utilizando o programa estatístico ASSISTAT® versão 7.6 beta (2013). O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética (CEUA) com o seguinte número de processo: 12776936-6.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

O sêmen *in natura* mostrou taxa de motilidade ( $98,10 \pm 1,44^a$ ) significativamente superior quando comparado a todos os tratamentos. Quando os tratamentos foram comparados entre si, a motilidade do diluente BTS ( $44,10 \pm 5,66^b$ ) mostrou-se superior ( $P < 0,05$ ) em relação ao diluente glicose ( $22,78 \pm 7,48^c$ ). Murgas et al. (2007) trabalhando com outra espécie do gênero *Prochilodus* utilizando o mesmo diluidor obteve resultados diferentes, sugerindo assim que existe uma determinada especificidade, em se tratando de congelamento seminal, para cada espécie em estudo. No tocante às velocidades espermiáticas ( $\mu\text{m. s}^{-1}$ ), o sêmen *in natura* apresentou valores superiores de VCL ( $125,73 \pm 12,29^a$ ), VSL ( $71,83 \pm 1,9^{0a}$ ) e VAP ( $109,37 \pm 7,94^a$ ), se comparado aos tratamentos, no entanto não houve diferença significativa de VCL, VSL e VAP entre os tratamentos BTS ( $41,72 \pm$

$0,71^b$ ;  $24,58 \pm 2,06^b$ ;  $35,70 \pm 0,96^b$ ) e Glicose ( $35,67 \pm 1,73^b$ ;  $20,96 \pm 2,22^b$ ;  $29,53 \pm 2,02^b$ ) respectivamente. Tal achado também foi observado por Leite (2011) ao congelar sêmen de *Collossoma macropomum*.

### CONCLUSÕES

O sêmen de *P. brevis* pode ser criopreservado em máquina de congelamento programável utilizando o BTS associado ao crioprotetor DMSO, pois confere boas taxas de motilidade total e de velocidades espermiáticas.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Leite, L.V.; Oliveira, F. C.E.; Nunes, L.T.; Nunes, J.F.; Salmito-Vanderley, C.S.B. Criopreservação de sêmen de tambaqui com ACP® adicionado de gema de ovo. *Revista Brasileira de Engenharia de Pesca*, v. 6, n. 2, p.23-29, 2011
- Murgas, L.D.S.; Miliorini, A.B.; Freitas, R.T.F.; Pereira, G.J.M. Criopreservação do sêmen de curimba (*Prochilodus lineatus*) mediante adição de diferentes diluidores, ativadores e crioprotetores. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.36, n.3, p.526-531, 2007.
- Nascimento, M. M.; Nascimento, W. S.; Chellappa, N. T.; Chellappa S. Biologia reprodutiva do curimatã comum, *Prochilodus brevis* (Characiformes: Prochilodontidae) no açude Marechal Dutra, Rio Grande do Norte, Brasil. *Biota Amazônia*, v. 2, n. 2, p. 31-43, 2012.
- Rosa, R. S.; Menezes, N. A.; Britski, H. A.; Costa, W. J. E. M.; Groth, F. Diversidade, padrões de distribuição e conservação dos peixes da Caatinga. In: Leal, I. R.; Tabarelli, M. And Silva, J. M. C. (eds). *Ecologia e Conservação da Caatinga*. Editora UFPE, Brazil, p. 135-180, 2005.
- Salmito-Vanderley, C.S.B.; Vieira, M.J.A.F.; Leite, L.V.; Oliveira, F.C.E.; Linhares, F.R.A.; Salgueiro, C.C.M.; Nunes, J.F. Meios de congelamento para conservação de sêmen de peixes da família Characidae. *Ciência Animal*, v. 22, p. 687-690, 2012.

## AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE GLICOSE, CLORETO E TRIGLICERÍDEO NO PLASMA SEMINAL DE TAMBAQUI E PIRAPITINGA

[Evaluation of the presence of glucose, triglyceride and chloride in seminal plasma of tambaqui and pirapitinga]

Jordana Sampaio Leite\*<sup>1</sup>, Mônica Aline Parente Melo-Maciel<sup>1</sup>, Rômulo Roberto Ribeiro Pinheiro<sup>1</sup>, João Paulo Silva Pinheiro<sup>1</sup>, Carmina Sandra Brito Salmito-Vanderley<sup>1</sup>, José Ferreira Nunes<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Estadual do Ceará. \*Autor para correspondência: E-mail: Jordanasleite@gmail.com.

**ABSTRACT-** The main of this study was to evaluate the presence of glucose, triglyceride and chloride in seminal plasma of tambaqui and pirapitinga. The males of both species were hormonally induced spermiation with a crude extract of carp pituitary. After collecting the semen remained on ice until the time of centrifugation. The obtained plasma was performed by centrifugation of the sperm at 4 °C at 4500 rpm /15 min. The plasma was stored at -80 °C until analysis. For biochemical analyzes commercial kits were used. Thus, it is concluded that tambaqui and pirapitinga have glucose, triglyceride and chloride in the composition of their seminal plasma.

**Keywords:** biochemistry; semen; reproduction; *Colossoma macropomum*; *Piaractus brachypomus*.

**Palavras-Chave:** bioquímica; sêmen; reprodução; *Colossoma macropomum*; *Piaractus brachypomus*.

### INTRODUÇÃO

O tambaqui (*Colossoma macropomum*) e a pirapitinga (*Piaractus brachypomus*) são peixes teleósteos pertencentes à família dos Characídeos, nativos da América do Sul. Os Characídeos são animais de grande importância comercial bem como ornamental, na alimentação, pesca, aquicultura e pesca esportiva (Godinho & Viveiros, 2011). O conhecimento bioquímico do sêmen de peixes torna-se importante, pois auxilia na caracterização e diferenciação da composição bioquímica do sêmen de outras classes de animais (Jamieson, 1991). Esses estudos permitem a identificação de compostos orgânicos e inorgânicos do fluido seminal, entre íons, aminoácidos livres, lipídeos, carboidratos e proteínas. Dessa forma o objetivo desse estudo foi avaliar a presença de cloreto, glicose e triglicerídeo no plasma seminal de tambaqui e pirapitinga.

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados nove machos de tambaqui e 12 machos de pirapitinga provenientes do plantel do Departamento Nacional de Obras Contra as Secas (DNOCS) localizado em Pentecoste-CE a 82 km de Fortaleza-CE. Os animais foram induzidos hormonalmente com uma dose de extrato de hipófise de carpa (2mg/kg peso vivo), 14 horas antes da

coleta de sêmen. Para a coleta, os animais foram sedados, utilizando solução à base de óleo de cravo. Foram selecionadas as amostras seminais que não estavam contaminadas com água, fezes, urina ou sangue, bem como as que apresentavam um percentual superior a 80% de espermatozoides móveis, em análise subjetiva, após adição de água do tanque. Após a coleta, as amostras permaneceram em gelo (~5 °C) até o momento da centrifugação. Para obtenção do plasma, o sêmen foi centrifugado em centrífuga refrigerada (Eppendorf, 5810r) a 4500rpm/15min a 4 °C. O sobrenadante (plasma) foi coletado e congelado a -80 °C. As concentrações de glicose, triglicerídeo e cloreto, foram determinadas por métodos de analisador automático do tipo espectrofotômetro (Biospectro, SP-22) usando kits de análise comercial (Labtest, Liquiform).

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

A composição do plasma seminal de ambas as espécies estão apresentadas na Tabela 01. A dominância no plasma seminal das duas espécies foi de cloreto, segundo Piironen & Hyvarinen (1983) os íons Cl<sup>-</sup> são predominantes no plasma seminal de peixes teleósteos, apresentando altas concentrações. A média de glicose no presente estudo foi 2,89±1,32 mg dL<sup>-1</sup> para tambaqui e 20,27±14,11 mg dL<sup>-1</sup> para pirapitinga. Soengas et

al. (1993) explica que a presença de glicose no plasma seminal tem sido relacionada a alta energia demandada dos testículos durante a espermatogênese. Em relação aos triglicerídeos, de acordo com Lahnsteiner et al. (2004), estes são a fonte de energia necessária aos espermatozoides

durante sua imobilidade nos testículos e na fase de pós motilidade. A quantidade de triglicerídeos de ambas as espécies estudadas foi superior a relatada por Bozkurt et al., (2008) que obtiveram  $14,85 \pm 1,50 \text{ mg dL}^{-1}$  para carpa capim (*C. idella*).

Tabela 1. Composição de cloreto, glicose e triglicerídeo no plasma seminal de tambaqui e pirapitinga.

Parâmetros	Tambaqui	Pirapitinga
Cloreto $\text{mg dL}^{-1}$	$437,61 \pm 24,76$	$376,35 \pm 66,02$
Glicose $\text{mg dL}^{-1}$	$2,88 \pm 1,32$	$20,26 \pm 14,11$
Triglicerídeo $\text{mg dL}^{-1}$	$45,38 \pm 9,96$	$25,72 \pm 10,36$

### CONCLUSÃO

Tambaqui e pirapitinga apresentam cloreto, glicose e triglicerídeo na constituição do plasma seminal.

### REFERÊNCIAS

Godinho Hp, Viveiros Atm. Current Status of Sperm Cryopreservation of Brazilian Characiform Fishes. In: Cryopreservation in Aquatic Species, Tiersch TR, Green CC (Ed.), *World Aquaculture Society*, p. 875-884, 2011.

Jamieson, Bgm. Fish evolutions and systemics: evidence from spermatozoa. Cambridge: *Cambridge University*, 1991.139p.

Lahnsteiner, F., Mansour, N., & Berger, B. (2004). Seminal plasma proteins prolong the viability of Rainbow trout

(*Oncorhynchus mykiss*) spermatozoa. *Theriogenology*, 62, 801-808.

Soengas, J.L., Sanmartin, B., Barciela, P., Aldegunde, M., & Rozas, G. (1993). Changes in carbohydrate metabolism in domesticated Rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* related to spermatogenesis. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 105, 665-671

Bozkurt, Y., Ogretmen, F., Erein, U., & Yildiz, M. (2008). Seminal plasma composition and its relationship with physical spermatological parameters of Grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) semen: with emphasis on sperm motility. *Aquaculture Research*, 39, 1666-1672.

PIIRONEN, J., & HYVARINEN, H. (1983). Composition of the milt of some teleost fishes. *Journal of Fish Biology*, 22, 351-361.



## AVALIAÇÃO DE DIFERENTES DILUENTES SOBRE A MORFOLOGIA DO SÊMEN PÓS-DESCONGELAÇÃO DE CURIMATÃ

[Evaluation of different extender on the morphology of thawed sperm of curimatã]

Yasmim Maia Ferreira<sup>1\*</sup>, João Paulo Silva Pinheiro<sup>1</sup>, Rômulo Roberto Ribeiro Pinheiro<sup>1</sup>, Mayara Setúbal Oliveira<sup>1</sup>, Mônica Aline Parente Melo-Maciel<sup>1</sup>, Carminda Sandra Brito Salmito-Vanderley<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Estadual do Ceará, Laboratório de Biotecnologia da Reprodução de Peixes - Fortaleza – Ceará – Brasil.

\*Autor para correspondência. E-mail: yasmim.maia@ymail.com.

**ABSTRACT** - The aim of this study was to evaluate the effects of different extenders on spermiatic morphology of cryopreserved curimatã sperm. Adult males (n=9) were hormonally induced to spermiation using carp pituitary extract. From the collected sperm, one aliquote was fixed to morphological analysis and another one was frozen using glucose 5% (T1) or BTS (T2) added to Dimethylsulphoxide (DMSO). Ten days after the cryopreservation, the frozen samples were thawed in water bath (25 °C for 30s<sup>-1</sup>) and fixed to morphological analysis. A significant reduction in the rate of morphologically normal spermatozoa in fresh sperm (99.7 ± 0.5%) was observed when compared with semen treated with BTS (76 ± 7.5%). This reduction was more pronounced in semen treated with glucose plus DMSO (67.5 ± 4.9%). Thus the use of the extender BTS plus 10% DMSO is recommended as a diluent for cryopreservation of curimatã sperm.

**Keywords:** fish; extender; morphology; freezing; *Prochilodus brevis*.

**Palavras-Chave:** peixe; diluentes; morfologia; congelação; *Prochilodus brevis*.

### INTRODUÇÃO

*Prochilodus brevis*, popularmente conhecido como curimatã comum, é uma espécie endêmica da região semiárida brasileira (Gurgel et al. 2012). No entanto, o barramento dos rios que impedem as migrações da espécie, põe em risco a sobrevivência desses animais (Nascimento et al., 2012). Diante disto, para minimizar os efeitos dessa ação antrópica sobre a reprodução de peixes, técnicas de reprodução artificial têm sido elaboradas, como por exemplo, a congelação seminal.

A glicose é comumente utilizada para a congelação do sêmen de peixes de água doce, sendo o mais utilizado (Murgas et al., 2007). Porém, o *Beltsville Thawing Solution*<sup>®</sup> - BTS, apesar de ter sido desenvolvido para o sêmen suíno, foi utilizado com sucesso em pesquisas com peixes de piracema (Viveiros E Godinho, 2011). Esses diluentes são sempre utilizados associados com soluções crioprotetores, possibilitando a redução das crioinjúrias.

A avaliação morfológica dos espermatozoides de peixes pode caracterizar amostras seminais, e explicar insucessos de reprodutores tidos como

aptos após análises convencionais de motilidade espermática (Miliorinni, 2006).

Portanto, este trabalho teve por objetivo avaliar o efeito dos diluentes BTS e Glicose 5% acrescida de dimetilsulfóxido (DMSO) sobre a morfologia do sêmen pós-descongelação de curimatã.

### MATERIAL E MÉTODOS

Nove animais tiveram a espermição induzida pelo extrato hipofisário de carpa em dosagem única de três mg por quilo de peso vivo (via injeção intracelomática) 18h antes da coleta de sêmen. Somente as amostras válidas (sem contaminação com sangue, fezes e urina e motilidade superior a 85% após ativação com água do tanque) foram utilizadas para o experimento.

Do sêmen coletado formaram-se três *pools*, em que uma alíquota foi fixada para análise morfológica e o restante foi destinado a congelação em glicose 5% (T1) e BTS (T2) acrescidas de 10% de Dimetilsulfóxido (DMSO).

O sêmen diluído foi envasado em palhetas de 0,25 mL, mantido a 10 °C por 10 min, submetido a vapor de nitrogênio líquido em *Dry shipper* (-

170°C) por 15 min e transferido para um botijão criogênico (-196°C).

As amostras foram descongeladas após 10 dias (banho-maria a 25 °C por 30s). Fixadas em solução de citrato de sódio formolizado a 4%, para análise das morfopatologias, sendo realizado o esfregaço pela deposição de 4 µL de sêmen diluído em corante rosa bengala na proporção de 5:1 (sêmen: corante). Foram observados 200 espermatozoides em duas lâminas por meio de microscopia ótica (400X).

Os dados de morfologia foram expressos como média ± desvio padrão submetidos à análise de variância (ANOVA) seguido pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ) utilizando o programa estatístico ASSISTAT® versão 7.6 beta (2013).

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao analisar o sêmen fresco, observou-se uma maior taxa de espermatozoides normais ( $99,7 \pm 0,5^a$  %) em relação ao sêmen criopreservado. Já ao comparar entre as diferentes soluções criodiluidoras, o diluidor BTS mais DMSO ( $76 \pm 7,5\%$ ) proporcionou uma maior taxa de espermatozoides normais quando comparado ao diluidor glicose mais DMSO ( $67,5 \pm 4,9\%$ ).

A presença de anormalidades espermáticas pode estar relacionada com a deficiência nutricional, idade dos reprodutores, variações ambientais e genéticas como por falhas durante a espermatogênese. Essas anormalidades observadas no sêmen também podem ser devido à

manipulação, à fixação com solução formolizada, técnica de esfregaço ou influência do corante (Miliorini, 2006).

### CONCLUSÃO

Nas condições em que esse experimento foi realizado, mostra-se mais adequado a congelamento de sêmen de curimatã comum (*P.brevis*) em solução diluidora BTS associado ao DMSO.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Gurgel, L.L.; Verani, J.R.; Chellappa, S. Reproductive ecology of *Prochilodus brevis* an endemic fish from the semiarid region of Brazil. *The Scientific World Journal (Ecology Domain)*, p. 1-7, 2012.
- Miliorini, A.B. *Ativadores e concentrações de metanol e dimetilsulfoxido na qualidade do sêmen criopreservado de curimba (Prochilodus lineatus)*. 2006. 99 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2006.
- Murgas, L.D.S.; Miliorini, A.B.; Freitas, R.T.F.; Pereira, G.J.M. Criopreservação do sêmen de curimba (*Prochilodus lineatus*) mediante adição de diferentes diluidores, ativadores e crioprotetores. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.36, n.3, p.526-531, 2007.
- Nascimento, M.M.; Nascimento, W.S.; Chellappa, N.T.; Chellappa, S. Biologia reprodutiva do curimatã comum, *Prochilodus brevis* (Characiformes: Prochilodontidae) no açude Marechal Dutra, Rio Grande do Norte, Brasil. *Biota Amazônia*, v. 2, n. 2, p. 31-43, 2012.
- Viveiros, A.T.M. E Godinho, H. P. E. Current Status of Sperm cryopreservation of Brazilian Characiform Fishes. In: *Cryopreservation in Aquatic Species*, 2nd Edition. T. R. Tiersch and C. C. Green, editors. World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana. Pp. 875-884, 2011.

## CARACTERIZAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO EM CARPA COMUM ATÉ O FECHAMENTO DO BLASTÓPORO EM LATITUDE EQUATORIAL

[Characterization of embryonic development in common carp until the closing of the blastopore in equatorial latitude]

Francisco Renan Aragão Linhares<sup>1\*</sup>, Priscila Silva de Almeida<sup>1</sup>, Larissa Teixeira Nunes<sup>1</sup>, Maria Eduarda Magalhães de Souza<sup>1</sup>, José Ferreira Nunes<sup>1</sup>, Carminda Sandra Brito Salmito-Vanderley<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Estadual do Ceará. \*Autor para correspondência. E-mail: renan.aragao@hotmail.com.

**ABSTRACT** - Authors reported the embryonic stages of carp in regions of the Brazilian semi-arid. The objective of this study was to characterize the embryonic development of common carp in equatorial latitude. The oocytes were fertilized with a pool of semen for two minutes. To remove stickiness of the oocytes, the samples were treated with 3g of urea and 4g of NaCl per liter of water for one hour and tannic acid (0.5g/L) for 20s. The embryos were transferred to incubators for steady flow. Embryonic development was monitored every half hour in a petri dish for observation under stereoscope. The first cleavage occurred at 3h, the morula stage occurred at 3h30min, the blastula at 4h, the gastrula at 5h and blastopore closure at 11h after fertilization. However, the larvae hatching did not occur because of high temperatures and large amount of zooplankton in the water.

**Key words:** *Cyprinus carpio*; fertilization; characterization of embryonic.

**Palavras-Chave:** *Cyprinus carpio*; fertilização; caracterização embrionária.

### INTRODUÇÃO

O amplo conhecimento da biologia da espécie *Cyprinus carpio* favoreceu o emprego de técnicas reprodutivas artificiais. Dentre estas, destaca-se a fertilização assistida artificial no qual se baseia na mistura de gametas masculinos e femininos coletados. Posteriormente, os embriões são transferidos para um sistema de incubação, desenvolvido de acordo com as especificidades do animal. É importante ressaltar que o suprimento de oxigênio, temperatura adequada e fluxo contínuo de água são fundamentais para o desenvolvimento embrionário regular.

Do exposto, verifica-se que não existe na literatura relatos sobre a caracterização do desenvolvimento embrionário da espécie em latitude equatorial, tornando-se fundamental a caracterização da embriologia da espécie para a realização de pesquisas posteriores. Assim, o objetivo deste trabalho foi caracterizar o desenvolvimento embrionário de carpa comum em latitude equatorial (3°45'00" de latitude sul e 39°10'24" de longitude oeste).

### MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização da fertilização, os ovócitos foram obtidos de uma fêmea submetida a duas doses de 0,5 e 4,5 mg/Kg de peso vivo de extrato de pituitária de carpa (EPC) num intervalo de doze horas. A amostra coletada foi pesada em balança digital para estimar o número relativo de ovócitos por grama. Em seguida, foi formado um *pool* de sêmen fresco, oriundo de três machos não induzidos hormonalmente. A partir da coleta dos gametas, três alíquotas de 5g de ovócitos (aproximadamente 3900 ovócitos) foram separadas e fertilizadas com uma dose estimada de 200.000 espermatozoides por ovócito.

Inicialmente, os gametas foram misturados suavemente durante dois minutos com auxílio de uma pena de ave a fim de evitar injúrias nos gametas. Após este período, as amostras foram tratadas com solução contendo 3 g de ureia e 4 g de NaCl para cada litro de água para a remoção da adesividade dos ovócitos. Durante uma hora, 100 mL da solução citada foi acrescentada e substituída durante todo o período. Depois da exposição à ureia, os embriões foram lavados com 100 mL de solução de ácido tânico (5g/L) durante 20s, sendo removido em seguida (Billard et al., 1995).

Posteriormente os embriões foram transferidos para incubadoras de fluxo constante com capacidade para 20 L (28-29 °C), de forma a garantir a movimentação constante destes, evitando a deposição no fundo da incubadora. O acompanhamento do desenvolvimento embrionário foi realizado a cada meia hora. Para tanto, os embriões foram removidos das incubadoras com auxílio de uma peneira e depositadas em placa de petri para observação em microscópio estereoscópio, equipado com uma câmera fotográfica digital, a fim de documentar e melhor visualiza-los.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

O tipo de clivagem que a espécie apresentou foi meroblástica discoidal e o desenvolvimento embrionário apresentou três períodos bem definidos, divididos em mórula, blástula e gástrula. A primeira divisão (estádio com 2 células) ocorreu com 3 horas, o estágio de mórula com 3 horas e 30

minutos, blástula com 4 horas, gástrula com 5 horas e fechamento do blastóporo com 11 horas pós-fertilização a uma temperatura de  $30,24 \pm 0,61$  °C (Figura 1).

O desenvolvimento embrionário incompleto e a não eclosão de larvas podem ter sido influenciadas tanto pelas altas temperaturas como pela grande quantidade de zooplâncton, que se apresentavam dentro de embriões em degeneração durante as observações. A temperatura é um fator importante de determinação de má formação nas larvas, pois segundo Moreira et al. (2001), a temperatura ótima da água para se realizar a reprodução induzida das carpas comuns situa-se entre 22 a 28 °C. Assim, a temperatura encontrada no presente trabalho está fora dos padrões de outros estudos na área de desenvolvimento inicial de carpas, podendo ter ocasionado má formação dos embriões e não eclosão.

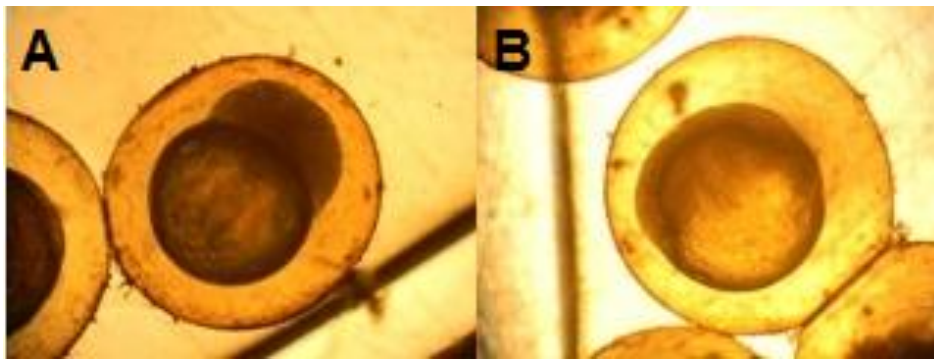


Figura 1. Estágios do desenvolvimento embrionário de carpa comum (*Cyprinus carpio*). (A) Formação de blástula, (B) formação de gástrula.

### CONCLUSÃO

O desenvolvimento embrionário ocorreu de forma regular até o fechamento do blastóporo e a velocidade do desenvolvimento sofreu influência da temperatura elevada da água.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Billard, R.; Cosson, J.; Perchee, G.; Linhart, O. Biology of sperm and artificial reproduction in carp. *Aquaculture*, v. 129, p. 95-112, 1995.
- Moreira, H. L. M.; Vargas, L.; Ribeiro, R. P.; Zimmermann, S. *Fundamentos da moderna aquicultura*. Canoas: ULBRA, 2001, 200 p.

## COMPARAÇÃO ENTRE CONTAGEM DE NÚMERO DE ESPERMATOZOIDES POR LÂMINA NO SÊMEN FRESCO DE CURIMATÃ COMUM

[Comparison of counting the number of sperm per slide in fresh semen common curimatã]

Larissa Teixeira Nunes<sup>1\*</sup>, Rômulo Roberto Ribeiro Pinheiro<sup>1</sup>, Maria Daniele Vieira Matos<sup>1</sup>, José Agenor Soares Galvão<sup>2</sup>, José de Souza Júnior<sup>3</sup>, Carminda Sandra Brito Salmito-Vanderley<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Estadual do Ceará, Laboratório de Biotecnologia da Reprodução de Peixes - Fortaleza – Ceará. \* Autor para correspondência: E-mail: larissatn.br@hotmail.com.

<sup>2</sup> Departamento Nacional de Obras Contra as Secas - Pentecoste - Ceará – Brasil.

<sup>3</sup> Universidade Federal do Ceará, Centro de Biotecnologia Aplicada à Aquicultura - Fortaleza - Ceará – Brasil.

**ABSTRACT** - *Prochilodus brevis* is a species from a semiarid region of northeastern Brazil. Due to its economic and ecological importance, interest about its reproduction in captivity is growing. The morphological analysis of sperm cells is widely used to assess sperm quality. Thus, the present study aimed to compare the count of 50, 100, 150 and 200 sperm in one and two slide in the analysis of sperm morphology common curimatã. Therefore, the semen of eight males curimatã was collected and fixed in formalin citrate then stained with Rose Bengal. Sixteen smears, two per animal were made. With the support of an optical microscope, we counted 50, 100, 150 and 200 sperm per slide. According to the results, it is conclude that reliable for morphologic evaluation of semen from common curimatã, counting from 100 sperm in only one slide.

**Keywords:** *Prochilodus brevis*; reproduction; morphology; count; comparison.

**Palavras-Chave:** *Prochilodus brevis*; reprodução; morfologia; contagem; comparação.

### INTRODUÇÃO

A curimatã comum (*Prochilodus brevis* Steindachner, 1875) é uma espécie migratória, nativa da região semiárida do Brasil (Gurgel, et al. 2012). Possui importância ecológica, uma vez que é elemento fundamental para a composição do ecossistema fluvial (Taylor et al., 2006). Atualmente, sua sobrevivência encontra-se ameaçada devido a fatores como a construção de barragens, que impede sua migração, além da pesca predatória, resultante de seu interesse econômico, que ocorre principalmente no período reprodutivo. (Nascimento et al., 2012). No entanto, ainda há pouco conhecimento sobre sua reprodução em cativeiro, elevando o interesse pelo aperfeiçoamento de técnicas para avaliação da qualidade seminal, sendo a análise da morfologia dos espermatozoides um parâmetro bastante utilizado.

Portanto, neste trabalho, objetivou-se comparar a contagem de 50, 100, 150 e 200 espermatozoides em uma e duas lâminas na análise da morfologia espermática de curimatã comum.

### MATERIAL E MÉTODOS

Para este trabalho foram utilizados oito machos de curimatã comum em idade reprodutiva. Antecedendo 18 horas da coleta, os animais receberam três mg de extrato hipofisário de carpa por kg de peso vivo para induzir a espermição. Cada animal foi sedado e contido em decúbito lateral, teve a papila urogenital devidamente seca e limpa com papel toalha e então aplicou-se leve compressão abdominal no sentido crânio caudal para liberação do sêmen, que foi coletado em tubos graduados. Somente as amostras que não apresentaram contaminação com sangue, fezes, urina e água foram utilizadas no experimento. Uma alíquota de 10µL do sêmen *in natura* foi fixada em 500µL de formol citrato e desta mistura retirou-se 10µL adicionando, em seguida, 1µL do corante Rosa Bengala para cada lâmina. Foram confeccionados 16 esfregaços, dois por animal. Posteriormente, contou-se 50, 100, 150 e 200 espermatozoides por lâmina, com auxílio de microscópio de luz, em aumento de 400x.

Os dados foram expressos como média ± desvio padrão e analisadas por meio de análise de variância seguido pelo teste de Tukey ( $p < 0,001$ )

para identificar diferenças significativas utilizando o programa estatístico ASSISTAT® versão 7.6 beta (2013).

### RESULTADOS

Os resultados encontrados neste estudo podem ser visualizados na Tabela 1. A contagem de 50

espermatozoides/lâmina apresentou-se estatisticamente inferior quando comparada às demais (100, 150 e 200 espermatozoides/lâmina), que por sua vez não diferiram entre si ( $p < 0,001$ ). Ao comparar a contagem de apenas uma ou duas lâminas por animal também não houve diferença ( $p < 0,001$ ).

Tabela 1. Contagem de 50, 100, 150 e 200 espermatozoides em uma e duas lâminas na análise da morfologia espermática (% normais) de curimatã comum (*Prochilodus brevis*).

Sptz/lâmina	Lâmina 1	Lâmina 2
50	90,87 ± 4,15 <sup>a A</sup>	88,25 ± 6,45 <sup>a A</sup>
100	84,63 ± 3,06 <sup>b A</sup>	80,62 ± 4,13 <sup>b A</sup>
150	81,88 ± 4,95 <sup>b A</sup>	80,21 ± 4,14 <sup>b A</sup>
200	82,38 ± 1,72 <sup>b A</sup>	81,67 ± 3,65 <sup>b A</sup>

Letras minúsculas distintas na mesma coluna e maiúsculas na mesma linha indicam diferença significativa ( $p < 0,001$ ).

### CONCLUSÃO

Para avaliação morfológica do sêmen de curimatã comum, é confiável a contagem a partir de 100 espermatozoides em uma única lâmina.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Gurgel, L.L., Verani, J. R.; Chellappa, S. Reproductive ecology of *Prochilodus brevis* an endemic fish from the semiarid region

of Brazil. *The Scientific World Journal (Ecology Domain)*, p. 1-7, 2012.

Nascimento, M.M.; Nascimento, W.S.; Chellappa, N.T.; Chellappa, S. Biologia reprodutiva do curimatã comum, *Prochilodus brevis* (Characiformes: Prochilodontidae) no açude Marechal Dutra, Rio Grande do Norte, Brasil. *Biota Amazônia*, v. 2, n. 2, p. 31-43, 2012.

Taylor, B. W.; Flecker, A. S.; Hall Jr.; R. O. Loss of a harvested fish species disrupts carbon flow in a diverse tropical river. *Science*, n. 313, 833-836, 2006.

## CONCENTRAÇÃO IDEAL DE UREIA UTILIZADA NA REMOÇÃO DA ADESIVIDADE DOS OVÓCITOS DE CARPA COMUM (*Cyprinus carpio*)

[Optimal concentration of urea used in removing the stickiness of oocytes of common carp (*Cyprinus carpio*)]

Priscila Silva de Almeida<sup>1\*</sup>, Francisco Renan Aragão Linhares<sup>1</sup>, Jordana Sampaio Leite<sup>1</sup>, Renata Vieira do Nascimento<sup>1</sup>, Yasmim Maia Ferreira<sup>1</sup>, Carminda Sandra Brito Salmito-Vanderley<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Estadual do Ceará. \*Autor para correspondência. E-mail: priscilla\_vs@hotmail.com.

**ABSTRACT** - The artificial propagation of common carp (*Cyprinus carpio*) is very complex due to the adherence that usually occurs among the oocytes in the water, being necessary to add a specific solution to avoid it. The most commonly used solutions are 3g or 20g of urea. Therefore, the aim of this study was to define the optimal concentration of urea to dissociate oocytes of common carp. Oocytes were divided into two treatments: 3% urea (T1) and 20% urea (T2). To each set of oocytes it was added 100mL of the respective urea solution at 0, 3, 6, 10, 15 and 30 minutes, and after all, tannic acid for 20s. The treatments were rinsed three times with tank water. The solution containing 3g of urea removed efficiently stickiness of common carp oocytes compared to the solution containing 20g of urea.

**Keywords:** fish; female gametes; desegregation.

**Palavras-Chave:** peixe; gameta feminino; desagregação.

### INTRODUÇÃO

Constatando a pobreza da ictiofauna do semiárido nordestino, o brasileiro Rodolfo von Ihering, diretor da Comissão Técnica de Piscicultura do Nordeste, passou a estudar inúmeras espécies de peixes de outras bacias hidrográficas, a partir de 1935, com o objetivo de introduzi-las na região. Dentre as espécies de alto valor comercial, destaca-se a carpa comum (*Cyprinus carpio* vr *hungaricus*) trazida da Hungria em 1986 (Dnocs, 2009). Nesse contexto, o desenvolvimento de técnicas reprodutivas de base como a reprodução artificial em cativeiro vem contribuindo para aumentar a produção de pescado, permitindo o crescimento deste setor mundialmente.

Porém, a reprodução artificial em carpa é mais complexa porque o procedimento de inseminação requer uma solução específica para evitar a aderência entre os ovócitos que ocorre normalmente na água. A aderência entre os ovócitos é responsável pela formação de uma massa gelatinosa que envolve a ova que dificulta o encontro da micrópila pelos espermatozoides, reduzindo a fertilização natural. A solução comumente utilizada pode ser formulada de duas formas, conforme a quantidade de ureia adicionada. Uma delas é composta por 3g de ureia e a outra por 20g de ureia juntamente com 4g de NaCl para cada litro de água. Essas soluções atuam na remoção da adesividade

dos ovócitos durante agitação contínua entre 1 hora e 1 hora e 30 minutos. Após esse período, adiciona-se uma solução de ácido tânico (0,5g/L) por 20 segundos, removendo-a em seguida (Billard et al., 1995).

Muitos autores relatam a utilização da solução contendo 3% de ureia (Irawan et al., 2010; Horváth et al., 2007). No entanto, Billard et al. (1995) afirmam que a solução contendo 20% de ureia é uma solução melhorada, necessitando de menos tempo de agitação para a remoção da adesividade dos ovócitos. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi testar duas concentrações de ureia (3% ou 20%) para a desagregação dos ovócitos de carpa comum (*Cyprinus carpio*).

### MATERIAL E MÉTODOS

Primeiramente, foram obtidos ovócitos de uma fêmea submetida a duas doses de 0,5 e 5,5 mg/Kg de peso vivo de EHC num intervalo de doze horas. Os ovócitos foram colhidos em recipientes de plástico apropriados e em seguida pesados em balança digital. A partir do material coletado foram retiradas três subamostras de 1g para estimar o número relativo de ovócitos por grama. Em seguida, seis alíquotas de 5g de ovócitos (aproximadamente 3900 ovócitos) foram divididas em dois tratamentos (Figura 1). Três grupos foram tratadas com solução contendo 3g de ureia e 4g de

NaCl e os outros três com solução contendo 20g de ureia e 4g de NaCl para cada litro de água. Durante uma hora, 100mL de uma das soluções citadas foram acrescentadas nos respectivos tratamentos (3% ou 20% de ureia) no tempo 0 e substituídas nos tempos de 3, 6, 10, 15 e 30 min, totalizando a adição de 600mL de ureia para cada tratamento.

Depois da exposição à ureia, esta foi removida para adição de 100mL de solução de ácido tânico (5g/L) durante 20 segundos (Billard et al., 1995). Em seguida, removeu-se esta solução a partir de três lavagens rápidas dos ovócitos com a adição de água do tanque.



Figura 1. Remoção da adesividade dos ovócitos de carpa comum. Acima grupos tratados com 3g de ureia e abaixo grupos tratados com 20g de ureia.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A solução contendo 3g de ureia removeu com eficiência a adesividade dos ovócitos de carpa comum em comparação a contendo 20g de ureia. Percebeu-se que a primeira solução não formou massas de ova como verificado na segunda. Assim, os resultados encontrados com a solução de ureia a 3% corroboram com sua utilização frequente por muitos autores que trabalham com a reprodução de carpa comum (*Cyprinus carpio*) (Irawan et al., 2010; Bozkurt et al., 2005).

## CONCLUSÃO

Através da presente pesquisa foi possível observar que a solução de ureia a 3% remove com eficiência a adesividade dos ovócitos de carpa comum (*Cyprinus carpio*).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Billard, R.; Cosson, J.; Percec, G.; Linhart, O. Biology of sperm and artificial reproduction in carp. *Aquaculture*, v. 129, p. 95-112, 1995.
- Bozkurt, Y.; Seçer, S.; Tekin, N.; Akçay, E. Cryopreservation on of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and mirror carp (*Cyprinus carpio*) sperm with glucose based extender. *Jornal da pesca*, v. 1, edição 1, p. 21-25, 2005.
- Departamento Nacional de Obras Contra as Secas. Relatório 2008. Online. Disponível em: <[http://www.dnocs.gov.br/php/CGU/dnocs\\_relatorio\\_anual\\_2008.pdf](http://www.dnocs.gov.br/php/CGU/dnocs_relatorio_anual_2008.pdf)>. Acesso em 8 de out. 2012.
- Horváth, A.; Miskolczi, E.; Mihalfy, S.; Osz, K.; Szabo, K.; Urbanyi, B. Cryopreservation of common carp (*Cyprinus carpio*) sperm in 1.2 and 5 ml straws and occurrence of haploids among larvae produced with cryopreserved sperm. *Cryobiology*, v. 54, p. 251-257, 2007.
- Irawan, H.; Vuthiphandchai, V.; Nimrat, S. The effect of extenders, cryoprotectants and cryopreservation methods on common carp (*Cyprinus carpio*) sperm. *Animal reproduction science*, v. 122, p. 236-243, 2010.



## EFEITO DA ANESTESIA NA QUALIDADE DO SÊMEN DA CARPA COMUM (*Cyprinus carpio*): ESTUDO PRELIMINAR

[Effect of anesthesia on semen quality of common carp (*Cyprinus carpio*): Preliminary study]

Angelita Costa da Silva<sup>1\*</sup>, Antônio Glaydson Lima Moreira<sup>2</sup>, Erivânia Gomes Teixeira<sup>3</sup>, Wladimir Ronald Lobo Farias<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Aluna de graduação – UFC. \* Autor para correspondência. E-mail: angelitacosta39@yahoo.com.br.

<sup>2</sup>Aluno de pós-graduação – UFC.

<sup>3</sup>Professora – UEMA.

<sup>4</sup>Professor – UFC.

**ABSTRACT** - One group was exposed for 10 minutes, eugenol the anesthetic at a concentration of 1 ml / L. The mean duration of sperm motility of non-anesthetized fish was significantly lower ( $p < 0.01$ ) with  $48.3 \pm 7.4$  minutes and anesthesia was  $87.5 \pm 21.8$  minutes. Sperm viability of non-anesthetized fish was  $92.5 \pm 4.2\%$  and  $90.8 \pm 3.8\%$  anesthetized, with no significant difference. The concentrations of inorganic ions were also similar with mean values of  $100.0 \pm 0.5$  (mmol L<sup>-1</sup>) and  $99.9 \pm 0.7$  (mmol L<sup>-1</sup>) for chloride,  $2.0 \pm 0.01$  (mmol l<sup>-1</sup>) and  $2.0 \pm 0.01$  (mmol L<sup>-1</sup>) to magnesium and  $10.1 \pm 0.03$  (mmol L<sup>-1</sup>) and  $11.0 \pm 0.9$  (mmol L<sup>-1</sup>) for calcium, fish unanesthetized and anesthetized, respectively. The results showed that the time of motility of anesthetized fish was significantly higher. However more research is needed.

**Keywords:** carp; anaesthesia; semen.

**Palavras-Chave:** carpa; anestesia; sêmen.

### INTRODUÇÃO

Segundo Arussi (2000) os ciprinídeos possui fundamental importância na aquicultura mundial, pois dentre as 15 espécies aquícolas mais produzidas, sete são ciprinídeos. Na produção do Brasil destaca-se a carpa comum (*Cyprinus carpio*) (Ceccarelli et al., 2000). O uso de anestésicos é indispensável para diminuir o estresse de manejo e outras operações associadas com a piscicultura entre elas: biometrias, seleção, marcação, aplicação de vacinas ou hormônios, transporte, coleta de sangue, biopsia de gônadas e coleta de gametas, causam um grande desgaste aos animais (King et. al 2005), estão sendo empregados para tentar amenizar o efeito negativo dessas práticas. O objetivo do trabalho foi avaliar a influência da anestesia dos peixes na qualidade do sêmen.

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados seis exemplares de carpas pertencentes ao plantel de reprodutores do Centro de Pesquisa em Aquicultura do Departamento Nacional de Obras Contra as Secas – DNOCS, localizado em Pentecoste – Ceará que foram divididos em dois grupos. Um dos grupos foi exposto, durante 10 minutos, ao anestésico eugenol

na concentração de 1mL/L em um recipiente contendo 10 litros de água. O eugenol (4-alil-2-metoxifenol), também conhecido como óleo de cravo e que, devido sua natureza hidrofóbica, foi diluído em álcool etílico P.A., resultando em uma solução estoque na concentração de 1000 mg L<sup>-1</sup>, em conformidade com a metodologia de Vidal et al. (2008). Para a retirada do sêmen, os indivíduos foram envolvidos em toalhas úmidas e, posteriormente, a região urogenital foi enxuta com papel toalha para retirada do material (1,0 mL) com auxílio de micropipeta, o qual foi depositado em tubos de microcentrífuga, permanecendo refrigerado a 4 °C. Uma pequena alíquota foi separada para análise de tempo de motilidade após a ativação dos espermatozoides com água destilada, bem como para determinar o percentual de vivos e mortos. Para avaliar a viabilidade dos espermatozoides foi utilizada a solução de eosina (1%) e nigrosina (5%), aqueles corados em roxo foram considerados mortos, enquanto aqueles que não foram corados foram considerados vivos, observando-se 150 espermatozoides de cada alíquota de sêmen foi considerada uma repetição e a composição dos íons inorgânicos são eles cloreto, magnésio e cálcio foram analisados por meio de kits (LABTEST®) e centrifugado a 12.000 x g por

5 minutos para obtenção do plasma. Todos os dados foram avaliados utilizando o teste de Tukey.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

O tempo médio de motilidade espermática dos peixes não anestesiados foi significativamente menor ( $p < 0,01$ ) com  $48,3 \pm 7,4$  minutos, enquanto o dos anestesiados foi de  $87,5 \pm 21,8$  minutos. A viabilidade dos peixes não anestesiados foi de  $92,5$

$\pm 4,2$  % e a dos anestesiados de  $90,8 \pm 3,8$  %, não havendo diferença significativa. As concentrações dos íons inorgânicos também foram semelhantes com valores médios de  $100,0 \pm 0,5$  ( $\text{mmol L}^{-1}$ ) e  $99,9 \pm 0,7$  ( $\text{mmol L}^{-1}$ ) para os íons cloreto;  $2,0 \pm 0,01$  ( $\text{mmol L}^{-1}$ ) e  $2,0 \pm 0,01$  ( $\text{mmol L}^{-1}$ ) para o magnésio e de  $10,1 \pm 0,03$  ( $\text{mmol L}^{-1}$ ) e  $11,0 \pm 0,9$  ( $\text{mmol L}^{-1}$ ) para o cálcio, dos peixes não anestesiados e anestesiados, respectivamente (Tabela 1).

Tabela 1. Parâmetros seminais do sêmen de carpa comum (*Cyprinus carpio*).

Parâmetros Seminais	Motilidade Espermática (minutos)	Sobrevivência (%)	Íons Inorgânicos ( $\text{mmol L}^{-1}$ )		
			Cloreto	Magnésio	Cálcio
Não Anestesiados	$48,3 \pm 7,4$	$92,5 \pm 4,2$	$100,0 \pm 0,5$	$2,0 \pm 0,01$	$10,1 \pm 0,03$
Anestesiados	$87,5 \pm 21,8$	$90,8 \pm 3,8$	$99,9 \pm 0,7$	$2,0 \pm 0,01$	$11,0 \pm 0,9$

### CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados mostraram que o tempo de motilidade espermática dos indivíduos anestesiados foi significativamente maior, sendo necessários mais estudos para saber a influência na viabilidade dos mesmos.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Arussi-Annual Report On The United States Seafood Industry. Report. [S.l.: s.n.], 2000. Disponível em: <<http://www.wordcatch.com>>, 2002.

Ceccarelli, P.S. et al. *Dicas em piscicultura: perguntas e respostas*. Botucatu: Santana Gráfica Editora, 2000.

King, W. V.; Hooper, B.; Hillsgrave, S. The use of clove oil, metomidate, tricaine, methanesulphonate and 2-phenoxyethanol for inducing anaesthesia and their effect on the cortisol stress response in black sea bass (*Centropristis striata* L.). *Aquaculture Research*, Oxford, v. 36, n. 14, p. 1442-1449, Oct. 2005.

Vidal, L. V. O.; Albinati, R. C. B.; Albinati, A. C. L.; Lira, A. D.; Almeida, T. R.; Santos, G. B. Eugenol como anestésico para tilápia-do-nilo. *Revista Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 43 n. 8, p. 1069-1074, 2008.

## EFEITO DO RESFRIAMENTO SOBRE EMBRIÕES DE TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*)

[Chilling effect on Tambaqui (*Colossoma macropomum*) embryos]

Renata Vieira do Nascimento<sup>1\*</sup>, Mayara Setúbal Oliveira<sup>1</sup>, Liliane Veras Leite<sup>1</sup>, Francisco Renan Aragão Linhares<sup>1</sup>, Marcelo José Ascensão Feitosa Vieira<sup>2</sup>, Carminda Sandra Brito Salmito-Vanderley<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Estadual do Ceará, Laboratório de Biotecnologia da Reprodução de Peixes. \*Autor para correspondência. E-mail: renatavieiraa@hotmail.com.

<sup>2</sup> Departamento Nacional de Obras Contra as Secas.

**ABSTRACT** - The aim of this study was to assess the morphology of tambaqui embryos (*Colossoma macropomum*) cooled at 4 °C. The embryos were selected from two embryonic stages: blastopore closure and optic vesicle appearance. Viable embryos in the respective stages were taken from the incubator and exposed to a cryoprotectant solution containing methanol (10%) and sucrose (0.5 M). Then embryos were submitted to a cooling curve (0.5 °C/min) until they reached 4 °C and stored for 6 hours. It was observed that the embryos cooled at optic vesicle appearance stage showed greater resistance to cooling (29.1± 4.7% of normal embryos) compared to the ones cooled at blastopore closure stage (12.1 ± 2.6% of normal embryos). It follows that the cooling of tambaqui embryos in optic vesicle stage, using a cryoprotectant solution composed of 0.5 M sucrose plus 10% methanol, is more efficient and causes less changes on the embryo morphology.

**Keywords:** morphology; embryonic development; *Colossoma macropomum*.

**Palavras-Chave:** morfologia; desenvolvimento embrionário; *Colossoma macropomum*.

### INTRODUÇÃO

O tambaqui (*Colossoma macropomum*) é um peixe reofílico, da família Characidae. Existem poucos estudos promissores com relação a conservação de ovócitos e embriões (Zhang et al., 2007). Por isso tem-se utilizado o resfriamento como alternativa para fornecer informações que colaborem com as pesquisas de criopreservação (Streit Jr. et al., 2007). Entretanto, é necessário que haja a elaboração de protocolos eficientes de resfriamento de embriões utilizando soluções crioprotetoras adequadas. Além disso, é preciso estabelecer o melhor estágio para o resfriamento e o melhor tempo de estocagem.

Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo avaliar a morfologia de embriões de tambaqui (*C. macropomun*), em dois estágios de desenvolvimento, resfriados a 4 °C em sacarose 5M associado a metanol 10%.

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram selecionados reprodutores de tambaqui (*C. macropomun*) do Departamento Nacional de Obras Contra as Secas (DNOCS) localizado em Pentecoste-CE. As fêmeas receberam tratamento

hormonal com duas doses de extrato hipofisário de carpa (EHC), a primeira de 0,5 mg EHC/Kg de peso vivo, e a segunda de 5 mg EHC/Kg de peso vivo, com intervalo de 12 horas entre as aplicações. Aos machos foi administrada dose única de 2,5 mg EHC/kg de peso vivo. Os gametas foram coletados cerca de 7 horas após a segunda dose da indução hormonal (~231 horas/grau). Os ovos foram transferidos para incubadoras com fluxo constante de água e o desenvolvimento foi acompanhado por meio de observações ao microscópio a cada 30 minutos.

Para o resfriamento dos embriões foram selecionados dois estágios embrionários: fechamento do blastóporo (TB) e aparecimento da vesícula óptica (TV). Para tanto, embriões viáveis nos respectivos estágios foram coletados das incubadoras e acondicionados em tubos contendo solução crioprotetora de sacarose 0,5M adicionada de metanol 10% segundo Lopes (2011). Imediatamente após a diluição, os tubos foram acondicionados em caixas térmicas e submetidos á uma curva de resfriamento de -0,5 °C por minuto até atingirem a temperatura de 4° C onde permaneceram por 6 horas.

Após o tempo de resfriamento, foi feita uma avaliação quanto às alterações morfológicas, utilizando microscopia óptica, para estimar a porcentagem de embriões íntegros nos diferentes tratamentos.

Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética Para Uso de Animais com o processo n° 09144388-1.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os embriões alcançaram o estágio de fechamento do blastóporo e o aparecimento da vesícula óptica aproximadamente 6h (~174horas-grau) e 9h (~261 horas-grau) após a fertilização, respectivamente. Em ambos os tratamentos, após o resfriamento, foram observadas ovos contendo uma massa celular cinzenta e disforme no interior da membrana de fecundação, caracterizando embriões degenerados. Essas alterações na qualidade embrionária são devido a sensibilidade ao frio, toxicidade das soluções crioprotetoras e a formação de cristais de gelo no interior do embrião (FORNARI, 2010). Outro fator importante para o sucesso no resfriamento de embriões de peixes é o estágio de desenvolvimento embrionário. No presente trabalho, foi observado que o estágio de vesícula óptica apresentou uma maior resistência ao resfriamento ( $29,1 \pm 4,7\%$  de embriões normais) quando comparado ao fechamento do blastóporo ( $12,1 \pm 2,6\%$  de embriões normais). Estes diferentes resultados estão relacionados com a permeabilidade das paredes dos ovos e ao mecanismo de bombeamento osmótico que são diferentes

dependendo do estágio embrionário (NAKATANI, 2001).

## CONCLUSÃO

Desta forma, pode-se concluir que o resfriamento de embriões em solução crioprotetora de sacarose 0,5M adicionada de metanol 10% no estágio de vesícula óptica é mais eficiente, pois altera menos a morfologia do embrião. Todavia, é necessário que seja realizado mais estudos que visem estabelecer os melhores crioprotetores a serem usados no processo de resfriamento a fim de proporcionar uma menor alteração na morfologia embrionária.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Galo, J.M. Embriões de pacu submetidos a diferentes protocolos de resfriamento. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília v.42, n.2, p.1199-1202. 2007.
- Lopes T.S.; Romagosa E.; Streit Jr D.P.; Ribeiro R.P.; Digmayer M. Cooling of pacu (*Piaractus mesopotamicus*) embryos at various stages of development for 6 or 10 hours. *Theriogenology*, v.75, p.570-576, 2011.
- Fornari, D. C., Ribeiro, R. P., Streit, D. P., Vargas, L., Barrero, N. M. L., De Moraes, G. V., Freezing injuries in the embryos of *Piaractus mesopotamicus*. *Zygote*, 19(04), 345-350, 2011.
- Streit Jr., D.P.; Digmayer, M.; Ribeiro, R.P.; Sirol, R.N.; Moraes, G.V.; Zhang, T.; Rawson, D. M.; Pekarsky, I.; Blais, I.; Lubzens, E. Low temperature preservation of fish gonad cells and oocytes. In: Badin, P. J.; Cerdà, J. E Lubzens, E. The fish oocytes: from basic studies to biotechnological applications, *Springer*, p.411-436, 2007.
- Nakatani K, Agostinho Aa, Baumgartner G, Bialetzki A, Sanches Pv, Makrakis Mc, Pavanelli Cs. *Ovos e larvas de peixes de água doce: desenvolvimento e manual de identificação*, Maringá: EDUEM, 2001.

## ESTRUTURA POPULACIONAL DE *Curimatella lepidura* (EIGENMANN & EIGENMANN, 1889), EM UM RESERVATÓRIO DO SEMIÁRIDO NORDESTINO

[Population structure of *Curimatella lepidura* (Eigenmann & Eigenmann, 1889), in a reservoir of northeastern semiarid]

Luzia Geize Fernandes Rebouças<sup>1\*</sup>, Jônnata Fernandes de Oliveira<sup>1</sup>, Danielle Peretti<sup>1</sup>, Rodrigo Silva da Costa<sup>2</sup>, José Luís Costa Novaes<sup>2</sup>

<sup>1</sup> UERN/RN. \*Autor para correspondência. E-mail: luziageize@hotmail.com.

<sup>2</sup> UFERSA/RN.

**ABSTRACT** – The damming of rivers affects reproduction of fish species, so these animals have to adapt themselves to new situations in order to realize their reproductive cycle. In this context, we sought to characterize the reproduction of *Curimatella lepidura*, in the reservoir Pau dos Ferros / RN, as a contribution to the understanding of the reproductive biology of this species in this ecosystem. Fishes were collected quarterly using gillnets with different mesh sizes, between February and November 2012. Fish were identified, subjected to biometric analysis. Sex and stages of gonadal maturation were determined. Subsequently size frequency distributions by sex, sex ratio and spawning season were analysed. It was found that *C. lepidura* presents differences in size frequency distribution between the sexes, with females reaching larger length than males.

**Keywords:** reproductive cycle; dammed ecosystem; fish.

**Palavras-Chave:** ciclo reprodutivo; ecossistema represado; peixe.

### INTRODUÇÃO

O barramento dos rios causa impactos no ambiente, implicando em grandes alterações físico-químicas, limnológicas e ambientais (Nogueira, 1996). O represamento dos rios reflete diretamente na reprodução dos peixes, pois o regime de cheias é um dos responsáveis pelo desencadeamento da migração, reprodução e desova (Agostinho et al., 1993).

Estudos sobre ecologia reprodutiva de peixes são necessários para uma melhor compreensão da estrutura populacional desses animais em ecossistemas represados. Portanto, o objetivo deste trabalho foi caracterizar a estrutura reprodutiva do saguiri, *Curimatella lepidura*, presente no Reservatório de Pau dos Ferros, Rio Grande do Norte, verificando a frequência de distribuição de tamanho (comprimento total), proporção sexual e época de desova.

### MATERIAL E MÉTODOS

O reservatório de Pau dos Ferros está localizado na Bacia do rio Apodi-Mossoró, na cidade de Pau dos Ferros. Foram realizadas coletas trimestrais entre fevereiro e novembro de 2012, em quatro pontos do

reservatório. Onde foram utilizadas redes de espera com malhas de 12; 15; 20; 25; 30; 35; 40; 45; 50; 60 e 70 mm, colocadas ao final da tarde e com revistas às 23:00 e 05:00. Após a despesca, os peixes foram submetidos à análise biométrica, e posteriormente, identificados o sexo e o estágio de maturação gonadal, de acordo com Vazzoler (1996).

A estrutura em comprimento foi analisada por meio da distribuição de frequência absoluta de ocorrência das classes de comprimento padrão por sexo (Vazzoler, 1996). Os intervalos de classes de comprimento padrão foram definidos conforme a Regra de Sturges (Vieira, 1991). A proporção sexual foi analisada através das frequências absolutas de machos e fêmeas, distribuídas por período total de coleta, classe de comprimento e fases do ciclo hidrológico (chuvoso e seco). A análise estatística da proporção sexual foi feita por meio do teste G (Zar, 1999).

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram estudados 708 indivíduos de *Curimatella lepidura*. Foram capturados indivíduos em todos os estágios de desenvolvimento gonadal durante o estudo, tendo assim uma ampla faixa de variação. A

proporção sexual por período total de coleta apresentou indivíduos de todos os tamanhos e de ambos os sexos, com uma predominância de machos, porém, estatisticamente não houve diferença. Em outros estudos indicam que a proporção de machos e fêmeas pode divergir de 1:1 devido às diferenças na taxa de crescimento, de mortalidade, no comportamento de fêmeas e machos e, pela captura seletiva (Vazzoler, 1996, Raposo e Gurgel, 2001).

Observou-se que as fêmeas atingindo maiores comprimentos que os machos, observando um dimorfismo sexual (os machos apresentaram tamanhos entre 6 a 16cm, já as fêmeas os tamanhos foram entre 7 e 17cm). Resultado semelhante para esta espécie foi encontrado por Alvarenga et al. (2006), sendo verificado que a distribuição de tamanho indicava dimorfismo sexual, sendo as fêmeas maiores que os machos.

A análise da frequência dos estágios de maturação gonadal mostra fêmeas maduras predominantemente no período chuvoso (fevereiro e maio) e com gônadas esvaziadas predominantemente no período seco (novembro). Em relação à época de desova, os resultados apontam que a espécie se reproduz principalmente no mês de fevereiro, com alguns indivíduos reproduzindo nos meses de maio e novembro. Resultados semelhantes foram encontrados em outros trabalhos. Por exemplo, Alvarenga et al. (2006) afirmam que a espécie apresenta desova em Janeiro, Fevereiro e Março, época chuvosa e que no trimestre posterior apresentou-se em repouso.

## CONCLUSÃO

No estudo da *Curimatella lepidura* presente no Reservatório de Pau dos Ferros R/N, foi possível caracterizar sua estrutura populacional, onde foi verificando a frequência de distribuição de tamanho (comprimento total), proporção sexual e época de desova. A espécie apresentou um dimorfismo sexual em relação ao comprimento entre machos e fêmeas, no entanto os machos apresentam maior abundância. Além disso, o período de maturação da espécie é no período chuvoso e desova no período seco.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agostinho, A. A. et al. Avaliação da atividade reprodutiva da comunidade de peixes dos primeiros quilômetros a jusante do reservatório de Itaipu. *Revista UNIMAR*, v. 15, 1993. p. 175-189.
- Alvarenga, E. R. et al. *Reproductive biology and feeding of Curimatella lepidura* (Eigenmann & Eigenmann) (Pisces, Curimatidae) in Juramento reservoir, Minas Gerais, Brazil. 2006.
- Nogueira, M. G. *Composição, abundância e distribuição espaço-temporal das populações planctônicas e das variáveis físico-químicas na represa de Jurumirim, rio Paranapanema, SP, 430f.* Tese (doutorado) - Universidade de São Paulo, São Carlos. 1996.
- Raposo, R.M.G.; Gurgel, H. C. B. Estrutura da população de *Serrasalmus spilopleura* Günther, 1864 (Pisces, Serrasalminae) da lagoa de Extremoz, Estado do Rio Grande do Norte, Brasil. *Acta Scientiarum*, Maringá, 23 (2): 409-414, 2001.
- Vazzoler, A. E. A. M. *Biologia da reprodução de teleostes: teoria e prática.* Maringá: EDUEM; São Paulo: SBI. 1996.
- Vieira, S. *Introdução à bioestatística.* 2. ed. Rio de Janeiro: Campus, 1991.
- ZAR, J. H. *Biostatistical Analysis* (4ª ed.). New Jersey, Prentice-Hall Inc., Englewood Cliffs. 1999.

## INTEGRIDADE DE MEMBRANA DO SÊMEN CRIOPRESERVADO DE *Prochilodus brevis*, UTILIZANDO O MÉTODO EOSINA-NIGROSINA

[Assessment membrane integrity of *Prochilodus brevis* sperm cryopreserved using the eosin-nigrosin method]

Rômulo Roberto Ribeiro Pinheiro<sup>1\*</sup>, Larissa Teixeira Nunes<sup>1</sup>, Maria Eduarda Magalhães de Souza<sup>1</sup>, Renata Vieira do Nascimento<sup>1</sup>, Jordana Sampaio Leite<sup>1</sup>, Carminda Sandra Brito Salmito Vanderley<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Estadual do Ceará, Laboratório de Biotecnologia da Reprodução de Peixes - Fortaleza – Ceará – Brasil.

\*Autor para correspondência. E-mail: romuloroberto-bio@hotmail.com.

**ABSTRACT** - This study aimed to assess the rate of spermatozoa with membrane integrity (vitality) by using the eosin-nigrosin staining method in common curimatã sperm cryopreserved in two different extenders. Male adults (n=12) were induced to spermiation using carp pituitary extract. The collected sperm was used to compose four pools. Pools were frozen in two treatments: glucose 5% plus 10% dimethylsulfoxide (T1) or 10% methylglycol (T2). After 10 days the frozen sperm were thawed in water bath at 25 ° C.30s<sup>-1</sup> and submitted to nigrosin-eosin staining. Stained cells were considered dead and colorless cells were considered alive. There was a significant decrease in membrane integrity of sperm diluted in T1 (47.0 ± 1.8%) compared to T2 (66.3 ± 1.7%). Thus the use of methylglycol associated with glucose is recommended for cryopreservation common curimatã sperm.

**Keywords:** fish; spermatozoa; eosin-nigrosin; integrity; viability.

**Palavras-Chave:** peixe; espermatozoide; eosina-nigrosina; integridade; viabilidade.

### INTRODUÇÃO

O curimatã comum (*Prochilodus brevis*, Steindachner 1875) é uma espécie de interesse econômico e ecológico, endêmica da região semiárida brasileira. A pesca predatória, e o barramento dos rios, tem posto em risco a sobrevivência da espécie (Gurgel et al., 2012). Dessa forma, surge nos pesquisadores o interesse em elaborar técnicas de reprodução artificial (Salmito-Vanderley, 2012). No entanto para que se obtenha sucesso na aplicação de biotecnologias reprodutivas é preciso primeiramente o uso de gametas de boa qualidade. Assim a análise da qualidade seminal torna-se necessária, podendo ser estimada por meio da análise de parâmetros tais como: motilidade, vitalidade, anormalidades morfológicas (Sanches, 2012).

A qualidade espermática também pode ser avaliada pelo método de coloração dos espermatozoides com eosina-nigrosina (Blom, 1950). Quando o sêmen é homogeneizado ao corante os espermatozoides mortos coram-se em rosa, devido à permeabilidade do corante, enquanto que as células vivas permanecem incolores.

Dessa forma, este trabalho teve por objetivo avaliar a integridade de membrana dos espermatozoides de *Prochilodus brevis* criopreservado em duas soluções diluidoras, por meio do método de coloração com eosina-nigrosina.

### MATERIAL E MÉTODOS

Para o estudo, foram utilizados 12 machos de curimatã comum, em idade reprodutiva. Tais animais tiveram a espermição induzida pelo extrato hipofisário de carpa (três mg kg<sup>-1</sup> peso vivo, via injeção intra-celomática) 18h antes da coleta de sêmen. No dia da coleta os animais foram sedados, sendo imediatamente submetidos à coleta de sêmen, após a sedação, e em seguida devolvidos ao tanque de manuseio. O orifício genital foi enxuto com papel toalha e então realizada uma leve compressão abdominal no sentido anteroposterior. O sêmen foi coletado em tubos graduados de polietileno e mantido a aproximadamente 4 °C em caixa de poliestireno.

Do sêmen coletado confeccionaram-se quatro *pools*, destinados a congelamento em dois tratamentos; glicose 5% acrescidas de 10% de Dimetilsulfóxido (T1) e 10% de metilglicol (T2).

O sêmen diluído foi envasado em palhetas de 0,25 mL, mantido a 4 °C por 10 min, submetido ao vapor de nitrogênio líquido em *Dry shipper* (-170°C) por 15 min e transferido para um botijão criogênico (-196°C).

As amostras foram descongeladas após 10 dias em banho-maria a 25 °C 30s<sup>-1</sup> e submetidas à coloração eosina-nigrosina (Adaptado de Blom 1950), utilizando-se 30µL de sêmen, 90µL de eosina amarela (5%) e 90µL de nigrosina (10%). Após o processamento das lâminas, 200 espermatozoides (CBRA, 1998) foram analisados em microscópio de luz (Obj. 40x), sendo considerados mortos os espermatozoides corados e vivos os incolores.

Os dados de vitalidade foram expressos como média ± desvio padrão e submetidos à análise de variância, seguido pelo teste t student (p<0,001), utilizando o programa estatístico ASSISTAT® versão 7.6 beta (2013).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise da qualidade espermática pode ser avaliada pela integridade de membrana, um indicativo da taxa de espermatozoides vivos e que possui relação direta com a taxa de motilidade (Sanches, 2012). No presente estudo foi observada uma redução significativa (p<0,001) da taxa de espermatozoides com membrana íntegra no sêmen diluído em glicose 5% acrescida de 10% de DMSO (47,0 ± 1,8 %) quando comparado com o sêmen tratado com o diluidor glicose 5% acrescida de 10% de metilglicol (66,3 ± 1,7 %).

O processo de resposta das células à pressão osmótica durante a congelação ainda é complexo e pouco conhecido, em função das propriedades coligativas e permeabilidade da membrana das

células espermáticas, quando da adição de crioprotetores internos que possuem interações interespecíficas para a cada espécie (Henry et al., 2002) o que pode ter conferido maior proteção aos espermatozoides no sêmen diluído em glicose 5% associado ao metilglicol.

## CONCLUSÃO

No presente estudo, a análise da integridade de membrana com eosina-nigrosina permitiu a visualização dos espermatozoides de *Prochilodus brevis*, e demonstrou ser mais adequada a utilização da associação de glicose e metilglicol para a criopreservação do sêmen da espécie.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Blom, E. A One-minute live-dead sperm stain by means of Eosin-Nigrosin. *Fertility and Sterility*, 1: 176-177, 1950.
- CBRA. *Manual para exames andrológicos e avaliação de sêmen animal*, Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, Belo Horizonte, 1998.
- Gurgel, L.L.; Verani, J.R.; Chellappa, S. Reproductive ecology of *Prochilodus brevis* an endemic fish from the semiarid region of Brazil. *The Scientific World Journal (Ecology Domain)*, p. 1-7, 2012.
- Henry, M.; Snoeck, P.P.N.; Cottorello, A.C.P. Post-thaw spermatozoa plasma membrane integrity and motility of stallion semen frozen with different cryoprotectants. *Theriogenology*, 58:245-248, 2002.
- Salmito-Vanderley, C.S.B.; Vieira, M.J.A.F.; Leite, L.V.; Oliveira, F.C.E.; Linhares, F.R.A.; Salgueiro, C.C.M.; Nunes, J.F. Meios de congelamento para conservação de sêmen de peixes da família Characidae. *Ciência Animal*, v. 22, p. 687-690, 2012.
- Sanches, E.A. Metodologias de avaliação de sêmen e procedimentos de fertilização artificial de surubim-do-paraíba *Steindachneridion parahybae*. Tese (Doutorado). Jaboticabal (SP): Universidade Estadual Paulista, Centro de aquicultura, 2012.



## MOTILIDADE DO SÊMEN DE CARPA COMUM, *Cyprinus carpio* APÓS CONGELAÇÃO RÁPIDA EM MEIO À BASE DE ÁGUA DE COCO EM PÓ (ACP-104)

[*Motility of common carp, Cyprinus carpio after quick freezing in coconut-water powder medium (ACP-104)*]

Maria Audália Marques de Carvalho<sup>1\*</sup>, Larissa Teixeira Nunes<sup>1</sup>, Cristiane Clemente de Melo Salgueiro<sup>1</sup>, Fátima de Cássia Evangelista de Oliveira<sup>1</sup>, Ana Gláudia Vasconcelos Catunda<sup>1</sup>, José Ferreira Nunes<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Estadual do Ceará – Fortaleza, Ceará, Brasil. \*Autor para correspondência. E-mail: carvalho.audalia@gmail.com

**ABSTRACT** - This study evaluated methyl glycol(MG) as cryoprotectant to common carp spermatozoa and ACP-104 at 150 mOsmol/kg H<sub>2</sub>O as activation solution. The sperm was diluted (ACP-104<sup>TM</sup> plus DMSO (C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>SO) at 10% or MG10%) on a ratio of 1:3, packed into 0.5 mL straws and immediately frozen into nitrogen-vapor-vessel Dry shipper. Thawing occurred in a water bath at 25°C for 30 s. Activating solution ACP-104<sub>A</sub> (150 mOsmol/kg H<sub>2</sub>O) was compared to NaCl (100 mOsmol/kg H<sub>2</sub>O) with addition of 100 µL of each activation solution in a Makler chamber and mixed with 2 µL of the thawed sperm and analyzed by CASA system. The t-Student test with 5% probability showed that DMSO was more efficient than MG to cryopreserve sperm of common carp with higher percentual of motile sperm in ACP<sub>A</sub>-150mOsmol (50.93± 3.27 versus 17.72± 3.47) respectively. Thus, the ACP-104<sub>A</sub> may be used as an activating solution for carp sperm, especially when ACP-104 + DMSO is used as extender.

**Keywords:** *Cyprinus carpio*; methyl-glycol; freezing medium; ACP-104; CASA.

**Palavras-Chave:** *Cyprinus carpio*; metil-glicol; ACP-104; ativadores.

### INTRODUÇÃO

A carpa comum *Cyprinus carpio* vem sendo utilizada como modelo experimental em diversos estudos sobre a criopreservação de espermatozoides (SULTANA *et al.*, 2010). Contudo, a interação de fatores como composição do diluente e tipo de crioprotetor pode interferir no sucesso da criopreservação de gametas. Deste modo testes prévios serão necessários sempre que um novo diluente ou crioprotetor for utilizado no intuito de encontrar a combinação com maior capacidade de proteção, minimizando assim os danos às células ocorridos durante a congelamento.

Para a carpa comum não existem informações sobre o uso do metil glicol (CH<sub>3</sub>O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OH) como crioprotetor principalmente quando associado a um novo diluidor como o ACP-104, já testado para criopreservação do sêmen de peixes (VIVEIROS *et al.*, 2010; LINHARES *et al.* 2012). A escolha adequada da solução ativadora é outro fator a ser considerado dentro de um protocolo de congelamento, já que a pressão osmótica do ativador influencia diretamente na duração da motilidade e no manejo do sêmen descongelado e ativado. Deste modo, este

estudo teve por objetivos avaliar o uso do metil glicol em associação com o ACP-104, bem como avaliar de maneira inédita o efeito da solução ACP-104<sub>A</sub> a 150 mOsmol/kg H<sub>2</sub>O como solução de ativação pós-descongelamento.

### MATERIAL E MÉTODOS

O sêmen de 28 animais previamente hipofisados foi utilizado para a formação de 18 pools. Cada pool foi dividido em duas alíquotas diluídas em ACP-104<sup>TM</sup>, (310 mOsm/Kg H<sub>2</sub>O, pH 8,0 ) e adicionadas de dimetilsulfóxido (C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>SO) DMSO10% ou MG10% numa proporção de 1:3, envasadas em palhetas de 0,5 ml, imediatamente imersas em vapores de nitrogênio a -170°C em *Dry Shipper* (CX100, Taylor Wharton, USA). O sêmen (2µL) descongelado em banho a 25°C por 30 s foi misturado a 100 µL de cada solução ativadora (ACP-104<sub>A</sub> 150 mOsmol/kg H<sub>2</sub>O<sup>-1</sup> ou NaCl 100 mOsmol/kg H<sub>2</sub>O<sup>-1</sup>) em câmara de Makler e analisado pelo *Sperm Class Analyser* (SCA, Microoptics, Espanha). A motilidade total (MT%) foi expressa como média± erro padrão e transformadas pelo arco seno, para atender a condição de normalidade. Os dados analisados por

ANOVA, seguidos pelo teste *t-Student* foram testados para o efeito dos crioprotetores e das soluções de ativação, e ainda para a interação entre estes efeitos (crioprotetor\* + solução de ativação), e considerados significativos quando  $p \leq 0,05$ .

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As médias de motilidade nos respectivos diluidores e ativadores encontram-se expressos na tabela 1. O teste de comparações múltiplas (t-Student) revelou que o DMSO foi significativamente superior ao MG ( $p < 0,05$ ) pela maior proporção de células móveis observada no sêmen congelado em ACP-104+DMSO e ativado com ACP-150<sub>A</sub> (50,93 ± 3,27%). A solução ativadora ACP<sub>A</sub>150 mostrou resultados superiores ao NaCl ( $p < 0,0001$ ) quando o sêmen foi criopreservado com DMSO e

estatisticamente diferente do NaCl ( $p < 0,005$ ) quando o sêmen foi criopreservado em MG.

A interação entre diluentes e crioprotetores pode favorecer o surgimento de fenômenos como aglutinação espermática, reduzindo significativamente o percentual de móveis a taxa e a duração da motilidade (IRAWAN *et al.* 2010), e este efeito parece estar associado ainda à interações da composição do diluente com as variações individuais associadas ao protocolo de congelamento escolhido. Provavelmente a osmolaridade controlada em 150 mOsmol/kg H<sub>2</sub>O, refletiu num maior conforto e estabilidade osmótica da membrana plasmática já que é aproximadamente a metade da osmolaridade fisiológica, contudo esta hipótese deverá ser testada.

Tabela 1. Média ± erro padrão do percentual de espermatozoides móveis de carpa comum, *C. carpio* criopreservados em ACP-104 combinado com os crioprotetores DMSO ou Metil glicol (MG) (10%) e ativados com soluções de ACP<sub>A</sub>-104 (150 mOsmol/kg H<sub>2</sub>O<sup>-1</sup>) ou NaCl (100 mOsmol/kg H<sub>2</sub>O<sup>-1</sup>) pós-descongelamento a 25°C/30 s.

Diluyente	Solução ativação	Parâmetros de Motilidade Espermática (%)			
		Sptz rápidos	Sptz Médios	Sptz Lentos	Móveis Totais
ACP-104 + DMSO	ACP 150	6,06±0,93 <sup>a</sup>	13,81±1,38 <sup>a</sup>	32,15±2,35 <sup>a</sup>	50,93±3,27 <sup>a</sup>
	NaCl 100	3,80±1,09 <sup>a</sup>	9,91±1,63 <sup>a</sup>	22,71±2,77 <sup>b</sup>	36,40±3,86 <sup>b</sup>
ACP-104 + MG	ACP 150	0,51±1,05 <sup>b</sup>	2,26±1,56 <sup>b</sup>	15,06±2,66 <sup>b</sup>	17,72±3,471 <sup>c</sup>
	NaCl 100	0,39±1,40 <sup>b</sup>	4,77±2,09 <sup>b</sup>	16,45±3,56 <sup>b</sup>	21,02± 4,95 <sup>c</sup>

Letras iguais sobrescritas na mesma coluna não diferem significativamente ( $p > 0,05$ ).

DMSO = dimetilsulfóxido; MG = metil glicol. ACP-104 = diluente à base de água de coco em pó; ACP 150 = ACP-104<sub>A</sub> (150 mOsmol/kg H<sub>2</sub>O); NaCl 100 = NaCl 100 mOsmol/kg H<sub>2</sub>O; AE: Ativação espontânea.

## CONCLUSÕES

Não é recomendável o uso do crioprotetor metil glicol associado ao meio de congelamento ACP-104 nas condições testadas. O ACP-104 é viável tanto como meio de criopreservação bem como solução ativadora para o sêmen de carpa comum.

## REFERÊNCIAS

- Irawan, H.; Vuthiphandchai, V.; Nimrat, S. The effect of extenders, cryoprotectants and cryopreservation methods on common carp (*Cyprinus carpio*) sperm. *Animal reproduction science*, v. 122, p. 236-243, 2010.
- Sultana, M.; Nahiduzzaman, M.; Hassan, M.M.; Khanam, M.U.H.; Hossain, M.A.R. Fertility of cryopreserved common carp (*Cyprinus carpio*) spermatozoa. *Rajshahi University Zoological Society*, v. 28, p.51-55, 2010.
- Viveiros, A.T.M.; Nascimento, A.F.; Órfão, L.H. *et al.* Motility and fertility of the subtropical fresh water fish streaked prochilod *Prochilodus lineatus* sperm cryopreserved in powdered coconut water. *Theriogenology*, v.74, n.4, p.551-556, 2010.

## UTILIZAÇÃO DE DIFERENTES DILUENTES NA CRIOPRESERVAÇÃO DO SÊMEN DE CURIMATÃ COMUM

[Use of different extenders on sperm cryopreservation of common curimatã.]

João Paulo Silva Pinheiro<sup>1\*</sup>, Thaís Maia Torres<sup>1</sup>, Priscila Silva de Almeida<sup>1</sup>, Júlia Trugilio Lopes<sup>1</sup>, Liliane Veras Leite<sup>1</sup>, Carminda Sandra Brito Salmito-Vanderley<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Estadual do Ceará, Laboratório de Biotecnologia da Reprodução de Peixes. \*Autor para correspondência. E-mail: joaopaulospinheiro@yahoo.com.br.

**ABSTRACT** - The aim of this study was to evaluate the association of diluents glucose or Beltsville Thawing Solution (BTS) with Dimethylsulfoxide (DMSO) cryoprotectant in semen cryopreservation of *P. brevis*. It was used nine males, hormonally induced. After induction, the sperm was collected and diluted in Glucose or BTS + DMSO, stored in liquid nitrogen, thawed and evaluated with the Sperm Class Analyzer. Data were analyzed by ANOVA followed by Tukey test ( $P < 0.05$ ). Sperm motility was reduced after cryopreservation, comparing to the fresh sperm (98.10 %) ( $P < 0.05$ ). Between treatments, BTS has increased the rate of total motility (49.96 %) compared to the diluent glucose (25.70 %). Regarding sperm velocities, the fresh sperm showed higher values ( $P < 0.05$ ) than cryopreserved sperm, however, there was no difference between treatments ( $P > 0.05$ ). Therefore, the semen of *P. brevis* can be cryopreserved in BTS associated with DMSO, ensuring good rates of total motility and sperm velocity.

**Keywords:** fish; conservation; reproduction.

**Palavras-Chave:** peixe; conservação; reprodução.

### INTRODUÇÃO

A espécie *Prochilodus brevis*, conhecida por curimatã comum, é endêmica dos estados do Ceará, do Rio Grande do Norte e do Piauí, destacando-se pela importância econômica e ecológica que exerce nessa região (Nascimento et al., 2012).

Logo, surge o interesse no estudo da biologia reprodutiva dessa espécie. Uma das áreas em ascensão é a criopreservação do sêmen, a fim de garantir a reprodução artificial e a preservação de material genético em programas de conservação (Carolsfeld et al., 2003).

Portanto, este trabalho teve como objetivo avaliar a associação de diferentes diluentes (Glicose ou *Beltsville Thawing Solution* – BTS) com o crioprotetor Dimetilsulfóxido, o mais utilizado em sêmen de Characiformes, na criopreservação seminal de *P. brevis* utilizando o equipamento padrão *dry shipper*.

### MATERIAL E MÉTODOS

Utilizaram-se nove machos de curimatã induzidos hormonalmente com única dose de extrato hipofisário de carpa comum (3mg/Kg de peso

vivo). Após 18 horas da indução foi realizada a coleta do sêmen, que permaneceu em caixa térmica de poliestireno (~ 10 °C) até o fim do processamento. As alíquotas contaminadas com água, sangue, fezes ou urina e com motilidade espermática subjetiva inferior a 80%, quando ativadas com água do tanque, não foram utilizadas.

No processo de criopreservação utilizaram-se os diluentes: *Beltsville Thawing Solution* - BTS<sup>®</sup> (Minitub) ou Glicose comercial (Fresenius Kabi Brasil Ltda) associado ao crioprotetor: Dimetilsulfóxido – DMSO. Dessa forma, constituídos os seguintes tratamentos: T1) Glicose + DMSO e T2) BTS + DMSO.

O sêmen de cada pool (n = 3) foi diluído 1:6 (sêmen:diluidor) em todos os tratamentos, envasado em palhetas de 250µL e transferidas para *dry shipper* por 15 minutos. Após esse período, foram estocadas em botijão de nitrogênio líquido.

Após 10 dias, o sêmen foi descongelado em banho-maria a 25 °C por 30s e avaliados os parâmetros: motilidade total; velocidade do percurso curvilíneo (VCL); – velocidade em linha reta (VSL); e velocidade média do percurso (VAP) com o auxílio do *software Sperm Class Analyzer* (SCA).

Os dados foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão e analisados por ANOVA seguida pelo Teste de Tukey ( $P < 0,05$ ), utilizando o programa estatístico ASSISTAT® (2013). O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética (12776936-6).

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao comparar o sêmen criopreservado ao *in natura* (98,10%) verificou-se uma diminuição na motilidade espermática em todas as criosoluções ( $P < 0,05$ ). Quando a comparação foi feita entre os tratamentos foi observada diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre eles (Tabela 1), sendo que o BTS

conferiu aos espermatozoides uma maior taxa de motilidade total (49,96%) em relação ao diluente glicose (25,70%). No entanto, tal observação difere de Viveiros et al. (2011) ao criopreservar sêmen de *Brycon insignis*, isso sugere que o protocolo de criopreservação é específico para cada espécie. Quanto às velocidades espermáticas: VCL, VSL e VAP, o sêmen *in natura* apresentou valores superiores ( $P < 0,05$ ) ao sêmen criopreservado, no entanto, não houve diferença significativa entre as velocidades e entre os tratamentos ( $P > 0,05$ ), tal achado também foi observado por Leite (2012) ao criopreservar sêmen de *Colossoma macropomum*.

Tabela 1. Motilidade total e velocidades espermáticas do sêmen de curimatã comum *in natura* e pós-descongelamento.

Tratamento	Motilidade Total (%)	VCL ( $\mu\text{m/s}$ )	VSL ( $\mu\text{m/s}$ )	VAP ( $\mu\text{m/s}$ )
<i>In natura</i>	98,10 $\pm$ 1,44 <sup>a</sup>	125,73 $\pm$ 12,29 <sup>a</sup>	71,83 $\pm$ 1,90 <sup>a</sup>	109,37 $\pm$ 7,94 <sup>a</sup>
Glicose+DMSO	25,70 $\pm$ 6,83 <sup>c</sup>	38,47 $\pm$ 5,69 <sup>b</sup>	19,23 $\pm$ 7,91 <sup>b</sup>	29,13 $\pm$ 8,07 <sup>b</sup>
BTS+DMSO	49,69 $\pm$ 8,66 <sup>b</sup>	46,43 $\pm$ 1,12 <sup>b</sup>	31,27 $\pm$ 1,72 <sup>b</sup>	41,68 $\pm$ 1,78 <sup>b</sup>

### CONCLUSÕES

Nas condições em que se deu este experimento, verificou-se que o sêmen de curimatã comum pode ser criopreservado em BTS associado ao crioprotetor DMSO, obtendo-se boas taxas de motilidade total e de velocidades espermáticas.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Carolsfeld J, Harvey B, Godinho Hp, Zaniboni-Filho E. Cryopreservation of sperm in Brazilian migratory fish conservation. *Journal of Fish Biology*, v.63, p.472-481, 2003.

Leite, L. V. *Dose inseminante, embriogênese e criopreservação de sêmen de tambaqui (Colossoma macropomum)*. 2011. 74 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Veterinária) - Faculdade de Veterinária, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2011.

Nascimento, M. M.; Nascimento, W. S.; Chellappa, N. T.; Chellappa S. Biologia reprodutiva do curimatã comum, *Prochilodus brevis* (Characiformes: Prochilodontidae) no açude Marechal Dutra, Rio Grande do Norte, Brasil. *Biota Amazônia*, v. 2, n. 2, p. 31-43, 2012.

Viveiros, A. T. M.; Amaral, T. B.; Orfão, L. H.; Isaú, Z. A.; Canepel, D.; Leal, M. C. Sperm cryopreservation of tiete tetra *Brycon insignis* (Characiformes): effects of cryoprotectants, extenders, thawing temperatures and activating agents on motility features. *Aquaculture Research*. v. 42, p.858-865, 2011.

## VARIAÇÃO DO ÍNDICE GONADAL DE PEPINO DO MAR (*Holothuria grisea*) NO LITORAL CEARENSE

[Gonadal index *Holothuria grisea* in Ceará]

Maria Eduarda Magalhães de Souza<sup>1</sup>, Liliane Veras Leite<sup>1,2</sup>, Rômulo Roberto Ribeiro Pinheiro<sup>1</sup>, José de Sousa Junior<sup>2</sup>, José Ferreira Nunes<sup>1</sup>, Carminda Sandra Brito Salmito-Vanderley<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratório de Biotecnologia da Reprodução de Peixes - Universidade Estadual do Ceará;

<sup>2</sup> Universidade Federal do Ceará – Projeto PEPMAR.

**ABSTRACT** - The sea cucumbers are marine echinoderms of high international economic interest and biotechnological potential in Brazil. The objective of study was evaluate the variation of the gonad index of *H. grisea* during three months of the year 2013. It were used sea cucumbers collected in coast of Ceará in Brazil (March-May). The animals were dissected to verify the gonad index (GI). In March, the GI was 38,7% and 47,3% (males and females, respectively). In April, the GI was 30,4 % males and 24,1% females. In May was observed an evident decrease in GI. The values found were 4,5% for females, 3,5% for males. It was also noted the presence of individuals with indeterminate sex with GI 1,31%. Therefore we conclude that the sea cucumber *H. grisea* in coast of Ceará has reproductive seasonality.

**Keywords:** reproduction; sea cucumber; sea echinoderm.

**Palavras-Chave:** reprodução; pepino do mar; equinoderma marinho.

### INTRODUÇÃO

Os pepinos do mar são equinodermos da Classe *Holothuroidea* de alto valor econômico no mercado asiático. O produto processado principal é chamado *bêche-de-mer*, e na maioria das capturas é destinada a abastecer principalmente China e Japão como alimento de luxo. O aumento da demanda de pepino do mar não foi acompanhada pelo aumento da oferta, o que gerou um aumento do preço internacional do produto. Assim, estes animais estão vulneráveis à sobre-exploração e esgotamento dos estoques naturais (Purcell et al, 2013). Este desequilíbrio entre oferta/procura e o risco ecológico gerado pela exploração descontrolada de pepino do mar têm impulsionado estudos sobre a reprodução desses animais, a fim de obter informações para apoiar a produção de pepinos do mar em cativeiro, tanto para abastecer o mercado quanto para repovoamento de populações selvagens (Chen, 2006). As investigações sobre a biologia reprodutiva e ciclo reprodutivo de pepino do mar também são necessários para o desenvolvimento de medidas de gestão eficazes para apoiar os benefícios ecológicos, econômicos e sociais deste recurso (FAO, 2007). O método mais comumente utilizado para investigar a reprodução de equinodermes é o Índice Gonadal (IG), que relaciona o peso das gônadas e peso do animal.

No Brasil, existem poucos estudos sobre a reprodução de holotúrias, porque normalmente não são consumidos, mas é reconhecido seu potencial comercial e de seus componentes farmacêuticos. A espécie nativa mais abundante ao longo da costa brasileira é *Holothuria grisea* (Tommasi, 1969). O objetivo desse trabalho foi avaliar a variação do índice gonadal de pepino do mar (*H. grisea*) capturados no litoral cearense do Brasil durante três meses do ano.

### MATERIAL E MÉTODOS

A utilização de pepinos do mar para esta finalidade científica foi autorizada pelo Ministério de Meio Ambiente (MMA/ICMbio) (Número: 22742-1). O estudo ocorreu no município de Barroquinha, litoral cearense do Brasil, durante o período de março a maio de 2013, quando foram coletados 30 exemplares a cada mês de *H. grisea*. Os pepinos do mar foram dissecados e suas vísceras removidas. Foram classificados como machos quando as gônadas possuíam coloração creme, fêmeas quando as gônadas possuíam coloração rosa, ou sexo indefinido quando as gônadas eram transparentes, segundo observações preliminares. Foi verificado o peso úmido parede do corpo (PC), bem como o peso úmido da gônada (PG) utilizando balança digital. O índice gonadal (IG) de cada animal foi estabelecido relacionando o peso da gônada com o

peso corporal utilizando a seguinte fórmula, IG = (PC/PG) x100 (Doyle, 2012).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Sabe-se que o índice gonadal (IG) é um dos métodos mais utilizados para estudar a biologia reprodutiva de equinodermas, pois relaciona o peso da gônada com o peso do animal, permitindo a identificação do crescimento gonadal durante as épocas reprodutivas. Assim, quanto maior o IG, maior a grau de maturidade gonadal (Doyle et al, 2009). No presente estudo, este método demonstrou ser viável para avaliação da reprodução de *H. grisea* utilizando técnicas simples de dissecação e pesagem.

No primeiro mês de observação, março, foram encontrados machos e fêmeas com IG  $38,7 \pm 10,9$  e  $47,3 \pm 18,9$  respectivamente. Em abril, houve uma queda do IG em ambos os sexos, sendo  $30,4 \pm 13,1$  para as fêmeas e  $24,1 \pm 16,6$  para os machos. No mês de maio foi observada uma evidente diminuição do IG passando a valores abaixo de cinco, nas fêmeas ( $4,5 \pm 2,6$ ) e nos machos ( $3,5 \pm 2,2$ ). Além disso, no mês de maio observou-se a presença de indivíduos com sexo indeterminado, sendo estes inexistentes nos meses anteriores, com IG  $1,31 \pm 0,79$ .

As alterações dos IGs entre os meses indicam que esta espécie possui uma sazonalidade reprodutiva, tendo o término da estação reprodutiva em maio, quando as gônadas apresentaram um baixo IG. A presença de indivíduos com sexo indeterminado, ou seja, com gônadas transparentes e pequenas, também evidencia o início de uma fase estacional de parada da reprodução.

Para a avaliação da sazonalidade reprodutiva completa desta espécie, estudos mais aprofundados devem ser realizados, contendo observações mensais durante os 12 meses do ano. Assim, seria possível definir com precisão qual(is) mês(es) do ano possui o maior IG, indicando quais os meses de maior reprodução desta espécie.

## CONCLUSÕES

Por meio da observação das variações do índice gonadal durante os meses de estudo, concluímos que o pepino do mar (*H. grisea*) do litoral cearense possui sazonalidade reprodutiva.

## REFERÊNCIAS

- Chen, J. Overview of sea cucumber farming and sea ranching practices in China. *SPC Beche-de-mer Information Bulletin*, n.18, p. 18-23, 2006.
- Doyle, G.M.; Hamel, J.F.; Mercier, A. A new quantitative analysis of ovarian development in echinoderms: the maturity stage index. *Marine Biology*. v.159, p.455–465, 2009.
- FAO Fisheries and Aquaculture Information and Statistics Service. 2007. Capture production 1950-2005. FISHSTAT Plus – Universal software for fishery statistical time series [online or CD-ROM]. Food and Agriculture Organization of the United Nations. (<http://www.fao.org/fi/statist/FISOFT/FISHPLUS.asp>).
- Purcell, S.W.; Mercier, A.; Conand, C.; Hamel, J.F.; Toral-Granda, M.V.; Lovatelli, A.; Uthicke, S. *Sea cucumber fisheries: global analysis of stocks, management measures and drivers of overfishing*. FISH and FISHERIES, v. 14, P. 34–59, 2013.
- Tommasi L.R. *Lista dos holothuroidea recentes do Brasil. Contribuições Avulsas do Instituto Oceanográfico*. Universidade de São Paulo, série Oceanografia Biológica, São Paulo, v. 15, p.1–29, 1969.

## **Ovinos**

## AVALIAÇÃO DO SÊMEN OVINO RESFRIADO E DILUIDO EM ACP 101/102 ADICIONADO DE DIFERENTES PROPORÇÕES DE *Aloes*

[Evaluation of cooled ram semen is diluted in acp 101/102 added different proportions of *Aloes*]

Lívia Pereira Antunes<sup>1\*</sup>, Bruna Farias Brito<sup>1</sup>, Fábio Ranyeri Nunes Rodrigues<sup>1</sup>, Ana Gláudia Vasconcelos Catunda<sup>1</sup>, Raisal Rodrigues Santos Rios<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Faculdade de Veterinária/UECE. \*Autor para correspondência. E-mail: lívia\_potira@hotmail.com.

**ABSTRACT**-The aim of this study was to determine the best variety and the percentage of inclusion of the extract of plants of the genus *Aloe* in extender water coconut ( ACP-101/ACP-102 ) for the conservation of ram semen , along 24 hours of cooled at 4 ° C. Cooling tests using three varieties of plants of the genus *Aloe*, *Aloe vera*, *A. socotrina* and *A. arborescens* were performed . The extracts were obtained from the gelatinous content of cataphylls. The ejaculates from four breeding sheep were placed in the pool, and then split, aliquoted and diluted in the following protocols: ACP + 5% *A. vera*, ACP + 10% *A. vera* ; ACP + 5 % *A. socotrina*; ACP + 10 % *A. socotrina* ; ACP + 5 % *A. arborescens* , ACP + 10 % *A. arborescens* and two control groups , ACP + 5 % egg yolk and ACP + 10 % egg yolk, a total of 16 repetitions . The samples were subjected to the cooling process at 4 ° C for up to 24 hours in slow curve for evaluation of the kinetic parameters by means of computerized analysis, ACS ®. The kinetic parameters of ram semen cooled to 4 ° C remained satisfactory in all species tested. The *A. vera* species showed the best performance for processed to manufacture thinner catafilo, and is widely cultivated for this reason can be considered as the most appropriate for use.

**Keywords:** cooling; extender; sperm.

**Palavras-Chaves:** diluidor; resfriamento; sêmen.

### INTRODUÇÃO

O extrato de algumas plantas pode ser utilizado nos processos de conservação de células espermáticas, conferindo proteção ao sêmen, em comparação a outros crioprotetores-padrão como sugerido por Gutiérrez et al., 2006. Portanto, o objetivo deste estudo foi determinar a melhor variedade, e o percentual de inclusão do extrato de plantas do gênero *Aloe* em diluentes à base de água de coco em pó (ACP-101/ACP-102), para a conservação do sêmen ovino, ao longo de 24 horas de refrigeração a 4°C.

### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Tecnologia de Sêmen Caprino e Ovino (LTSCO), do Núcleo Integrado de Biotecnologia (NIB), Fortaleza, Ceará. Foram realizados testes de resfriamento utilizando-se três variedades de plantas do gênero *Aloe*: *A. vera*, *A. socotrina* e *A. arborescens*, provenientes do Horto de Plantas Medicinais da Universidade Federal do Ceará. Os extratos foram obtidos a partir do conteúdo gelatinoso dos catafilos, o qual foi triturado, filtrado em gaze, e centrifugado (800G) por até 30 minutos.

Os ejaculados provenientes de quatro reprodutores ovinos foram reunidos em um *pool*, e em seguida divididos, alíquotados e diluídos nos seguintes protocolos: ACP + 5% de *A. vera*; ACP + 10% de *A. vera*; ACP + 5% *A. socotrina*; ACP + 10% *A. socotrina*; ACP + 5% *A. arborescens*, ACP + 10% *A. arborescens* e dois grupos controles, ACP + 5% gema de ovo e ACP + 10% gema de ovo, totalizando 16 repetições. Em seguida, as amostras foram submetidas ao processo de refrigeração a 4°C, por até 24 horas, em curva lenta para a avaliação dos parâmetros cinéticos, por meio de análise computadorizada, SCA®. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste *t-Student*, com 5% de probabilidade de erro.

### RESULTADOS

O percentual de espermatozoides estáticos foi menor no grupo controle, ACP 101/102 acrescidos de 10% de gema de ovo. Os diluentes à base de *Aloe* entre si apresentaram igual desempenho para este parâmetro. O percentual de espermatozoides progressivos do sêmen ovino comportou-se de forma satisfatória, ou seja, não houve grande diferença estatística, em relação aos tratamentos



controle, e nos meios de conservação propostos neste estudo. A motilidade total foi maior no grupo controle, ACP 101/102 acrescidos de 10% de gema de, entretanto, os percentuais de motilidade observados nos diluentes à base de diferentes proporções de *Aloe* foram semelhantes entre si. O tratamento *A.arborescens* 10%, *A.socotrina* 10% e *A.vera* 5% apresentaram percentuais semelhantes ao controle com 5% de gema de ovo. Melo (2010), avaliando o sêmen caprino resfriado em diluente à base de ACP-101 adicionada de 5 e 10% de *Aloe*

*vera* obteve resultados semelhantes. A linearidade permaneceu satisfatória em todos os diluentes testados, com melhores resultados para *A.arborescens* 10%, *A.socotrina* 5% e *A.vera* 5%. O tempo de conservação exerceu efeito significativo ( $p < 0,05$ ) sobre os parâmetros cinéticos do sêmen ovinos, porém, o mesmo apresentou condições satisfatórias de uso, por até 24 horas de conservação resfriado a 4°C estando de acordo com o preconizado pelo CBRA (1998) para sua utilização.

Tabela 1. Média  $\pm$  erro-padrão dos parâmetros do sêmen ovino resfriado e diluído em ACP 101/102 acrescido de extratos de *Aloe* e gema de ovo nas proporções de 5% e 10%.

Diluyente	Sptz. Estáticos (%)	Sptz. Progressivos (%)	Motilidade Total (%)	VCL (m/s)	ALH
ACP + G 5%	17,15 $\pm$ 3,11b	57,03 $\pm$ 3,54 ab	82,85 $\pm$ 3,11 ab	154,79 $\pm$ 8,93 ab	2,45 $\pm$ 0,11b
ACP + G 10%	11,20 $\pm$ 2,50 a	60,76 $\pm$ 6,66 a	88,80 $\pm$ 2,50 a	166,41 $\pm$ 9,74 a	2,48 $\pm$ 0,12 b
ACP + AA 5%	41,99 $\pm$ 8,30 c	40,28 $\pm$ 6,28 b	58,01 $\pm$ 8,30 c	134,46 $\pm$ 10,41 b	2,38 $\pm$ 0,07 ab
ACP + AA 10%	27,98 $\pm$ 7,20 bc	49,89 $\pm$ 4,72 ab	72,03 $\pm$ 7,20 bc	143,93 $\pm$ 7,50 ab	2,34 $\pm$ 0,05 ab
ACP + AS 5%	37,78 $\pm$ 7,89 c	47,78 $\pm$ 6,12 ab	63,23 $\pm$ 7,89 c	140,31 $\pm$ 10,22 ab	2,15 $\pm$ 0,03 a
ACP + AS 10%	32,76 $\pm$ 6,16 c	50,53 $\pm$ 6,42 ab	67,24 $\pm$ 6,16 bc	134,80 $\pm$ 10,18 b	2,19 $\pm$ 0,11 a
ACP + AV 5%	27,31 $\pm$ 5,50 bc	49,91 $\pm$ 6,06 ab	73,94 $\pm$ 5,95 bc	143,91 $\pm$ 7,48 ab	2,30 $\pm$ 0,08 ab
ACP + AV 10%	34,11 $\pm$ 7,41 c	47,91 $\pm$ 6,06 ab	65,89 $\pm$ 7,41 c	131,10 $\pm$ 7,83 b	2,23 $\pm$ 0,08 ab

Médias com letras diferentes entre linhas diferem significativamente pelo teste *t-Student* para ( $P < 0,05$ ).

Velocidade curvilínea (VCL); Amplitude lateral de cabeça (ALH)

## CONCLUSÃO

Os parâmetros cinéticos do sêmen ovino resfriado a 4°C mantiveram-se satisfatórios quando conservados em meios diluentes à base de água de coco em pó, adicionados de extratos de diferentes proporções de plantas do gênero *Aloe*, por até 24 horas de refrigeração. A espécie *A.vera* foi a que apresentou melhor rendimento por catafilo processado para fabricação do diluidor, além de ser amplamente cultivada, por esse motivo pode ser considerada como a mais indicada para o uso.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Colégio Brasileiro de Reprodução Animal. *Manual para Exame Andrológico e Avaliação de Sêmen Animal*, 2ª Ed., Belo Horizonte, 1998.
- Gutiérrez, A.J.; Cosme, R.W.; Jiménez, C.J.A.; Ramírez, G.J.A. Agua de coco, suero fetal bovino, aloe vera y sus combinaciones para criopreservarsemen ovino, *Arch. Zootec.*, v.55, p.101-104. 2006.
- Melo, C.C.S. *Conservação de sêmen caprino a 4 °C utilizando ACP-101 com duas concentrações de Aloe vera ou gema de ovo*. Fortaleza, 2010. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias) – Universidade Estadual do Ceará. Fortaleza, Ceará, 2010.

## CINÉTICA DE ESPERMATOZOIDES OVINOS RECUPERADOS DA CAUDA DO EPIDÍDIMO DE ANIMAIS ALIMENTADOS COM DIFERENTES FORRAGENS

[Kinematics of ovine sperm recovered from the cauda epididymis of animals fed with different forages]

Karen Mascaro Gonçalves da Silva<sup>1\*</sup>, Cristiane Scavuzzi Moura<sup>1</sup>, José Ricardo Coelho da Silva<sup>2</sup>, Pierre Castro Soares<sup>1</sup>, Antonia Sherlânea Chaves Vêras<sup>2</sup>, Maria Madalena Pessoa Guerra<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Medicina Veterinária – UFRPE. \* Autor para correspondência. E-mail: karenmascaro@hotmail.com.

<sup>2</sup> Departamento de Zootecnia – UFRPE.

**ABSTRACT** – The aim of this study was to evaluate the kinetics of sperm of rams fed 60% *Tifton* (G1) or 60% alfalfa (G2). After 60 days of confinement, the sperm were recovered from the cauda epididymis and analyzed by CASA. Although alfalfa has a high content of true protein, important for breeding, replacement diet *Tifton* for alfalfa had no influence on the reproductive parameters.

**Keywords:** semen; alfafa; *Tifton 85*; CASA; ram.

**Palavras-Chave:** sêmen; alfafa; *Tifton-85*; CASA; carneiro.

### INTRODUÇÃO

Forragens representam ingredientes mais abundantes em dietas para ruminantes. Plantas do gênero *Cynodon* despertaram grande interesse e ganharam popularidade devido à sua facilidade de cultivo, alta produção de forragem de bom valor nutritivo (Pedreira, 1996). Para alimentação de ruminantes, a alfafa é considerada a forrageira que reúne um grande número de características desejáveis. Em relação às gramíneas, evidenciam-se o seu conteúdo de carboidratos solúveis e de parede celular e alto conteúdo de proteína verdadeira (Waldo e Jorgensen, 1981).

### MATERIAL E MÉTODOS

Vinte carneiros sem raça definida (SRD), 8 meses de idade, confinados em baias individuais, foram divididos em dois grupos de dietas tendo 60% de *Tifton* (G1) ou 60% de alfafa (G2) como volumoso, ambos com 40% de concentrado (farelo de soja – *Glycine max* e farelo de milho - *Zea mays*). Após 60 dias de confinamento, foi procedida castração e os complexos testículo-epidídimo encaminhados ao Laboratório de Andrologia/Universidade Federal Rural de Pernambuco em recipiente isotérmico. A cauda do epidídimo direito de cada animal foi dissecada e colocada em placa de *petri*, contendo 5mL de Tris-tampão (3,605g de Tris; 2,024g de ácido cítrico;

1,488g de frutose; pH=6-8) a 37°C. A seguir, recuperaram-se os espermatozoides segundo Lone et al. (2012), permanecendo por cinco minutos em placa a 37°C para posterior avaliação computadorizada da cinética espermática no CASA (Computer-Assisted Semen Analysis). Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), e analisados pelo programa computacional *Statistical Analysis System* (SAS, 2009). Todas as análises estatísticas realizadas foram adotados nível de significância de  $P < 0,05$ .

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foram observadas diferenças significativas entre grupos de dietas quanto aos parâmetros de cinética espermática (Tab. 1). A interferência da proteína na dieta sobre a produção espermática foi relatado por Lindsay et al. (1979). No entanto, apesar da alfafa possuir alto conteúdo de proteína verdadeira (Waldo e Jorgensen, 1981), a substituição da dieta do *Tifton* (G1) pela Alfafa (G2) não teve influência sobre os parâmetros reprodutivos analisados. Uma vez que, o custo com a alimentação representa mais da metade do custo da produção, exercendo grande influência na rentabilidade do processo produtivo (Jobim e Branco, 2002), não se torna viável economicamente a substituição do feno de *Tifton* pela alfafa, levando-se em consideração o custo elevado da produção da alfafa.

Tabela 1. Média e desvio padrão dos parâmetros cinéticos de espermatozoides ovinos recuperados da cauda do epidídimo alimentados com 60% de *Tifton* (G1) ou 60% de Alfafa (G2)

PARÂMETROS	G1	G2
MT (%)	49,38+ 19,74	37,86+17,08
VCL (µm/s)	32,27+10,73	28,62+8,95
VSL (µm/s)	8,25+3,90	7,46+3,22
VAP (µm/s)	14,86± 6,10	13,19±4,84
LIN (%)	24,66±6,72	25,90±8,02
STR (%)	56,78±13,58	55,73±9,13
WOB (%)	45,01±6,38	45,74±7,07
ALH (µm/s)	2,14±0,69	1,74±1,20
BCF (Hz)	4,34±2,66	3,22±2,22

MT= motilidade total; VCL= velocidade curvilinear; VSL= velocidade em linha reta; VAP= velocidade *média*; LIN= *linearidade*; STR= *retilinearidade*; WOB= *oscilação*; ALH= *amplitude do descolamento lateral da cabeça espermática*; BCF= frequência do batimento flagelar cruzado.

### CONCLUSÃO

A substituição da dieta de *Tifton-85* pela alfafa não determina influência nos parâmetros da cinética espermática de espermatozoides ovinos recuperados da cauda do epidídimo.

### AGRADECIMENTOS

Ao CNPq, pela concessão da bolsa de Pós-doutorado Júnior (PDJ). À FACEPE, CNPq e CAPES, pelo auxílio financeiro.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Jobim, C.C.; Branco, A.F. Influência da qualidade de forragens conservadas sobre a produção e a qualidade do leite de vacas. In: SIMPÓSIO SOBRE SUSTENTABILIDADE PECUÁRIA

LEITEIRA NA REGIÃO SUL DO BRASIL, 2002, 1., Maringá. *Anais...Maringá: Sul-leite*, 2002. p. 77-96.

Lindsay, D.R., Gherardi, P.B. E Oldham, C.M. The effect of feeding a high protein supplement before joining on testicular volume of rams. In: *Sheep Breeding*, 571-575. *Butterworths*, London, UK. ,1979.

Lone, F.A.; Islam, R.; Khan, M.Z.; Sofi, K.A. *Effect of different egg yolk-based extenders on the quality of ovine cauda epididymal spermatozoa during storage at 4°C*, *Reproduction in Domestic Animal*, v. 47, n. 2, p. 257-62, 2012.

Pedreira, C.G.S. Avaliação de novas gramíneas de gênero *Cynodon* para a pecuária dos Estados Unidos, In.: *Workshop Sobre O Potencial Forrageiro Do Gênero Cynodon*, Juiz de Fora, 1996. *Anais... Juiz de Fora, EMBRAPA-CNPGL*, 1996, p. 111-125.

WALDO, D.R.; JORGENSEN, N.A. Forages for high animal production: nutritional factors and effects of conservation. *Journal of Dairy Science*, v. 64, p. 1207, 1981.

## EFEITO DA SOMATOTROPINA RECOMBINANTE BOVINA (RBST) NA BIOMETRIA TESTICULAR DE OVINOS SANTA INÊS

*[Effect of recombinant bovine somatotropin (rbST) on biometric testicular Santa Ines rams]*

Isôlda Márcia Rocha do Nascimento<sup>1\*</sup>, Leopoldina Almeida Gomes<sup>1</sup>, Antonio de Sousa Júnior<sup>1</sup>, Ana Lys Bezerra Barradas Mineiro<sup>1</sup>, Willames Costa Neves<sup>1</sup>, José Adalmir Torres Souza<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal do Piauí – UFPI. \*Autor para correspondência. E-mail: isoldamarcia@ufpi.edu.br.

**ABSTRACT** - The objective of this study was to evaluate the effect of recombinant bovine somatotropina (rbST) on the testicular biometric in ram Santa Ines. Eighteen Santa Inês rams were randomly divided into three experimental groups (G1, G2 and G3). The G1 receiving 2 ml of 0.9% saline subcutaneously with application interval of 14 days and the G2 and G3 (n = 6) receiving subcutaneously 100mg/kg and 125mg/Kg of rbST, respectively, application interval of 14 days. The testicular measurements were scrotal circumference, testicular length and width for the calculation of testicular volume. The application of rbST in every 14 days did not improve the testicular biometric in ram Santa Ines.

**Keywords:** testicular biometric; rbST; ram.

**Palavras-Chave:** biometria testicular; rbST; carneiro.

### INTRODUÇÃO

O GH ou somatotropina (ST) é um hormônio pituitário que regula inúmeros mecanismos do crescimento animal, metabolismo de nutrientes além de afetar as funções reprodutivas (Hull & Harvey, 2000). Segundo Rabassa (2012), em suínos, a Somatotropina (ST) interfere no controle da espermatogênese e esteroidogênese, causando maior desenvolvimento testicular e antecipação da puberdade. Estudos, em bovinos, revelaram que a aplicação de rbST, induziu o incremento na produção de IGF-I, que é o principal mediador da ação da ST, aumentou a proliferação celular em nível testicular e, houve consequentemente maior produção e melhor qualidade espermática (Farofa et al., 2009). Os mecanismos através dos quais a ST desempenha o seu efeito no tecido testicular e sobre a célula espermática, entretanto, são complexos, necessitando de mais pesquisas, especialmente em pequenos ruminantes. Objetivou-se com o presente trabalho avaliar o efeito da somatotropina recombinante bovina (rbST) sobre a biometria testicular em ovinos Santa Inês.

### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Biotecnologia de Reprodução Animal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Piauí

(UFPI). Foram utilizados 18 carneiros da raça Santa Inês, com faixa etária entre 22 a 36 meses, divididos aleatoriamente, em três grupos experimentais (G1, G2 e G3). O G1 (n=6) receberam 2mL de solução fisiológica 0,9%, via subcutânea com intervalo de aplicação de 14 dias durante seis meses. O G2 (n=6) e o G3 (n=6) receberam, por via subcutânea, 100mg/kg e 125mg/Kg de rbST (BOOSTIN® Intervet Schering Plough), respectivamente, em intervalo de aplicação de 14 dias. As mensurações testiculares foram aferidas, tracionando os testículos direito e esquerdo simetricamente, medindo-se o perímetro escrotal (cm) com fita métrica andrológica na região mediana do escroto, e com o paquímetro para as mensurações do comprimento e largura testicular para cálculo do volume testicular.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tab. 01 demonstra que não houve diferença estatística, entre os grupos estudados, em relação à biometria testicular em ovinos Santa Inês. Esses dados contariam os achados por Farofa et al. (2009), que afirmam que o rbST atua aumentando os níveis de fator de crescimento semelhante à insulina tipo I (IGF-I), fazendo a proliferação tecidual dos testículos. Rabassa (2012), também afirmou que a Somatotropina (ST) promoveu um maior desenvolvimento testicular em suínos.

Tabela 1. Biometria testicular de ovinos Santa Inês tratados ou não com Somatotropina Recombinante Bovina (rbST)

	G1 (controle)	G2 (100mg rbST)	G3 (125mg rbST)
Vol. Test. Esquerdo	234,323 ± 48,407 <sup>a</sup>	230,43 ± 48,139 <sup>a</sup>	263,428 ± 29,074 <sup>a</sup>
Vol. Test. Direito	216,495 ± 50,284 <sup>a</sup>	226,557 ± 44,822 <sup>a</sup>	233,245 ± 36,604 <sup>a</sup>
Circunferência escrotal	30,143 ± 1,032 <sup>a</sup>	30,042 ± 1,407 <sup>a</sup>	30,218 ± 0,920 <sup>a</sup>

\*Médias seguidas da mesma letra, na linha, não diferem entre si pelo Teste de Tuckey (P>0,05)

### CONCLUSÃO

A Aplicação de 100mg e 125mg rbST, em intervalos de 14 dias, por um período de seis meses não promoveu melhoria na biometria testicular em ovinos Santa Inês.

### REFERÊNCIAS

Farofa, T.S.; Rockenbach, T.L.; Velho, I.C.; Rabassa, V.R.; Bianchi, Corrêa, M. N. *Efeito da aplicação da somatotropina (ST) no desempenho reprodutivo de machos ruminantes e suínos*,

2009. Acesso 27 de fevereiro de 2014. Disponível em: <http://www.ufpel.edu.br/nupeec>.

Hull, K. L.; Harvey, S. Growth Hormone: a reproductive endocrine paracrine regulator. *Revisão de Reprodução*, v. 05, p. 175-182, 2000

Rabassa, V. R. *Efeito da Somatotropina Suína (pST) sobre o desenvolvimento testicular, idade à puberdade e qualidade espermática de machos suínos*. 2012. 63f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

## EFEITO DA SOMATROPTOPINA BOVINA RECOMBINANTE (RBST) SOBRE AS CARACTERÍSTICAS SEMINAIS DE OVINOS SANTA INÊS

[Effect of recombinant bovine somatotropin (rbST) on seminal characteristics of Santa Inês sheep]

Leopoldina Almeida Gomes<sup>1\*</sup>, Felipe Pereira da Silva Barçante<sup>1</sup>, Yndyra Nayan Teixeira Carvalho<sup>1</sup>, Marlon de Araújo Castelo Branco<sup>1</sup>, Sávio Ruan Sampaio de Sousa<sup>1</sup>, José Adalmir Torres de Souza<sup>1</sup>

<sup>1</sup> UFPI. Autor para correspondência. E-mail: le\_medvet@hotmail.com.

**ABSTRACT-** The study aimed to evaluate the effect of recombinant bovine somatotropin on seminal characteristics of Santa Inês sheep. 18 Santa Inês rams were selected aging between 22 to 36 months, divided into three groups: G1- physiological 0.9% NaCl solution; G2-100mg/rbST and G3-125mg/rbST (Boostin® Intervet Schering Plough), with applications via SC, every 14 days, according to MacDonal and Deaver (1993). Semen collections were made weekly by the method of artificial vagina and evaluated according to the Brazilian College of Animal Reproduction. We evaluated the libido and seminal characteristics such as volume, total motility, vigor, and turmoil and sperm concentration. Among the results it was found that there was no significant difference between the studied parameters, except for an increase in G3 in sperm concentration compared to the groups analyzed. It is concluded that rbST dose of 125mg caused a positive effect on sperm concentration.

**Keywords:** sheep; recombinant bovine somatotropin; sêmen.

**Palavras-Chave:** ovino; somatotropina bovina recombinante; sêmen.

### INTRODUÇÃO

A somatotropina bovina recombinante (rbST) é um hormônio com efeitos sobre a qualidade seminal e metabolismo animal, a qual induz a um incremento na produção de IGF-I, aumento na proliferação celular em nível testicular e, conseqüentemente maior produção espermática, com reflexo sobre o desenvolvimento reprodutivo do macho. A ST, portanto, pode ser uma alternativa interessante na tentativa de melhorar a qualidade espermática de ovinos (FAROFA et al., 2009). Diante disso e da escassez de dados minuciosos sobre o mecanismo de ação deste hormônio no sêmen de ovinos é que se propôs a referente pesquisa e assim avaliar o efeito da somatotropina bovina recombinante (rbST) sobre as características seminais de ovinos Santa Inês.

### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido de março a agosto de 2013, no Laboratório de Biotecnologia da Reprodução Animal – LBRA, do Centro de Ciências Agrárias (CCA) da UFPI, Teresina-PI. Foram selecionados 18 carneiros Santa Inês com faixa etária entre 22 a 36 meses, divididos em três grupos: T1- solução fisiológica NaCl 0,9%; T2- 100mg/rbST e o T3-125mg/rbST (BOOSTIN®

Intervet Schering Plough), com aplicações a cada 14 dias via subcutânea, de acordo com MacDonal e Deaver (1993). Foram realizadas coletas de sêmen semanalmente, pelo método de vagina artificial, avaliados andrologicamente de acordo com o Manual de Andrologia do Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA, 1998). Durante as coletas avaliou-se a libido, assim como as características seminais tais como volume, motilidade total (0-100%), vigor (0-5), turbilhão (0-5) e concentração espermática. Utilizou-se a análise de variância do tipo inteiramente casualizado e avaliação de comparação de médias pelo teste de Tukey ao nível de 5%, através do *software* Assistat 7.7 beta.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os resultados obtidos na tabela 1 verificou-se que não houve diferenças estatísticas entre as características seminais com exceção da concentração espermática, a qual teve melhores resultados no tratamento de 125 mg de rbST, quando comparado aos demais tratamentos. De acordo com Sauerwein et. al (2000), o rbST pode agir indiretamente elevando as concentrações de IGF-I, influenciando na espermatogênese e na esteroidogênese. Além de possuir mecanismos biológicos que estimulam a proliferação celular, em

nível testicular e uma maior produção espermiática, ativando uma maior quantidade de túbulos seminíferos, acarretando em maior atividade

espermatogênica sem aumentar o volume testicular (Farofa & Pacheco et al., 2009).

Tabela 1. Características seminais de ovinos Santa Inês tratados ou não com rbST.

Características seminais	G1- Controle	G2- 100mg/rbST	G3-125mg/rbST
Libido	38,96 ± 23,795a	36,495 ± 17,271a	31,127 ± 10,544a
Vigor	3,184 ± 0,505a	3,286 ± 0,722a	2,973 ± 0,316a
Volume	1,018 ± 0,071a	1,262 ± 0,197a	1,08 ± 0,224a
Motilidade total	72,219 ± 7,66a	73,037 ± 15,478a	65,636 ± 7,297a
Turbilhão	2,836 ± 0,559a	3,133 ± 0,865a	2,933 ± 0,209a
Concentração	295,643 ± 58,463b	298,038 ± 77,315b	389,073 ± 17,703a

### CONSIDERAÇÕES FINAIS

A aplicação de 125 mg de rbST, em intervalos de 14 dias, apresentou melhoria na concentração espermiática em ovinos Santa Inês.

### REFERÊNCIAS

Farofa, T.S.; Rockenbach, T.L.; Velho, I.C.; Rabassa, V.R.; Bianchi, Corrêa, M. N. Efeito da aplicação da somatotropina (ST) no desempenho reprodutivo de machos ruminantes e

suínos, 2009. Acesso 27 de fevereiro de 2014. Disponível em: <http://www.ufpel.edu.br/nupeec>.

Macdonald, R. D; Deaver, D. R. *Testicular development in the bulls treated with recombinant bovine somatotropin*. J. Anim. Sci., V.7, 1540-1545 p, 1993.

Pacheco A., Oliveira A.F.M., Quirino C.R., Landim a.V. Características seminais de carneiros da raça santa inês na pré-puberdade, puberdade e na pós-puberdade. *Ars Veterinaria*, Jaboticabal, SP, v.25,n.2,090-099, 2009.

Sauerwein h., Meyer h.H.D., Schams D. Divergent effects of estrogens on the somatotropic axis in male and female calves *Journal Of Reproduction Development*, 38:271– 8,1992.

## EFEITO DA SUBSTITUIÇÃO DO FENO DE *TIFTON 85* (*Cynodon dactylon*) POR FENO DE ALFAFA (*Medicago sativa*) SOBRE OS PARÂMETROS REPRODUTIVOS DE OVINOS

[Effect of replacement Tifton 85 (*Cynodon dactylon*) by alfalfa hay (*Medicago sativa*) on reproductive parameters of sheep]

Cristiane Scavuzzi Moura<sup>1\*</sup>, José Ricardo Coelho da Silva<sup>2</sup>, Lúcia Cristina Pereira Arruda<sup>3</sup>, Robespierre Augusto Joaquim Araújo Silva<sup>3</sup>, Antonia Sherlânea Chaves Vêras<sup>4</sup>, Pierre Castro Soares<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Pós-doutoranda da UFRPE. \* Autor para correspondência. E-mail: csmoura2000@yahoo.com.br.

<sup>2</sup> Doutorando em Zootecnia, UFRPE.

<sup>3</sup> Mestrando(a) em Ciência Veterinária, UFRPE.

<sup>4</sup> Professora Adjunto do DZ da UFRPE.

<sup>5</sup> Professor Adjunto do DMV da UFRPE.

**ABSTRACT** - Aiming to evaluate the reproductive parameters resulting from the replacement of *Tifton 85* by alfalfa hay in diet for sheep, 40 mixed breed sheep were used, 250 days, divided in four groups (n=10): T1 (60% *Tifton*), T2 (40% *Tifton* + 20% Alfafa), T3 (40% Alfafa + 20% *Tifton*) and T4 (60% Alfafa). Evaluation of sperm kinetics, measurement of testicular weight and serum testosterone was performed. No statistical differences were observed between diets of sheep in the right testis weight and left, testosterone and total and progressive motility. Thus, it is concluded that the replacement of *Tifton 85* (*Cynodon dactylon*) by alfalfa hay (*Medicago sativa*) did not affect the reproductive parameters of sheep.

**Keywords:** nutrition; testicular weight; semen; spermatocinect; testosterone.

**Palavras-Chave:** nutrição; peso testicular; sêmen; cinética espermática; testosterona.

### INTRODUÇÃO

Animais em atividade reprodutiva necessitam de suplementação alimentar com ração concentrada, devido a sua elevada exigência nutricional (Bueno et al., 2007). Por possuir elevada produtividade, alta digestibilidade e boa aceitação pelos animais, além de alto valor nutritivo, o *Tifton* (*Cynodon spp*) é uma espécie forrageira geralmente recomendada como base volumosa para animais que constituem essa categoria (Ataide Júnior et al, 2000). O feno de alfafa constitui uma importante fonte energética e proteica para a nutrição, contendo em média 90% de matéria seca, 16% de proteína bruta e 4117 Kcal/Kg de energia bruta (Perali et al., 2001). Todavia, a substituição dos alimentos pode influenciar o desempenho reprodutivo dos animais. Desta forma, objetivou-se avaliar o efeito da substituição do feno de *Tifton 85* (*Cynodon dactylon*) por feno de alfafa (*Medicago sativa*) sobre os parâmetros reprodutivos de ovinos.

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 40 carneiros SRD, durante 250 dias, alojados em baias individuais, distribuídos em

quatro grupos de dieta (n=10): D1 (60% *Tifton*); D2 (40% *Tifton*+20% Alfafa); D3 (40% Alfafa+20%*Tifton*) e D4 (60% Alfafa). Amostras de sangue e sêmen foram coletadas aos 60 dias de confinamento e os testículos removidos após o abate dos animais (dia posterior). O sangue foi coletado por venopunção da jugular em tubos siliconizados à vácuo sem anticoagulante para dosagem sérica da testosterona através da eletroquimioluminescência em analisador Access 2 da Beckman Coulter no Laboratório do Cenapesq da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). O sêmen foi coletado por vagina artificial e avaliada a cinética espermática no CASA (Computer-Assisted Semen Analysis) no Laboratório de Andrologia Androlab) da UFRPE. Os testículos foram pesados individualmente em balança digital (modelo Kern 410).

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), correlação entre pares e analisados pelo programa computacional *Statistical Analysis System* (SAS, 2009). Para todas as análises estatísticas realizadas foi adotado nível de significância de P<0,05.



**RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Não foram evidenciadas diferenças significativas entre os tipos de dieta dos ovinos

(Tab.1) em relação ao peso testicular direito (PTD) e esquerdo (PTE), testosterona sérica (TEST) e motilidade total (MT) e progressiva (MP).

Tabela 1. Peso testicular, testosterona sérica e cinética espermática de ovinos SDR nas diferentes dietas.

Parâmetros	D1	D2	D3	D4	P	CV
PTD (g)	175,82±29,90	205,45±29,61	193,04±36,80	181,86±28,29	0,1767	16,57
PTE (g)	175,65± 30,94	200,35±30,69	191,08±33,99	180,40±28,82	0,3040	16,68
TEST (ng/mL)	4,70±2,85	6,82±2,76	6,98±2,96	6,61±2,35	0,2749	36,30
MT (%)	82,33±19,15	83,10±13,28	81,05± 20,20	84,93±6,94	0,9786	19,08
MP (%)	30,80±16,58	29,87±15,15	36,95±15,32	39,92±9,88	0,5783	42,07

Os níveis de testosterona encontrados nos grupos D2, D3 e D4 (Tab. 1) estão dentro dos valores registrados por Rodrigues et al. (2010) que avaliaram o efeito da utilização do bagaço de caju na dieta de ovinos machos com 250 dias de idade da raça Santa Inês (6,91 e 6,09 ng/mL), confirmando que as dietas adotadas foram capazes de influenciar a maturidade sexual dos carneiros. Da mesma forma, os valores de MT (Tab. 1) foram superiores aqueles descritos por Pacheco et al. (2009) que analisando subjetivamente a motilidade do sêmen de carneiros após a puberdade (253 dias), encontraram percentuais inferiores (65,9%), indicando que as dietas utilizadas nesse experimento possuem níveis nutricionais adequados ao bom desempenho reprodutivo em carneiros.

**CONCLUSÃO**

A substituição do feno de *Tifton 85* (*Cynodon dactylon*) pelo feno de alfafa (*Medicago sativa*) não influenciou os parâmetros reprodutivos de ovinos.

**REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

Ataíde Júnior, J.R.; Pereira, O.G.; Garcia, R.; Valadares Filho, S.C.; Cecon, P.R.; Freitas, E.V.V. Valor nutritivo do feno de capim-tifton 85 (*Cynodon spp.*) em diferentes idades de rebrota, em ovinos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.29, n.6, supl. 2, p. 2193-2199, 2000.

Bueno, M.S.; Santos, L.E.; Cunha, E.A. *Alimentação de ovinos criados intensivamente*. Acesso em 20/02/2013 Disponível em: [http://www.linfobibos.com/artigos/2007\\_2/alimentovinos/index.htm](http://www.linfobibos.com/artigos/2007_2/alimentovinos/index.htm).

Pacheco, A.; Madella-Oliveira, A.F.; Quirino, C.R.; Landim, A.V. Características seminais de carneiros da raça Santa Inês na pré-puberdade, puberdade e na pós-puberdade. *ARS Veterinária*, v.25, n.2, p. 90-99, 2009.

Perali, C.; Lima, J.A.F.; Fialho, E.T. Valores Nutricionais de alimentos para equinos. *Ciências e Agrotecnologia*, v.25, p.1216-1224, 2001.

Rodrigues, M.R.C.; Rondina, D.; Araújo, A. A.; Arruda, I.J.; Silva, L.M.; Nunes-Pinheiro, D.C.; Fernandes, A.A.O. Utilização do bagaço de caju (*Anacardium occidentale*) na alimentação de cordeiros do desmame à puberdade: respostas metabólicas, hormonais e sexuais. *Ciência Animal*, v.20, n.1, p. 17-26, 2010.

## EFEITO DO *Aloe vera* ADICIONADO EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES À ÁGUA DE COCO EM PÓ (ACP-102®) NO SÊMEN OVINO DILUÍDO E INCUBADO POR DUAS HORAS

[Effect of *Aloe vera* added in different concentrations to Powdered Coconut Water (ACP-102®) in ram semen diluted and incubated for two hours.]

**Bruna Farias Brito<sup>1</sup>, Livia Pereira Antunes<sup>1</sup>, Fábio Ranyeri Nunes Rodrigues<sup>1</sup>, Cristiane Clemente de Mello Salgueiro<sup>2</sup>, José Maurício Maciel Cavalcante<sup>1,3</sup>, José Ferreira Nunes<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Universidade Estadual do Ceará – UECE.

<sup>2</sup> Universidade Potiguar.

<sup>3</sup> Faculdade Terra Nordeste – FATENE.

**ABSTRACT** – Although *Aloe vera* (AV) has been evaluated in sperm preservation, studies suggest a potential toxic effect. This study evaluated the effect of different concentrations of the AV extract added to ACP-102® extender in ram semen incubated at 37°C for 2h. Ram semen was diluted in ACP-102® added to 0%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 70% and 100% of AV and evaluated for kinetic parameters at 0 (t0) and 2h (t2) of incubation at 37°C. No effect was observed between the treatments during incubation excepting for ALH (which was reduced at 10% of AV when comparing to 30, 40 and 50% of AV at t2) and VAP (which was reduced from t0 to t2 in the ACP-102 with 70 and 100% of AV). The addition of *Aloe vera* to ACP-102® showed no deleterious effects on the kinetic parameters during incubation of ram spermatozoa at 37°C for up to 2h.

**Keywords:** *Aloe*; CASA; toxicity.

**Palavras-Chave:** babosa; CASA; toxicidade.

### INTRODUÇÃO

Um bom diluidor deve apresentar ausência de toxicidade, osmolaridade semelhante a do sêmen, pH favorável e ser de preparação simples e de baixo custo. Estas características, que se acham presentes no diluidor à base de água de coco, confere sobrevivência e viabilidade na preservação de gametas (Nunes & Salgueiro, 2011).

A babosa (*Aloe vera*) também tem sido estudada na conservação espermática, por conter muitas substâncias que podem favorecer a sobrevivência dos espermatozoides (Veloso & Peglow, 2003). Porém, a presença de princípios tóxicos em vários produtos à base de *Aloe vera* sugere uma potencial toxicidade, que depende das seções da planta usada na produção do extrato. Em ratos, o consumo oral de extrato etanólico de toda folha da babosa resultou em aumento da mortalidade e toxicidade reprodutiva. No entanto, a administração sub-crônica, feita a partir do gel do interior da folha não mostrou evidência de toxicidade (Sehgal et al., 2013). Além disso, a presença destes produtos naturais pode apresentar efeitos deletérios ao sêmen quando adicionados a diluidores seminais (Lustyková et al., 2012). Assim, este trabalho teve

como objetivo avaliar o efeito de diferentes concentrações do extrato da *Aloe vera* ao diluidor ACP-102® na incubação do sêmen ovino à 37 °C por até duas horas.

### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Tecnologia do Sêmen Caprino e Ovino (LTSCO) da Universidade Estadual do Ceará (UECE). O sêmen foi obtido por meio de vagina artificial, de quatro reprodutores ovinos das raças Santa Inês (n=2) e Dorper (n=2) e reunidos em um *pool*. Foram usados seis *pools* provenientes de seis coletas de cada animal. Foi usado o diluidor à base de água de coco em pó (ACP-102®), específico para a espécie ovina, acrescido de diferentes concentrações (%) de *Aloe vera*: zero, ACP 0, controle; 10, ACP 10; 20, ACP 20; 30, ACP 30; 40, ACP 40; 50, ACP 50; 70, ACP 70 e 100, ACP 100. Alíquotas de cada *pool* foram diluídas nos respectivos tratamentos, incubadas a 37 °C e avaliadas logo após diluição (t0) e com duas horas de incubação (t2) em sistema computadorizado de análise de sêmen (CASA, SpermClassAnalyser®, Microptic S.L. versão 3.2.0) para os parâmetros motilidade total (MT), motilidade progressiva

(MP), velocidade do percurso médio (VAP) e amplitude de deslocamento lateral da cabeça (ALH). Os resultados foram expressos em média  $\pm$  desvio padrão e os dados submetidos à ANOVA com comparação de médias pelo teste de Duncan a  $P < 0,05$ .

## RESULTADOS

Independente da concentração usada, o *Aloe vera* não apresentou efeito deletério aos espermatozoides (Tab. 1). Exceto para variável ALH, os tratamentos com *Aloe vera* não apresentaram diferenças significativas entre si, seja no momento t0 ou em t2.

No que se refere ao ALH, o sêmen diluído em ACP 10 foi inferior ao ACP 30, ACP 40 e ACP 50 em t2. Comparando cada tratamento entre os tempos de incubação t0 e t2, os tratamentos ACP 70 e ACP 100 apresentaram redução na VAP em t2, bem como ACP 0 e ACP 10 apresentaram redução para ALH também em t2. Ainda que sem diferença significativa, a motilidade total e progressiva tenderam a ser superiores com nível de inclusão superior a 10% de *Aloe vera*. Estes resultados contrastam com os obtidos por Gutiérrez et al. (2006), onde a adição de mais de 50% de *Aloe vera* mostrou efeito nocivo para o sêmen ovino criopreservado afetando a motilidade espermática.

Tabela 1. Média dos parâmetros cinéticos do sêmen ovino diluído em ACP-102<sup>®</sup> com diferentes concentrações de *Aloe vera* avaliados logo após diluição (t0) e com duas horas de incubação 37 °C (t2)

Tratamento	Motilidade total (%)		Progressivos (%)		VAP ( $\mu\text{m/s}$ )		ALH ( $\mu\text{m}$ )	
	t0	t2	t0	t2	t0	t2	t0	t2
ACP 0	81,2 $\pm$ 11,8 <sup>a,A</sup>	81,0 $\pm$ 4,3 <sup>a,A</sup>	47,8 $\pm$ 8,6 <sup>a,A</sup>	47,5 $\pm$ 7,7 <sup>a,A</sup>	68,6 $\pm$ 18,0 <sup>a,A</sup>	65,9 $\pm$ 16,6 <sup>a,A</sup>	2,6 $\pm$ 0,4 <sup>a,A</sup>	2,4 $\pm$ 0,3 <sup>ab,B</sup>
ACP 10	86,0 $\pm$ 9,8 <sup>a,A</sup>	90,8 $\pm$ 4,3 <sup>a,A</sup>	44,1 $\pm$ 8,6 <sup>a,A</sup>	44,7 $\pm$ 7,1 <sup>a,A</sup>	53,4 $\pm$ 10,2 <sup>a,A</sup>	56,1 $\pm$ 12,1 <sup>a,A</sup>	2,5 $\pm$ 0,4 <sup>a,A</sup>	2,2 $\pm$ 0,2 <sup>ab,B</sup>
ACP 20	84,7 $\pm$ 12,9 <sup>a,A</sup>	86,9 $\pm$ 4,8 <sup>a,A</sup>	49,7 $\pm$ 10,5 <sup>a,A</sup>	50,9 $\pm$ 2,6 <sup>a,A</sup>	66,3 $\pm$ 18,0 <sup>a,A</sup>	67,9 $\pm$ 14,3 <sup>a,A</sup>	2,6 $\pm$ 0,3 <sup>a,A</sup>	2,6 $\pm$ 0,3 <sup>ab,A</sup>
ACP 30	90,1 $\pm$ 5,8 <sup>a,A</sup>	92,3 $\pm$ 3,7 <sup>a,A</sup>	56,9 $\pm$ 6,5 <sup>a,A</sup>	54,4 $\pm$ 6,7 <sup>a,A</sup>	66,7 $\pm$ 10,6 <sup>a,A</sup>	61,5 $\pm$ 5,5 <sup>a,A</sup>	2,7 $\pm$ 0,4 <sup>a,A</sup>	2,9 $\pm$ 0,3 <sup>a,A</sup>
ACP 40	86,9 $\pm$ 12,5 <sup>a,A</sup>	88,3 $\pm$ 7,9 <sup>a,A</sup>	52,7 $\pm$ 10,5 <sup>a,A</sup>	51,6 $\pm$ 6,9 <sup>a,A</sup>	64,2 $\pm$ 14,2 <sup>a,A</sup>	60,5 $\pm$ 12,0 <sup>a,A</sup>	2,6 $\pm$ 0,4 <sup>a,A</sup>	2,8 $\pm$ 0,3 <sup>a,A</sup>
ACP 50	89,1 $\pm$ 6,2 <sup>a,A</sup>	88,6 $\pm$ 7,2 <sup>a,A</sup>	54,4 $\pm$ 7,3 <sup>a,A</sup>	52,9 $\pm$ 7,9 <sup>a,A</sup>	61,5 $\pm$ 8,5 <sup>a,A</sup>	58,0 $\pm$ 4,0 <sup>a,A</sup>	2,7 $\pm$ 0,5 <sup>a,A</sup>	3,0 $\pm$ 0,5 <sup>a,A</sup>
ACP 70	88,1 $\pm$ 6,0 <sup>a,A</sup>	89,8 $\pm$ 4,2 <sup>a,A</sup>	54,6 $\pm$ 7,1 <sup>a,A</sup>	50,9 $\pm$ 6,8 <sup>a,A</sup>	58,9 $\pm$ 9,7 <sup>a,A</sup>	52,2 $\pm$ 7,6 <sup>ab,B</sup>	2,6 $\pm$ 0,4 <sup>a,A</sup>	2,7 $\pm$ 0,4 <sup>ab,A</sup>
ACP 100	84,5 $\pm$ 9,5 <sup>a,A</sup>	84,7 $\pm$ 12,9 <sup>a,A</sup>	55,7 $\pm$ 11,5 <sup>a,A</sup>	54,8 $\pm$ 14,1 <sup>a,A</sup>	68,6 $\pm$ 8,4 <sup>a,A</sup>	53,9 $\pm$ 6,8 <sup>ab,B</sup>	2,7 $\pm$ 0,5 <sup>a,A</sup>	2,4 $\pm$ 0,3 <sup>ab,A</sup>

<sup>a,b</sup> Diferenças entre tratamentos no mesmo tempo de incubação num dado parâmetro.

<sup>A,B</sup> Diferenças entre tempos de incubação no mesmo tratamento num dado parâmetro.

## CONCLUSÃO

A adição de *Aloe vera* ao diluidor ACP-102<sup>®</sup>, independente da concentração, não apresentou efeitos deletérios aos parâmetros cinéticos durante a incubação de espermatozoides ovinos, a 37 °C por até 2h.

## AGRADECIMENTOS

À ACP Biotecnologia pelo fornecimento do diluidor ACP-102<sup>®</sup>.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Gutiérrez, A.J.; Cosme, R.W.; Jiménez, C.J.A.; Ramírez, G.J.A. Agua de coco, suero fetal bovino, *Aloe vera* y sus combinaciones

para criopreservar semen ovino. *Revista Archivos de Zootecnia*, v.55, n.209, p.101-104, 2006.

Lustyková A.; Frydrychová S.; Václavková E.; Lipenský J.; Rozkot M.; Opletal L. Effect of natural substances added to semen extender on the boar semen survival time. *Research in Pig Breeding*, v.6, n.1, p. 33-35, 2012.

Nunes JF, Salgueiro CCM. Strategies to improve the reproductive efficiency of goats in Brazil. *Small Ruminant Research*, v.98, p.176-184, 2011.

Veloso, C.C.; Peglow, K. *Plantas Medicinais*. Porto Alegre: EMATER/RS – ASCAR, 2003.

Ehgal I, Winters WD, Scott M, David A, Gillis G, Stoufflet T, Nair A, Kousoulas K. Toxicologic assessment of a commercial decolorized whole leaf *Aloe vera* juice, lily of the desert filtered whole leaf juice with aloesorb. *Journal of Toxicology*, v.2013, Article ID 802453, 12 pages, 2013. doi:10.1155/2013/802453.

## EFEITOS DA SUBSTITUIÇÃO DO FENO DO *TIFTON-85* (*Cynodon spp*) POR FENO DE ALFAFA (*Medicago sativa*) SOBRE O PARÊNQUIMA TESTICULAR EM CARNEIROS

[Effect of replacement Tifton 85 hay (*Cynodon spp*) for alfalfa hay (*Medicago sativa*) on testicular parenchyma in rams]

Anna Kelly Lima Pontes Venâncio<sup>1\*</sup>, Cristiane Scavuzzi Moura<sup>2</sup>, Pierre Castro Soares<sup>3</sup>, José Ricardo Coelho da Silva<sup>4</sup>, Antonia Sherlânea Chaves Vêras<sup>5</sup>, Valdemiro Amaro da Silva Júnior<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Mestranda em Biociência animal, UFRPE. \* Autor para correspondência. E-mail: kellypontes88@gmail.com.

<sup>2</sup> Pós-doutoranda da UFRPE.

<sup>3</sup> Professor Adjunto do DMV da UFRPE.

<sup>4</sup> Mestrando em Ciência Veterinária, UFRPE.

<sup>5</sup> Professora Adjunta do DZ da UFRPE.

<sup>6</sup> Professor Adjunto do DMFA da UFRPE.

**ABSTRACT** - Aiming to evaluate the reproductive parameters resulting from the replacement of *Tifton 85* hay for Alfalfa hay in the diet of sheep, 40 sheep SRD were used, 8 months, divided into four groups (n=10): T1 (60% *Tifton*), T2 (40% *Tifton* + 20% Alfalfa), T3 (40% Alfalfa + 20% *Tifton*) and T4 (60% Alfalfa). The animals in all groups showed lesions as vacuolization of Sertoli cells, desquamation of epithelium, reducing the height of the germinal epithelium, but these lesions were not present testicular parenchyma as a whole. Thus, it is concluded that the replacement of *Tifton 85* (*Cynodon dactylon*) by Alfalfa hay (*Medicago sativa*) did not damaged the germinal epithelium of animals.

**Keywords:** nutrition; histometry; germinal epithelium.

**Palavras-Chave:** nutrição; histometria; epitélio germinativo.

### INTRODUÇÃO

O fator nutricional assume um dos papéis de maior relevância sobre os parâmetros reprodutivos dos ovinos (MAIA et al., 2011). O *Tifton* (*Cynodon spp*), é uma espécie de forrageira recomendada por possuir bom valor nutritivo (ATAÍDE JÚNIOR et al, 2000). Os rebentos da *Medicago sativa* são uma boa fonte de proteínas, flavonóides, entre outros (KHALEEL et al., 2005). Contudo animais machos podem ser sensíveis aos efeitos da isoflavona (KUMI-DAIKA et al., 1998). Objetivou-se neste estudo avaliar o efeito da substituição do feno de *Tifton 85* (*Cynodon dactylon*) por feno de alfafa (*Medicago sativa*) sobre o parênquima testicular dos ovinos.

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 40 carneiros SRD, 8 meses de idade, confinados em baias individuais no Departamento de Zootecnia da Universidade Federal Rural de Pernambuco e divididos em 4 grupos (n=10): G1 (60% *Tifton*); G2 (40% *Tifton* e

20% Alfafa); G3 (20% *Tifton* e 40% Alfafa); G4 (60% Alfafa).

Após o abate dos animais, os testículos foram removidos, pesados individualmente, acondicionados em sacos plásticos e encaminhados para o Laboratório de Histologia do Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE. Foram retirados fragmentos, os quais foram fixados em solução de glutaraldeído a 4% em tampão fosfato de sódio, 0,01 M e pH 7,2 por 24h. Os cortes foram submetidos a duas lavagens de uma hora em tampão fosfato pH 7,3 e 0,01M, posteriormente desidratados em séries crescentes de álcool (70°, 2 vezes; 80°, 2 vezes; 90°, 2 vezes e 100°, 2 vezes) com trocas a cada 15 minutos. Os fragmentos foram incluídos em resina plástica (glicol metacrilato - GMA, Leica). Cortes histológicos de 4 µm de espessura foram obtidos em micrótomo automático com navalhas de vidro para historresina (Reichert-Jung), corados em Hematoxilina-Fluoxina, montados com Entelan (Merck) e analisados histometricamente em microscópio binocular (Zeiss), na área de Histologia do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da UFRPE.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os animais de todos os grupos apresentaram lesões como: vacuolização das células de Sertoli, descamação do epitélio, redução da altura do epitélio germinativo (fig.1), destacando-se as alterações sofridas pelo grupo 3 (fig. 1C) que foram mais intensas. Devendo-se salientar que as lesões não atingiram o testículo como um todo. KUMI-DIACA et al. (1998) afirmaram que as isoflavonas podem prejudicar a proliferação de linhagens

celulares do testículo. Isso pôde ser corroborado com o grupo 3 que recebeu maior proporção de alfafa e apresentou lesões mais pronunciadas, muito embora no grupo nutrido somente com Alfafa isso não ocorreu. Sugere-se pois, que a associação de 40% de alfafa e 20% de *Tifton* provocou um desequilíbrio dos níveis nutricionais adequados para ovinos reprodutores uma vez que a nutrição está intimamente relacionada com os parâmetros reprodutivos dos animais (MAIA et al., 2011).

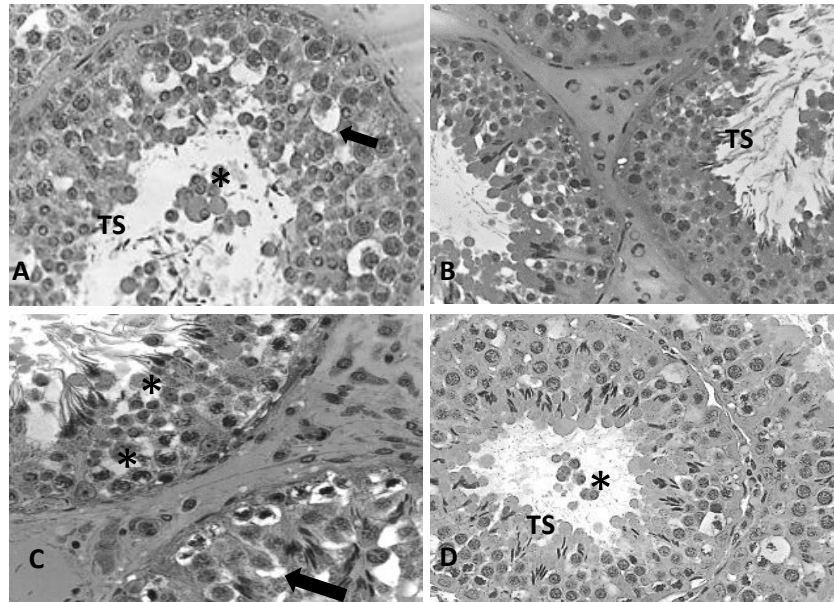


Figura 1: Fotomicrografia de testículo de carneiros. Aumento 40x. **A.** Fotomicrografia do testículo de carneiro alimentado com 60% *Tifton*-85. Notar túbulo seminífero (TS) em processo de degeneração, descamação de epitélio (asterisco); **B.** Fotomicrografia do testículo de carneiro com dieta de: 40 % *Tifton*-85 e 20% Alfafa., Notar redução da altura do epitélio germinativo (asterisco); **C.** Fotomicrografia do testículo de carneiro com dieta de: 20 % *Tifton*-85 e 40% Alfafa. Notar presença de morte celular (seta preta grande), afrouxamento de epitélio germinativo (asterisco); **D.** Fotomicrografia do testículo de carneiro alimentado com 60% Alfafa. Notar descamação do epitélio germinativo ( asterisco). Setas pretas pequenas para vacuolização das células de Sertoli.

## CONCLUSÃO

A substituição do feno de *Tifton*-85 (*Cynodon dactylon*) pela Alfafa (*Medicago sativa*) não provocou alterações no parênquima testicular dos ovinos.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ataíde Júnior, J.R.; Pereira, O.G.; Garcia, R.; Valadares Filho, S.C.; Cecon, P.R.; Freitas, E.V.V. Valor nutritivo do feno de capim-*Tifton* 85 (*Cynodon spp.*) em diferentes idades de rebrota, em ovinos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.29, n.6, supl. 2, p. 2193-2199, 2000.

Khaleel, A.E.; Gad, M.Z.; El-Maraghy, S.A.; Hifnawy, M.S.; Abdel-Sattar, E. Study of hypocholesterolemic and antiatherosclerotic properties of *Medicago sativa* L. cultivated in Egypt. *Journal of Food and Drug Analysis*, 13, 212-218, 2005.

Kumi-Diaka, J.; Rodriguez, R.; Goudaze, G. Influence of genistein (4',5,7 trihydroxyisoflavone) on growth and proliferation of testicular cell lines. *Biol Cell, Colchester*, v. 90, n. 4, p. 349-354, Jul. 1998.

Maia, M.S.; Medeiros, I.M.; Lima, C.A.C. Características reprodutivas de carneiros no Nordeste do Brasil: parâmetros seminiais. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.35, n.2, p.175-179, 2011.

## EFEITOS DO FARELO DE CASTANHA DE CAJU SOBRE AS PROTEÍNAS ESPERMÁTICAS DE OVINOS

*[Effects of cashew nut meal on ram sperm proteins]*

Rodrigo V. de Oliveira<sup>1\*</sup>, Maurício F. van Tilburg<sup>1</sup>, Ronaldo Q. dos Santos<sup>1</sup>, Frederico B. Moreno<sup>2</sup>, Ana Cristina O. Monteiro-Moreira<sup>2</sup>, Arlindo Moura<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Zootecnia, Universidade Federal do Ceará. \*Autor para correspondência. E-mail: oliveirarvetal@gmail.com.

<sup>2</sup>Faculdade de Farmácia, Universidade de Fortaleza.

**ABSTRACT**-The cashew nut meal (CNM) is nutritive and low costs option for sheep feeding. However, there is a lack of studies evaluating its effects on ram's reproduction. Therefore, the main objectives of this work were to evaluate the effects of 13% of CNM inclusion in the diet of rams on the semen parameters and sperm proteins. Twenty rams were distributed in two equal groups: cashew nut group (CNG: 13% CNM) and control group (COG: 0% CNM). The groups were compared for sperm quality and sperm protein expression at 0, 45 and 90 days of the experiment. There was not effect of CNM on sperm quality. But, the percentages of ODF1 and H2B proteins were larger in the CNG ( $P<0.05$ ). In conclusion, the cashew nut meal affects the expression of ram sperm proteins.

**Keywords:** nutrition; spermatozoa; proteomics.

**Palavras-Chave:** nutrição; espermatozoide; proteômica.

### INTRODUÇÃO

Dentre os fatores que afetam a reprodução dos machos a nutrição se destaca como um dos principais. Devido aos gastos elevados com manejo nutricional pelos criadores, existe uma demanda de alimentos de baixo custo e nutritivos para inclusão nas rações animais, como por exemplo, o farelo de castanha de caju (Santos-Filho et al., 2005). Considerando a viabilidade econômica do farelo de castanha na alimentação de ovinos, se faz necessária uma análise dos seus possíveis efeitos na qualidade seminal. Entretanto, a avaliação da qualidade espermática pela motilidade e morfologia não permite uma apreciação molecular destas células.

Embora análises proteômicas espermáticas tenham identificado proteínas associadas com a fertilidade de ruminantes (D'amours et al., 2010), os possíveis efeitos nutricionais sobre a expressão de polipeptídeos no espermatozoide ainda são desconhecidos. Portanto, o objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito da alimentação de reprodutores ovinos com farelo de castanha de caju, sobre a expressão de proteínas dos espermatozoides.

### MATERIAL E MÉTODOS

Vinte carneiros da raça Morada Nova com 18 meses de idade foram divididos em dois grupos, denominados grupo castanha (GCA) e grupo controle (GCO). Ambos os grupos receberam rações totais isoproteicas e isocalóricas. Entretanto, o GCA recebeu 13% de FCC na dieta. A quantidade de ração fornecida foi diariamente ajustada visando à manutenção das sobras em torno de 10% do total fornecido no dia anterior.

O sêmen foi coletado semanalmente durante 90 dias por meio de eletroejaculação e avaliado quanto ao volume (mL), motilidade massal (1-5), porcentagem de espermatozoides móveis (%), vigor espermático (1-5), defeitos espermáticos (%) e integridade de cromatina (%) (Mello, 1982).

O protocolo de extração das proteínas espermáticas foi realizado segundo de Yebra e Oliva (1993). As proteínas foram separadas em géis unidimensionais de ácido acético-uréia-poliacrilamida (15%) (AU-PAGE) (de Oliveira et al., 2013). Após a corrida os géis foram corados com Coomassie G-250 (SIGMA-ALDRICH®, EUA) seguindo o protocolo de van Tilburg et al. (2013). Os géis foram digitalizados para avaliação das imagens e para quantificação da densidade óptica (%) das

bandas proteicas foi utilizado o programa *Quantity One* 4.6.3. (GE Healthcare®, EUA). Foram selecionadas para comparação entre os grupos apenas as bandas presentes em todos os animais.

As bandas proteicas de interesse foram submetidas à digestão trípica. Os peptídeos obtidos foram processados por espectrometria de massas. E posteriormente, os resultados de espectros proteicos foram submetidos à busca nas bases de dados NCBI e SwissProt por meio do programa online *MASCOT Server* (<http://www.matrixscience.com>). (van Tilburg et al., 2013).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado. Os dados foram analisados pelo método *GLM for repeated measures* (ANOVA) do Systat 12® e expressos em média (erro padrão (EP)).

### RESULTADOS

As avaliações dos parâmetros seminais não diferiram significativamente entre GCA e GCO. Contudo, aos 90 dias, a expressão relativa da banda proteica B2, identificada como *outer dense fiber protein 1* (ODF1), foi superior no grupo castanha (GCA: 17,0% (0,7); GCO: 13,8% (0,3)) ( $P<0.05$ ). Adicionalmente, durante o mesmo período, a banda B4, reconhecida como a histona H2B, apresentou superior expressão no grupo castanha (GCA: 6,7% (0,7); GCO: 4,9% (0,4)) ( $P<0.05$ ).

A proteína ODF1 constitui parte das fibras densas externas presentes no flagelo espermático, possuindo função estrutural e de proteção a danos físicos (Baltz et al., 1990). A nucleoproteína H2B estrutura o nucleossomo e modula a expressão gênica por meio de modificações pós-traducionais, contudo, sua persistência exagerada afeta

negativamente o adensamento cromatínico nos espermatozoides sendo associada à infertilidade humana (Zhang et al., 2006).

### CONCLUSÃO

A inclusão do farelo de castanha em 13% da ração de carneiros da raça Morada Nova não alterou a qualidade seminal, porém, promoveu uma expressão diferenciada de proteínas espermáticas.

### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq e a CAPES pelo financiamento da pesquisa.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Baltz, J. M.; Williams, P. O.; Cone, R. A. Dense fibers protect mammalian sperm against damage. *Biology of Reproduction*, v. 43, n. 3, p. 485-491, September 1, 1990.
- D 'Amours, O. et al. Proteomic comparison of detergent-extracted sperm proteins from bulls with different fertility indexes. *Reproduction*, v. 139, n. 3, p. 545-556, March 1, 2010.
- De oliveira, R. V. et al. Molecular morphology and function of bull spermatozoa linked to histones and associated with fertility. *Reproduction*, v. 146, n. 3, p. 263-72, Sep 2013.
- De Yebra, L.; OLIVA, R. Rapid Analysis of Mammalian Sperm Nuclear Proteins. *Analytical Biochemistry*, v. 209, n. 1, p. 201-203, 1993.
- Mello, M. L. Induced metachromasia in bull spermatozoa. *Histochemistry*, v. 74, n. 3, p. 387-92, 1982.
- Zhang, X.; San Gabriel, M.; Zini, A. Sperm nuclear histone to protamine ratio in fertile and infertile men: evidence of heterogeneous subpopulations of spermatozoa in the ejaculate. *J Androl*, v. 27, n. 3, p. 414-20, May-Jun 2006.

## EXISTE DIFERENÇA DE OSMOLARIDADE ENTRE EJACULADOS DE CARNEIROS?

*[There is difference in osmolality between ejaculates of rams?]*

**Gabriel Felipe Oliveira de Menezes<sup>1\*</sup>, Fabiana Almeida Bidegain<sup>1</sup>, Rebeca Santos da Silva<sup>1</sup>, Carollina Florido Pires<sup>1</sup>, Hymerson Costa Azevedo<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> UFS – Universidade Federal de Sergipe. \* Autor para correspondência. E-mail: gmenezes.vet@gmail.com.

<sup>2</sup> Embrapa Tabuleiros Costeiros.

**ABSTRACT** - The osmolarity of semen is an extremely important factor because it is correlated not only with the components present in seminal plasma but also with sperm quality. Studies have been conducted in order to establish limits osmolarities of extenders however has not reviewed the osmolarity of the ejaculate itself which may influence the results. Against this background, The present study aimed to characterize the osmotic profile and determine whether there is variation in osmolarity between the ejaculates of rams. 24 mature rams were used, collected at two different times on the same day using an artificial vagina and semen was then taken to the laboratory for further analysis. The results showed that the average osmolarity of semen it is 322.23 mOsmol and there is no variation between the first and second ejaculate of the same day.

**Keywords:** ovine; semen; spermatozoa; osmotic.

**Palavras-Chave:** ovino; sêmen; espermatozoide; osmótico.

### INTRODUÇÃO

O plasma seminal dos ovinos é composto por diversas substâncias em diferentes concentrações, entre elas: frutose, sorbitol, ácido nítrico, inositol, glicerilfosforilcolina, que apresentam diferentes funções (Hafez & Hafez, 2004). A presença ou ausência dessas substâncias, assim como suas concentrações, interferem diretamente na osmolaridade do ejaculado. É de conhecimento que em diferentes compartimentos do epidídimo, o meio líquido que o espermatozoide se encontra, apresenta diversos níveis de osmolaridade, relacionados à menor ou maior quantidade de solutos (Robaire et al., 2006).

Estudos têm tentado estabelecer níveis ideais de osmolaridade nos meios de manutenção dos espermatozoides ovinos. Estes obtidos a partir de diferentes fontes, epidídimo, eletroejaculação e vagina artificial (Tamayo-Canul et al., 2011; Álvarez et al., 2012), porém não estabelecem relação entre os resultados alcançados e a osmolaridade da própria amostra colhida que pode ser influenciada por diversos fatores inerentes ao indivíduo.

O presente estudo teve como objetivo caracterizar o perfil osmótico e avaliar se existe variação de osmolaridade entre os ejaculados de carneiros.

### MATERIAL E MÉTODOS

As atividades de colheita e análise do sêmen foram realizadas no Campo Experimental Pedro Arle, localizado no povoado Manuino, zona rural do município de Frei Paulo, estado de Sergipe (SE), unidade da Embrapa Tabuleiros Costeiros, em novembro de 2013.

Foram usados 24 carneiros com idades acima de dois anos, da raça Santa Inês, do Núcleo de Conservação da mesma raça. Os ejaculados foram coletados por meio de vagina artificial com água aquecida entre 42 e 50°C, usando-se uma fêmea em estro natural. Os ejaculados foram depositados em tubos graduados de vidro, previamente aquecidos a temperatura de 37°C, protegidos contra a luz e então encaminhadas imediatamente para avaliação da osmolaridade de cada ejaculado, em Osmômetro (Wescor, VAPRO 5520, Utah, EUA). Foram colhidos o 1º e o 2º ejaculados de cada reprodutor os quais foram analisados separadamente em triplicata calculando-se a média das três alíquotas.



O delineamento estatístico empregado foi o inteiramente casualizado, sendo os carneiros considerados como repetições (n=24) dentro de cada tratamento (ejaculado). Para a análise estatística foi empregado o programa Sisvar - versão 4.3 (2000). Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e para a comparação das médias foi usado o teste de *Tukey*, com nível de significância de 5%.

## RESULTADOS

A média e desvio padrão da osmolaridade de todos os ejaculados foi de 322,23 mOsmol  $\pm$  28,64. Na Tabela 1 estão apresentados os resultados de osmolaridade de acordo com o ejaculado.

Tabela 1. Níveis de osmolaridade do 1º ejaculado e do 2º ejaculado coletado de ovinos.

Ejaculado	Osmolaridade (Média $\pm$ Desvio Padrão)
1º	322,61 mOsmol $\pm$ 31,66 <sup>a</sup>
2º	321,85 mOsmol $\pm$ 24,59 <sup>a</sup>

Letras iguais mostram que não há diferença significativa entre as médias (P>0,05), pelo teste *Tukey*.

## CONCLUSÃO

Conclui-se que a osmolaridade do sêmen de ovino deslanado é de 322,23 mOsmol e que não existe variação entre o primeiro e o segundo ejaculado do mesmo dia.

## REFERÊNCIAS

Álvarez, M.; Tamayo-canul, J.; Martínez-Rodríguez, C.; López-Urueña, E.; Gomes-Alves, S.; Anel, L.; Martínez-Pastor, F.; Paz, P. Specificity of the extender used for freezing ram sperm depends of the spermatozoa source (ejaculate, electroejaculate or

epididymis). *Animal Reproduction Science*, v. 132, p. 145– 154, 2012.

Hafez, B.; Hafez, E.S.E. *Reprodução animal*. Editora Manole, Barueri, SP, cap. 18 e 25, 2004.

Robaire, B; T. Hinton, B. T.; Orgebin-Crist, M. C. The Epididymis. In: *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction*. 3 ed. v.1, New York: Elsevier Academic Press, 2006, cap. 1, p. 3-54.

Tamayo-Canul, J.; Alvarez, M.; Mata-Campuzano, M.; Álvarez-Rodríguez, M.; Paz, P.; Anel, L.; Martínez-Pastor, F. Effect of storage method and extender osmolality in the quality of cryopreserved epididymal ram spermatozoa. *Animal Reproduction Science*, v. 129, p.188–199, 2011.

## RENDIMENTO DA ESPERMATOGÊNESE E EFICIÊNCIA DAS CÉLULAS DE SERTOLI EM OVINOS SEM PADRÃO RACIAL DEFINIDO ORIUNDOS DO SEMIÁRIDO PARAIBANO COM E SEM BIPARTIÇÃO ESCROTAL

*[Spermatogenesis yield and Sertoli cells efficiency in sheeps undefined breed from semiarid of Paraíba with and without scrotal bipartition]*

Ramon Tadeu Galvão Alves Rodrigues<sup>1\*</sup>, José Rômulo Soares dos Santos<sup>1</sup>, Otávio Brillhante de Sousa<sup>1</sup>, Danilo José Ayres de Menezes<sup>1</sup>

<sup>1</sup> UFCG. \* Autor para correspondência. E-mail: ramon.tgar@hotmail.com

**ABSTRACT** - Aiming evaluate the effect of scrotal bipartition on spermatogenesis in native sheep of the State of Paraíba, were used 12 undefined breed sheep testes coming from slaughterhouses in the city of Patos-PB, divided into two groups, GI composed to 6 animals with bipartition and GII with 6 animals without scrotal bipartition. Was held the measurement of testicular biometry, and then obtained histological blades. In the testicular biometry were no significant statistical difference ( $p > 0,05$ ) between the groups. The meiotic and spermatogenesis yields and Sertoli cell efficiency showed better in animals with bipartition ( $p < 0,05$ ), while the mitotic yield did not differ ( $p > 0,05$ ) between GI and GII. It is concluded that there is spermatogenic superiority of bipartite sheeps, suggesting that these animals are, as noted in goats, better reproductive efficiency.

**Keywords:** reproduction; morphology; ruminant; testis; seminiferous epithelium.

**Palavras-Chave:** reprodução; morfologia; ruminante; testículo; epitélio seminífero.

### INTRODUÇÃO

Para o sucesso produtivo do rebanho, é fundamental entender-se os mecanismos reprodutivos dos animais, como a dinâmica gonadal, facilitando a escolha de um bom produtor (SANTOS et al., 1998). Em regiões tropicais, alterações na conformação do saco escrotal foram descritas em caprinos e ovinos e autores analisaram o efeito dessas alterações sobre a eficiência reprodutiva, utilizando como uma das técnicas a observação da espermatogênese por meio da quantificação histológica testicular (Nunes et al., 1983; Melo, 2011).

Este trabalho teve como objetivo identificar a presença e a intensidade de diferenças na espermatogênese em animais com saco escrotal bipartido.

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram usados testículos de 12 ovinos SRD provenientes de abatedouros localizados no município de Patos, Paraíba (PB), divididos em dois grupos. O grupo I (GI) constitui-se de seis

animais com divisão escrotal distal, e o grupo II (GII) com seis animais sem bipartição.

Foram obtidos os seguintes parâmetros: perímetro escrotal, antes do abate e peso, diâmetro e comprimento, após o abate. Fragmentos dos testículos foram processados em rotina histológica e o material analisado, observando-se o rendimento da espermatogênese, contando-se as células do epitélio seminífero em 20 seções transversais de túbulos por testículo/animal no estágio 1 do ciclo do epitélio seminífero. Foi calculado o rendimento mitótico, o rendimento meiótico, o rendimento espermatogênico e a eficiência das células de Sertoli (CS) conforme Almeida et al. (2010). Todos os números celulares encontrados foram corrigidos de acordo com o fator de correlação modificado por Amann e Almquist (1962).

Os resultados foram submetidos à análise de variância (ASSISTAT v.7.6) e as médias comparadas pelo teste Student-Newman-Keuls (SNK) a 5 % de significância.

**RESULTADOS**

Os dados de biometria escroto-testicular não evidenciaram diferença estatística significativa ( $p>0,05$ ) entre GI e GII (Tab. 1). Enquanto, os

histológicos apresentaram diferença estatística ( $p<0,05$ ) entre os dois grupos para os rendimentos meiótico, espermatogênico e eficiência das células de Sertoli, não sendo observada diferença no rendimento mitótico (Tabela 1).

Tabela 1. Parâmetros morfológicos e histológicos de testículos de ovinos SRD com e sem bipartição escrotal (média  $\pm$  desvio padrão).

Parâmetro	Animais bipartidos (GI)	Animais não bipartidos (GII)
Comprimento (cm)	6,57 $\pm$ 0,35 <sup>a</sup>	6,55 $\pm$ 0,28 <sup>a</sup>
Diâmetro (cm)	4,82 $\pm$ 0,24 <sup>a</sup>	4,72 $\pm$ 0,20 <sup>a</sup>
Peso (g)	83,32 $\pm$ 14,37 <sup>a</sup>	82,22 $\pm$ 20,96 <sup>a</sup>
Circunferência escrotal (cm)	25,33 $\pm$ 1,21 <sup>a</sup>	25,16 $\pm$ 1,94 <sup>a</sup>
Rendimento Mitótico	1,90 $\pm$ 0,15 <sup>a</sup>	1,78 $\pm$ 0,30 <sup>a</sup>
Rendimento Meiótico	27,20 $\pm$ 6,08 <sup>a</sup>	19,37 $\pm$ 2,86 <sup>b</sup>
Rendimento Espermatogênico	51,61 $\pm$ 11,17 <sup>a</sup>	34,33 $\pm$ 6,31 <sup>b</sup>
Eficiência das células de Sertoli	22,74 $\pm$ 7,29 <sup>a</sup>	13,88 $\pm$ 4,24 <sup>b</sup>

Médias seguidas de mesma letra na mesma linha não diferem entre si estatisticamente pelo teste SNK a 5% de significância ( $P>0,05$ ).

**CONCLUSÃO**

A bipartição escrotal influencia o rendimento meiótico, espermatogênico e a eficiência das células de Sertoli.

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

Almeida, M.M.; Machado Júnior, A.A.N.; Ambrósio, C.E. et al. Influência do grau de bipartição escrotal sobre parâmetros reprodutivos de caprinos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.30, n.4, p.345-350, 2010.

Amann, R.P.A.; Almquist, J.O. Reproductive capacity of dairy bull. VIII. Direct and indirect measurement of testicular sperm production. *Journal Dairy Science*, v.45, n.1, p.774-781, 1962.

Melo, T.M.V. Testículos bipartidos em ovinos morada nova – relato de caso. *Congresso Brasileiro De Reprodução Animal*. Recife – PE, 2011.

Nunes, J.F.; Riera, G.S.; Silva, A. E.F.D.; ponce de leon, F.A.; lima, F.A.M. *Características Espermáticas De Caprinos Moxotó De Acordo Com A Morfologia Escrotal*. Sobral: EMBRAPA/CNPCaprinos, 1983. 11p. (Circular técnica, 6).

Santos, D.O.; Simplício, A.A.; Machado, R. Características escroto-testiculares e do ejaculado em bodes mestiços submetidos à insulação escrotal. *Arquivo Brasileiro De Medicina Veterinária E Zootecnia*, v.50, n.3, p.287-291, 1998.

## SOROPREVALÊNCIA DA INFECÇÃO POR *Brucella ovis* EM OVINOS EXPLORADOS NA MICRORREGIÃO HOMOGÊNEA DE TERESINA, PIAUÍ, BRASIL

[*Brucella ovis* infection seroprevalence in sheep exploited the homogeneous micro Teresina, Piauí, Brazil]

Bruno Leandro Maranhão Diniz<sup>1\*</sup>, Raymundo Rizaldo Pinheiro<sup>2</sup>, Francisco Selmo Fernandes Alves<sup>2</sup>, Tadeu Bezerra Leopoldo<sup>1</sup>, Janaina de Fátima Saraiva Cardoso<sup>1</sup>, Ney Rômulo de Oliveira Paula<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Piauí, Piauí, Brasil. \*Autor para correspondência. E-mail:brunoleandrodiniz@ufpi.edu.br.

<sup>2</sup>Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral-CE, Brasil.

**ABSTRACT:** Considering the importance of this disease and the lack of data on the state of Piauí, the aim of this study was to determine the sero-epidemiological situation of *Brucella ovis* infection in sheep from Teresina homogeneous microregion, Piauí. The study included a sampling universe of 282 sheep distributed in 24 herds, and the samples were collected by venipuncture of the jugular vein. Serology for detection of anti-*B. ovis* antibodies was performed by the method of agarose gel immunodiffusion (AGID). Of the 282 samples tested, there was 5.67% (16/282) positive to *B. ovis* infection by immunodiffusion in agarose gel test. *Brucella ovis* is present in sheep flocks in Teresina homogeneous microregion, necessitating thus the implementation of control measures to prevent the spread of this disease.

**Keywords:** seroprevalence; *Brucella ovis*; sheep.

**Palavras-Chave:** soroprevalência; *Brucella ovis*; ovinos.

### INTRODUÇÃO

A ovinocultura tem se destacado de forma crescente no agronegócio nacional, contribuindo expressivamente no desenvolvimento da cadeia produtiva brasileira e otimizando o desenvolvimento socioeconômico da população (Marinho et al., 2012).

A Brucelose é uma das várias doenças infecciosas que causam perdas reprodutivas em animais domésticos (Megid et al., 2010). A *Brucella ovis* tem tropismo por tecido do troto genital de ovinos, onde replica-se e produz infecção (Ridler & West, 2011). Considerando a importância desta enfermidade e a escassez de dados no Estado do Piauí, objetivou-se estimar a soroprevalência da infecção por *Brucella ovis* em ovinos explorados na Microrregião Homogênea de Teresina, Piauí.

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas 282 amostras, provenientes de 24 rebanhos da Microrregião Homogênea de Teresina. As amostras foram coletadas por meio da punção da veia jugular externa. As amostras foram centrifugadas a 290g durante 15 minutos, para obtenção do soro, que foi dividido em alíquotas de

1,5mL por microtubos tipo *ependorf*, congeladas e mantidas a -20 °C até a realização das análises. A detecção de anticorpos anti-*Brucella ovis* foi realizada pelo método de Imunodifusão em Gel de Agarose, utilizando-se kits produzidos pelo Instituto de Tecnologia do Paraná (TECPAR<sup>®</sup>). Para as análises estatísticas, com base no desenho amostral por conglomerados, foi utilizado o programa *software* Stata 9.0. Calculou-se a prevalência total em seus respectivos intervalos de 95% de confiança, através do Teste Exato de Fisher.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

A prevalência geral para a infecção por *Brucella ovis* na Microrregião Homogênea de Teresina foi de 5,67% (16/282) (Tabela 1). Na avaliação dos rebanhos, 37,5% (09/24) apresentaram animais reagentes a infecção.

Segundo Ridler & West (2011) a *B. ovis* tem tropismo para se replicar no trato genital de ovinos e a infecção tecidual causa epididimite e orquite. Ressalte-se que animais jovens, de inexperiente atividade sexual, e animais mais velhos, com atividade sexual diminuída, são menos expostos à infecção (Ficapal et al., 1998).

Tabela 1. Número e porcentagem de animais positivos e negativos, à infecção por *Brucella ovis*, pelo teste de IDGA\*, segundo as variáveis sexo e categoria em rebanhos ovinos na Microrregião Homogênea de Teresina, Piauí.

Rebanho	Nº de animais	Fêmea (n;%)		Macho (n;%)		Positivo (n;%)
		Jovem (70)	Matriz (148)	Jovem (46)	Reprodutor (18)	
01	12	0; 0,0	0; 0,0	0; 0,0	0; 0,0	<b>0; 0,0</b>
02	12	0; 0,0	0; 0,0	0; 0,0	0; 0,0	<b>0; 0,0</b>
03	12	0; 0,0	0; 0,0	1; 8,3	0; 0,0	<b>1; 8,3</b>
04	12	0; 0,0	3; 25,0	0; 0,0	0; 0,0	<b>3; 25,0</b>
05	10	0; 0,0	2; 20,0	0; 0,0	0; 0,0	<b>2; 20,0</b>
06	12	0; 0,0	0; 0,0	0; 0,0	0; 0,0	<b>0; 0,0</b>
07	10	0; 0,0	1; 10,0	0; 0,0	0; 0,0	<b>1; 10,0</b>
08	12	1; 8,3	1; 8,3	0; 0,0	0; 0,0	<b>2; 16,7</b>
09	10	0; 0,0	0; 0,0	0; 0,0	0; 0,0	<b>0; 0,0</b>
10	12	0; 0,0	3; 25,0	0; 0,0	0; 0,0	<b>3; 25,0</b>
11	12	0; 0,0	0; 0,0	0; 0,0	0; 0,0	<b>0; 0,0</b>
12	12	0; 0,0	0; 0,0	0; 0,0	0; 0,0	<b>0; 0,0</b>
13	12	0; 0,0	0; 0,0	0; 0,0	0; 0,0	<b>0; 0,0</b>
14	12	0; 0,0	0; 0,0	0; 0,0	0; 0,0	<b>0; 0,0</b>
14	12	0; 0,0	0; 0,0	0; 0,0	0; 0,0	<b>0; 0,0</b>
16	12	0; 0,0	0; 0,0	0; 0,0	0; 0,0	<b>0; 0,0</b>
17	12	0; 0,0	0; 0,0	0; 0,0	0; 0,0	<b>0; 0,0</b>
18	12	0; 0,0	0; 0,0	0; 0,0	0; 0,0	<b>0; 0,0</b>
19	12	1; 8,3	1; 8,3	0; 0,0	0; 0,0	<b>2; 16,7</b>
20	12	0; 0,0	0; 0,0	0; 0,0	0; 0,0	<b>0; 0,0</b>
21	12	0; 0,0	0; 0,0	0; 0,0	1; 8,3	<b>1; 8,3</b>
22	12	0; 0,0	0; 0,0	0; 0,0	0; 0,0	<b>0; 0,0</b>
23	12	0; 0,0	0; 0,0	0; 0,0	1; 8,3	<b>1; 8,3</b>
24	12	0; 0,0	0; 0,0	0; 0,0	0; 0,0	<b>0; 0,0</b>
24	282	2; 2,85	11; 7,43	1; 2,17	2; 11,11	<b>16; 5,67</b>

\*Kit diagnóstico produzido pelo Instituto de Tecnologia do Paraná (TECPAR). O antígeno de proteínas e lipopolissacarídeos solúveis, extraídos da bactéria *B. ovis*, amostra Reo 198.

## CONCLUSÃO

Anticorpos anti-*Brucella ovis* estão presente em rebanhos ovinos na Microrregião Homogênea de Teresina, necessitando-se, desta forma, da implantação de medidas de controle para evitar a propagação dessa enfermidade, principalmente, na detecção e retirada dos reprodutores soro positivos, que podem ser os principais disseminadores do agente etiológico.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ficapal, A. et al. Diagnosis and epidemiology of *Brucella ovis* infection in rams. *Small Ruminant Research*, v.29, p.13-19, 1998.
- Marinho, M. et al. Perfil de aglutininas anti-leptospira e anti-brucella e condições sanitárias de ovinos da região noroeste do Estado de São Paulo, Brasil. *Veterinária e Zootecnia*. v.19, n.4, p.593-600, 2012.
- Megid, J. Et al. Clinical manifestations of Brucellosis in domestic animals and humans. *Open Veterinary Science Journal*, v.4, p.119126, 2010.
- Ridler, A.L.; West, D.M. Control of *Brucella ovis* infection in sheep. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. v.27, 61-66, 2011.

## SOROPREVALÊNCIA DA INFECÇÃO POR *Chlamydomphila abortus* EM PEQUENOS RUMINANTES EXPLORADOS NA MICRORREGIÃO DO ALTO MÉDIO GURGUÉIA, NO ESTADO DO PIAUÍ, BRASIL

[*Chlamydomphila abortus* infection seroprevalence in small ruminants exploited in the upper middle Gurguéia microregion, state of Piauí, Brazil]

Harisson Nunes Batista<sup>1\*</sup>, Raymundo Rizaldo Pinheiro<sup>2</sup>, Francisco Selmo Fernandes Alves<sup>2</sup>, Bruno Leandro Maranhão Diniz<sup>1</sup>, Tadeu Bezerra Leopoldo<sup>1</sup>, Ney Rômulo de Oliveira Paula<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Piauí, Piauí, Brasil. \*Autor para correspondência. E-mail: neyromulo@ufpi.edu.br.

<sup>2</sup>Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral-CE, Brasil.

**ABSTRACT** - Aiming estimate the *Chlamydomphila abortus* seroprevalence in small ruminants at upper middle Gurguéia microregion, 352 sheep and 298 goats serum samples were collected. Complement Fixation test was performed for *Chlamydomphila* sp. diagnosis (OIE, 2000). The reaction was conducted in microplates using test serum dilutions of 1:16 to 1:512. The prevalence in small ruminants was 12.61% (82/650). Therefore, the infectious agent *Chlamydomphila abortus* is present in sheep and goat flocks in microregion of the High Middle Gurguéia in the state of Piauí.

**Keywords:** seroprevalence; small ruminants; chlamydomphilosis.

**Palavras-Chave:** soroprevalência; pequenos ruminantes; clamidofilose.

### INTRODUÇÃO

O Estado do Piauí ocupa o terceiro lugar na criação de caprinos e o quarto na criação de ovinos, possuindo efetivos de 1,4 e 1,38 milhões de cabeça (IBGE, 2011). A clamidofilose é uma doença que afeta animais de criação e tem sido implicado como importante causa de aborto em caprinos e ovinos (Masala et al., 2007).

A ovinocaprinocultura no estado do Piauí é caracterizada por diversas falhas de manejo, principalmente por falta de assistência técnica especializada e diversas enfermidades que são relatadas pelos produtores, mas sem diagnóstico oficial (Silva et al., 2011). Neste contexto, objetivou-se estimar soroprevalência da infecção por *Chlamydomphila abortus* em pequenos ruminantes explorados na microrregião do alto médio Gurguéia (MRAMG), no estado do Piauí, Brasil.

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram obtidas 650 amostras de soro provenientes de propriedades produtoras de caprinos (298) e ovinos (352). As amostras de sangue foram coletadas através da venopunção da jugular, utilizando-se o sistema estéril de colheita a vácuo em frascos vacutainer® com capacidade para 10

mL, sem anticoagulante, e acondicionadas em recipientes térmicos. As amostras de sangue foram centrifugadas a 2000 rpm, por 15 minutos, e o soro, dividido em alíquotas de 1,5 mL por microtubos tipo *eppendorf*® e congeladas a -20° C. Para pesquisa de anticorpos anti-*Chlamydomphila* sp., foi empregada a microtécnica de Fixação de Complemento (OIE, 2000). A reação foi realizada em microplacas utilizando-se soro teste nas diluições de 1:16 a 1:512. Após as análises dos resultados, foram calculadas as prevalências totais, em seus respectivos intervalos de 95% de confiança, através do Teste Exato de Fisher.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

A prevalência geral para a infecção por *Chlamydomphila abortus* encontrada em pequenos ruminantes na MRAMG, estado do Piauí, foi de 12,61% (82/650) (tab 1). Não há relatos anteriores de infecção por *C. abortus* no estado do Piauí.

Foram considerados positivos aqueles animais que apresentaram título de anticorpos acima de 1:32. Isso porque a reação cruzada entre *Chlamydomphila abortus* e *C. pecorum*, assim como com outras bactérias Gram-negativas, pode resultar em alguns resultados falso-positivos com baixos títulos (OIE, 2000). De acordo com Rossi et al. (2012) o impacto econômico da clamidofilose em rebanhos ovinos

está relacionado, principalmente, com maiores taxas de aborto e menores taxas de sobrevivência de cordeiros.

Tabela 1. Prevalência da infecção por *Chlamydophila abortus* em rebanhos caprinos e ovinos pelo teste de Fixação de Complemento, na Microrregião do Alto Médio Gurguéia.

Espécie	Prevalência da <i>Chlamydophila abortus</i> (n)			
	1:16	1:32	1:64	Negativo
Ovina	4,0% (14)	7,4% (26)	1,1% (04)	87,5% (308)
Caprina	5,7% (17)	6,7% (20)	0,3% (01)	87,2% (260)

### CONCLUSÃO

O agente infeccioso *Chlamydophila abortus* está presente em rebanhos ovinos e caprinos na MRAMG, registrando-se a primeira ocorrência desta infecção em caprinos e ovinos explorados no estado do Piauí, Brasil.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. *Produção Pecuária Municipal*, Rio de Janeiro, v. 39, p.1-63, 2011. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br>. Acessado em 02 fev. 2013.

OIE, 2000. Enzootic abortion of ewes (ovine chlamydiosis). *Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines*. 4th ed. Office Internationaldes Epizooties. Disponível

em <http://www.oie.int/eng/normes/mmanual>. Acessado em: 17 de fevereiro de 2014.

Masala, G., Porcu, R., Daga, C., Denti, S., Canu, G., Patta, C., Tola, S., 2007. Detection of pathogens in ovine and caprine abortion samples from Sardinia, Italy, by PCR. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigate*, 19, 1, 96-98.

Rossi, R.S., Rizzo, H., Piatti, R.M., Gregory, L., 2012. Sinais clínicos e ocorrência de anticorpos anti-*Chlamydophila abortus* em ovinos de São Paulo e Minas Gerais. *Ciência Rural*, Santa Maria, 42, 11, 2018-2024, nov.

Silva, R. A. B.; Batista M. C. S.; Nascimento, C. B.; Alves, R. P. A.; Alves, F. S. F.; Pinheiro, R. R.; Sousa, M. S.; Diniz, B. L. M.; Cardoso, J. F. S.; Paula, N. R. O. Caracterização zoonosológica da ovinocultura e da caprinocultura na microrregião homogênea de Teresina, Piauí, Brasil. *Arquivos do Instituto Biológico de São Paulo*, v.78, p.593-598, 2011.

## SOROPREVALÊNCIA DA INFECÇÃO POR *Chlamydophila abortus* EM PEQUENOS RUMINANTES EXPLORADOS NA MICRORREGIÃO HOMOGÊNEA DE TERESINA, PIAUÍ, BRASIL

[Seroprevalence of *Chlamydophila abortus* infection in small ruminants exploited the Teresina homogeneous microregion, Piauí, Brazil]

Luã Carvalho Resplandes<sup>1\*</sup>, Tadeu Bezerra Leopoldo<sup>1</sup>, Wagner Martins Fontes do Rêgo<sup>1</sup>, Bruno Leandro Maranhão Diniz<sup>1</sup>, Francisco Selmo Fernandes Alves<sup>2</sup>, Ney Rômulo de Oliveira Paula<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal do Piauí – UFPI, Teresina - Piauí, Brasil. \* Autor para correspondência. E-mail: neyromulo@ufpi.edu.br.

<sup>2</sup> Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral-CE, Brasil.

**ABSTRACT** - Aimed to conduct epidemiological survey of *Chlamydophila abortus* in productive and reproductive losses in sheep and goat flocks in homogeneous microregion of Teresina, Piauí, Brazil. 450 samples, 150 sheep and 300 goats were examined. Blood serum samples was stored at -20 ° C and 10 samples from each farm were randomly selected for analysis. The overall prevalence of *Chlamydophila abortus* in sheep and goats in homogeneous micro region of Teresina was 10.66% (48/450). The overall prevalence of infection by *C. abortus* in sheep flocks in the region analyzed was 11.3% (17/150) and 7% (21/300) of the overall prevalence of infection in the herd goats. The *Chlamydophila abortus* agent is present in sheep and goat flocks in homogeneous micro region of Teresina recording the first occurrence of this infection in goats and sheep exploited in the state of Piauí, Brazil.

**Keywords:** clamidofilose; small ruminants; epidemiology; Piauí.

**Palavras-Chave:** clamidofilose; pequenos ruminantes; epidemiologia; Piauí.

### INTRODUÇÃO

A clamidofilose é uma infecção bacteriana responsável por distúrbios reprodutivos em várias espécies. A *Chlamydophila abortus* é a principal causa de aborto enzootico em caprinos e ovinos (Rodolakis, 2001).

A ovino-caprinocultura no estado do Piauí é caracterizada por diversas falhas de manejo, principalmente por falta de assistência técnica especializada. Diversas enfermidades que são relatadas pelos produtores, não têm um diagnóstico oficial (Silva et al., 2011; Diniz, 2011).

Diante do exposto, este trabalho objetivou estimar a soroprevalência de *Chlamydophila abortus* em pequenos ruminantes na microrregião homogênea de Teresina, Piauí, Brasil.

### MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado com 450 animais, 150 ovinos e 300 caprinos. As amostras foram coletadas através da punção da veia jugular externa. As amostras de sangue coaguladas foram centrifugadas

a 290 x g por 15 minutos, para obtenção do soro, e em seguida foram divididas em quatro alíquotas de 1,5 mL, acondicionadas em microtubos e congeladas a -20°C, até o momento da realização das análises. Para a pesquisa de anticorpos anti-*Chlamydophila* sp., foi empregada a microtécnica de Fixação de Complemento (OIE, 2000), realizada no Laboratório de Doenças Bacterianas da Reprodução do Instituto Biológico de São Paulo.

### RESULTADOS

A prevalência geral da infecção por *Chlamydophila abortus* em caprinos e ovinos na microrregião homogênea de Teresina foi de 10,66% (48/450), sendo a prevalência geral da infecção no rebanho ovino de 11,3% (17/150) e no caprino 7% (21/300) (Tab. 1).

Santos et al. (2012) estudaram a soroprevalência e os fatores de risco associados com a *C. abortus* em caprinos do semiárido do Estado da Paraíba, Nordeste do Brasil e concluíram que 55 rebanhos dos 110 analisados apresentaram pelo menos um animal soropositivo, com uma prevalência de 50,0%.



Tabela 1. Prevalência da infecção por *Chlamydophila abortus* em rebanhos caprinos e ovinos pelo teste de Fixação de Complemento, na Microrregião Homogênea de Teresina.

Espécie	Microrregião	Prevalência da <i>Chlamydophila abortus</i> (n)			
		1:16	1:32	1:64	Negativo
Ovina	MRHT*	4,0% (06)	6,7% (10)	0,7% (01)	88,7% (133)
Caprina	MRHT	4,7% (14)	5,3% (16)	0,3% (01)	89,7% (269)

\* Microrregião Homogênea de Teresina

## CONCLUSÃO

O agente infeccioso *Chlamydophila abortus* está presente em rebanhos ovinos e caprinos na microrregião homogênea de Teresina no estado do Piauí, sendo necessária a adoção de medidas sanitárias para evitar a propagação dessa enfermidade.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Diniz, B.L.M. *Estudo zoonosológico da caprinocultura e da ovinocultura, e soroprevalência das Lentiviruses de Pequenos Ruminantes na Microrregião do Alto Médio Gurguéia na região sul do Piauí*. 2011. 170f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Programa de Pós Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal do Piauí.

Pereira, M.F.; Peixoto, R.M.; Piatti, R.M.; Medeiros, E.S.; Mota, I.O.; Azevedo, S.S.; Mota, R.A. Ocorrência e fatores de risco para *Chlamydophila abortus* em ovinos e caprinos no estado de

Pernambuco. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 29, n.1, p. 33-40, 2009.

Rodolakis A. 2001. *Caprine Chlamydiosis*. In: Tempesta M. Recent Advances in Goat Diseases. International Veterinary Information Service, Ithaca. Acesso em: 13/01/2014 Disponível em: [http://www.ivis.org/advances/Disease\\_Factsheets/chlamydiosis.pdf](http://www.ivis.org/advances/Disease_Factsheets/chlamydiosis.pdf).

Santos, C. S. A. B.; Piatti, R. M.; Azevedo, S. S.; Alves, C. J.; Higino, S. S.; Silva, M. L. C. R.; BRASIL, A. W. L.; GENNARI, 2012. Seroprevalence and risk factors associated with *Chlamydophila abortus* infection in dairy goats in the Northeast of Brazil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 32 (11), 1082-1086.

Silva, R.A.B., Batista, M.C.S., Nascimento, C.B., Alves, R.P.A., Alves, F.S.F., Pinheiro, R.R., Sousa, M.S., Diniz, B.L.M., Cardoso, J.F.S., Paula, N.R.O., 2011. Caracterização zoonosológica da ovinocultura e da caprinocultura na microrregião homogênea de Teresina, Piauí, Brasil. *Arquivos do Instituto Biológico de São Paulo*, São Paulo, 78, 593-598.

## SOROPREVALÊNCIA DA LEPTOSPIROSE EM OVINOS NA MICRORREGIÃO HOMOGÊNEA DE TERESINA, PIAUÍ

[Seroprevalence of leptospirosis in sheep in the micro-homogeneous Teresina –Piauí]

Huanna Waleska Soares Rodrigues<sup>1</sup>, Rômulo José Vieira<sup>1</sup>, Leticia Soares de Araújo Teixeira<sup>1</sup>, Sônia Maria de Carvalho<sup>1</sup>, Gardênia Alves da Silva<sup>1</sup>, Ana Lys Bezerra Barradas Mineiro<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal do Piauí- UFPI. \*Autor para correspondência. E-mail: lysbarradas@yahoo.com.br.

**ABSTRACT** - Leptospirosis is an infectious disease responsible for reducing the productivity of farm animals. 302 serum samples of ovine animals older than 6 months of 10 municipalities in the micro-region of Teresina, 82 showed positive reactions by SAM, resulting in a prevalence of 27.15%, with serovarcastellonis (36.62%) were collected, the that showed higher expression. The risk factors were observed: worming, commercial use, types of facilities, type of coverage, syndicated flock occurrence of reproductive problems, veterinary care, presence of rodents, breeding system. Thus, aim of this work was to perform a serologic survey for identification of *Leptospira*, as well as potential risk factors in sheep homogeneous micro-region of Teresina - Piauí.

**Keywords:** seroprevalence; leptospirosis; sheep.

**Palavras-Chave:** soroprevalência; leptospirose; ovino.

### INTRODUÇÃO

Causada por bactérias do gênero *Leptospira*, a leptospirose, apresenta grande número de variantes sorológicas e especificidade de hospedeiro podendo afetar animais domésticos, selvagens e humanos, representando, portanto, um importante problema de saúde pública (Faine et al., 1999).

A reação de soroaglutinação microscópica (SAM) é considerada padrão ouro pela Organização Mundial de Saúde (OMS) para diagnóstico da leptospirose humana e animal, detectando anticorpos anti-leptospiras das classes IgM e IgG. Entretanto, sem diferenciá-los (Trabulsi et al., 2002). O presente trabalho teve como objetivo realizar inquérito sorológico para a identificação dos sorovares de *Leptospira*, bem como os possíveis fatores de risco em ovinos na Microrregião Homogênea de Teresina, Piauí.

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 302 ovinos, sendo o mesmo número o de amostras, com idade acima de seis meses. O trabalho foi conduzido em duas etapas: primeira, a seleção aleatória de propriedades nos 10 municípios que constituem a microrregião de Teresina (unidades primárias); enquanto, na segunda etapa, foi determinado o número mínimo de rebanhos por município (unidades secundárias de amostra), baseada no rebanho efetivo de cada

município da região cadastrado na Agência de Defesa Agropecuária do Estado do Piauí. Para a pesquisa de aglutininas anti-leptospiras usou-se a prova de soroaglutinação microscópica (SAM), segundo Faine et al. (1999). Foram usados 22 antígenos na soroaglutinação microscópica conduzida no Laboratório de Fisiopatologia da Reprodução Animal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Piauí. Com base nos resultados sorológicos foram calculadas a prevalência e as frequências nos estratos, para presença de infecção por leptospirose ovina, objetivando-se verificar a existência de diferenças significativas entre os resultados obtidos para os atributos raça, sexo e faixa etária utilizando-se o teste Qui-quadrado com o auxílio do programa Epi-Info (Dean et al., 1992).

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram examinados 450 ovinos de diferentes faixas etárias e sexos e analisadas 302 amostras sorológicas de animais com idade acima de seis (6) meses, constatando-se que, 82 apresentaram reações positivas pelo teste de soroaglutinação microscópica para os sorovares *Icterohaemorrhagiae*, *Pomona*, *Grippotyphosa*, *Wolffi*, *Hardjo*, *Australis*, *Autumnalis*, *Butembo*, *Castellonis*, *Pyrogenes*, de *Leptospiraspp*, com títulos variando entre 1:100 a 1:3200, correspondendo a 27,15% de prevalência. Os sorovares *Castellonis* (36,62%), *Grippotyphosa*

(26,76%) e *Pomona* (11,26%) foram os mais frequentes.

A prevalência de 27,15% é alta e superior ao encontrado por Favero *et al.* (2002) no Estado de São Paulo, 0,7% de amostras reagentes para leptospirosas em 284 soros de ovinos e por VIEGAS *et al.* (1980), 22,8% de ovinos soropositivos, na Bahia. No entanto, soroprevalências superiores já foram observadas (HASHIMOTO *et al.*, 2010, MARTINS *et al.*, 2011).

### CONCLUSÃO

A infecção por *Leptospira* spp. em ovinos abrange uma área expressiva de exploração pecuária na Microrregião homogênea de Teresina – Piauí, sendo observados altas taxas de infecção pelo sorovar *Castellonis*, bem como de outros sorovares circulantes na população ovina da região, pela exposição ao agente pelo contato com animais silvestres, além de roedores, reservatórios destes sorovares, sugerindo para a adoção de práticas de manejo direcionadas ao controle da doença nesta região.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Faine, S. et al. *Leptospira* and *Leptospirosis*. *Medicine Science*, Melbourne, Austrália, 1999, p.296.
- Favero, A.C.M. et al. Sorovares de leptospirosas predominantes em exames sorológicos de bubalinos, ovinos, caprinos, eqüinos, suínos e cães de diversos estados brasileiros. *Ciência Rural*, 2002, v.32, n.4, p.613-619.
- Hashimoto, V.Y., Garcia, J.L., Spohr, K.A.H., Silva, F.G. Da, Alves, L.A., Freitas, J.C. de. Prevalência de anticorpo contra *Leptospira* spp. em bovinos, caninos, eqüinos, ovinos e suínos do município de Jaguapitã, Estado do Paraná, Brasil. *Arquivo do Instituto Biológico*, 2010, v. 77, p. 521-524.
- Martins, G., Penna, B., Hamond, C., Leite, R.C.K., Silva, A., Ferreira, A., Brandão, F., Oliveira, F., Lilenbaum, W. *Leptospirosis* as the most frequent infectious disease impairing productivity in small ruminant in Rio de Janeiro, Brazil. *Tropical Animal Health Production*, DOI 10.007/S11250-011-9964-4; 2011.
- Trabulsi, R. L. et. al. Espiroquetídeos. In: \_\_\_\_\_. *Microbiologia*. 3. Ed. São Paulo. *Atheneu*, 2002. Cap. 41, p.318-319.
- Viegas, E.A. et al. Aglutininas anti-*Leptospira* em hemoro de caprinos e ovinos, no Estado da Bahia. *Arquivos da Escola de Veterinária da Universidade Federal da Bahia*, 1980, v.5, n.1, p.20-34

## USO DA LECITINA DE SOJA NO DILUIDOR ACP-102<sup>®</sup> E SEU EFEITO SOBRE A VIABILIDADE DO ESPERMATOZOIDE OVINO SUBMETIDO AO TESTE DE CHOQUE TÉRMICO

[Use of soy lecithin in ACP-102<sup>®</sup> extender on the viability of ram sperm submitted to cold-shock test]

Victor Barbosa Pereira<sup>1\*</sup>, Amanda de Lucas Coimbra<sup>1</sup>, Lívia Furtado Ximenes<sup>1</sup>, Fábio Ranyeri Nunes Rodrigues<sup>1</sup>, José Maurício Maciel Cavalcante<sup>1,2</sup>, José Ferreira Nunes<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Estadual do Ceará – UECE. \*Autor para correspondência. E-mail: vbmedvet@gmail.com.

<sup>2</sup> Faculdade Terra Nordeste – FATENE.

**ABSTRACT** – This study evaluated the addition of soy lecithin, replacing the egg yolk, in ACP-102 extender, on the protection of ram spermatozoa subjected to cold-shock test. Ram semen were collected, pooled and diluted in ACP-102<sup>®</sup> at concentrations of 0.5% to 5.0% of soy lecithin (SL), 5.0% of egg yolk and ACP-102 without SL or egg yolk, and subjected to the cold-shock test by 4°C/10 min followed by evaluation of the percentage of live cells by the eosin-nigrosin staining technique. Sperm viability in ACP-102 with different concentrations of SL and with egg yolk did not differ ( $p>0.05$ ) each other after cold-shock test, but they were higher ( $p<0.05$ ) than in the ACP extender without egg yolk or SL. The soy lecithin in ACP-102 may be a substitute for egg yolk in protecting ram sperm against damage come from low temperatures.

**Keywords:** semen; sperm protection; coconut water.

**Palavras-Chave:** sêmen; proteção espermática; água de coco.

### INTRODUÇÃO

Diluidores utilizados na preservação do sêmen à baixas temperaturas devem possuir componentes que protejam os espermatozoides contra o choque térmico (Gil et al., 2003). A gema de ovo é comumente utilizada devido à presença das lipoproteínas de baixa densidade (LDL), que protegem os espermatozoides contra danos durante a preservação seminal, seja resfriamento ou congelamento (Bittencourt et al., 2013). Porém, devido ao uso de produtos de origem animal, como a gema de ovo, representar potencial risco de contaminação de diluidores pela presença de agentes microbiológicos no produto *in natura*, além da falta de padronização dos mesmos por variação em sua composição, o uso da lecitina de soja pode ser uma alternativa segura na preservação do sêmen sem o risco sanitário relacionado aos diluidores seminais (Gil et al., 2003).

O produto Água de Coco em Pó (ACP<sup>®</sup>) tem sido utilizado na preservação do sêmen de diversas espécies, particularmente em caprinos e ovinos (Nunes & Salgueiro, 2011). De origem vegetal, a água de coco poderá ser uma alternativa segura de diluidor quando utilizada sem o uso da gema de ovo, porém, até o presente momento, a adição de

diferentes níveis de gema tem sido adotada na conservação do sêmen neste diluidor (Bittencourt et al., 2013). Assim, o uso da lecitina de soja ao diluidor ACP<sup>®</sup> poderá viabilizar a formulação de um diluidor seminal sem uso de aditivos de origem animal.

Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da adição de diferentes concentrações de lecitina de soja, em substituição da gema de ovo, ao diluidor ACP-102<sup>®</sup>, na proteção de espermatozoides ovinos submetidos ao choque térmico.

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram obtidas cinco coletas de sêmen por vagina artificial de quatro carneiros Santa Inês (n=2) e Dorper (n=2) que foram reunidos em um *pool* em cada coleta. Como diluidor foi utilizado o ACP-102<sup>®</sup>, específico para ovinos, com concentrações de lecitina de soja (LS) de 0% (ACP 0 LS), 0,5% (ACP 0,5 LS), 1,0% (ACP 1,0 LS), 1,5% (ACP 1,5 LS), 2,0% (ACP 2,0 LS), 2,5% (ACP 2,5 LS) e 5,0% (ACP 5,0 LS), além de ACP-102 com 5,0% de gema de ovo (ACP gema).

Alíquotas de 50 µL do *pool* foram diluídas em 450 µL de diluidor de cada tratamento em tubos de

ensaio de vidro (1,0 cm de diâmetro) à 32°C até concentração de  $400 \times 10^6$  sptz/mL e submetidas ao teste de choque térmico (*cold-shock test*) baseado na metodologia de Pérez-Pé et al. (2001), com modificações. Após diluição, as alíquotas de sêmen diluído nos diferentes tratamentos foram mantidas à temperatura ambiente (28°C) por 5 minutos, seguida de imersão em água à 4°C por 10 minutos e novamente mantidas à temperatura ambiente por 5 minutos. Uma alíquota de cada tratamento foi corada com eosina-nigrosina para confecção de esfregaços em lâmina para avaliação da viabilidade espermática segundo metodologia de Chemineau et al. (1991).

Os resultados foram expressos em média  $\pm$  desvio padrão e os dados submetidos à ANOVA com

comparação de médias pelo teste de Duncan à  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O diluidor ACP 0 LS apresentou menor percentual de espermatozoides vivos ( $p < 0,05$ ), diferindo do ACP gema e dos tratamentos com LS, em virtude da ausência de substâncias protetoras das células contra o choque térmico (Tab. 1). Não foram encontradas diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) na viabilidade espermática entre os tratamentos com uso de LS e ACP gema, indicando que a lecitina de soja apresentou efeito protetor das células espermáticas no diluidor ACP-102 similar à gema de ovo.

Tabela 1. Viabilidade de espermatozoides ovinos diluídos em ACP-102 adicionado a diferentes concentrações de lecitina de soja (LS) ou com 5% de gema de ovo.

Tratamento	Sptz viáveis (%)
ACP 0 LS	9,5 $\pm$ 4,7 <sup>b</sup>
ACP 0,5 LS	55,6 $\pm$ 11,9 <sup>a</sup>
ACP 1,0 LS	62,0 $\pm$ 12,7 <sup>a</sup>
ACP 1,5 LS	65,7 $\pm$ 11,0 <sup>a</sup>
ACP 2,0 LS	66,9 $\pm$ 11,0 <sup>a</sup>
ACP 2,5 LS	60,7 $\pm$ 7,2 <sup>a</sup>
ACP 5,0 LS	65,2 $\pm$ 9,8 <sup>a</sup>
ACP gema	47,9 $\pm$ 6,9 <sup>a</sup>

<sup>a,b</sup> Diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre tratamentos.

## CONCLUSÕES

A lecitina de soja adicionada ao diluidor ACP-102 protege os espermatozoides ovinos quando submetidos à baixas temperaturas e pode ser um substituto da gema de ovo neste diluidor na preservação do sêmen durante resfriamento.

## AGRADECIMENTOS

À ACP Biotecnologia pelo fornecimento do produto ACP-102.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Bittencourt, R. F.; Oba, E.; Ribeiro Filho, A. de L.; Chalhoub, M.; Azevedo, H. C.; Bicudo, S. D. Avanços na criopreservação

do sêmen ovino I: diluidores e crioprotetores. *Ciência Animal Brasileira*, Goiânia, v. 14, p. 522-536, 2013.

Chemineau, P., Cagnie, Y., Guerin, Y., Orgeur, P., Vallet, J.C., 1991. *Training Manual on Artificial Insemination in Sheep and Goats*. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy, p. 223.

Gil, J.; Rodriguez-Irazaqui, M.; Lundeheim, N.; Söderquist, L.; Rodríguez-Martínez, H. Fertility of ram semen frozen in Bioexcell<sup>®</sup> and used for cervical artificial insemination. *Theriogenology*, v.59, p. 1157-1170, 2003.

Nunes J.F.; Salgueiro C.C.M. Strategies to improve the reproductive efficiency of goats in Brazil. *Small Ruminant Research*, v. 98, p. 176-184, 2011.

Pérez-pé, R., Cebrián-Pérez, J.A., Muiño-Blanco, T. Semen plasma proteins prevent cold-shock membrane damage to ram spermatozoa. *Theriogenology*, v.56, p.425-434, 2001.

## VIABILIDADE E MORFOLOGIA ESPERMÁTICA DO SÊMEN OVINO DILUÍDO EM ÁGUA DE COCO EM PÓ (ACP-102<sup>®</sup>) COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE BABOSA (*Aloe vera*)

[Viability and sperm morphology of ram semen diluted in Coconut Water Powder (ACP-102<sup>®</sup>) with different concentrations of *Aloe vera*]

Priscila Palácio de Queiroz Farias<sup>1\*</sup>, Leonardo Alves Rodrigues Cabral<sup>1</sup>, Levi de Oliveira Frota<sup>1</sup>, Ana Gláudia Vasconcelos Catunda<sup>1</sup>, José Maurício Maciel Cavalcante<sup>1,2</sup>, José Ferreira Nunes<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Estadual do Ceará – UECE. \* Autor para correspondência. E-mail: priscilap91@gmail.com.

<sup>2</sup> Faculdade Terra Nordeste – FATENE.

**ABSTRACT** - The aim of this study was to evaluate the effect of the extender ACP-102<sup>®</sup> with different concentrations of *Aloe vera* (AV) at 0% (control), 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 70% and 100%, in the incubation of ram semen at 37°C for two hours. Eosin-Nigrosin stained smears were prepared just after the dilution and at two hours of incubation for evaluation of sperm viability and morphological alterations. The addition of *Aloe vera* to ACP-102<sup>®</sup> extender did not induce morphological alterations or viability changes on ram spermatozoa after incubation at 37°C for 2 hours.

**Keywords:** ram, *Aloe vera*, semen, viability, morphology.

**Palavras-Chave:** ovino, *Aloe vera*, sêmen, viabilidade, morfologia.

### INTRODUÇÃO

A água de coco em pó tem sido amplamente usada em vários segmentos da reprodução animal com resultados satisfatórios em estudos de conservação seminal de animais domésticos, preservando a motilidade espermática em caprinos, ovinos, suínos, caninos e em peixe de água doce como o Tambaqui (Nunes & Salgueiro, 2011).

Outro produto vegetal que tem propiciado resultados satisfatórios é o gel da babosa (*Aloe vera*) que, na concentração de 5,0% pode substituir a gema de ovo em meios de refrigeração do sêmen caprino (Melo et. al., 2012). Entretanto, a babosa apresenta efeitos tóxicos que dependem da parte da planta usada para a produção do extrato (Shah et. al., 1989), de modo que seu uso para a conservação seminal pode ter efeito negativo para o sêmen. Estes efeitos podem ser avaliados pela viabilidade e morfologia espermática. A viabilidade está relacionada à integridade da membrana espermática e pode ser avaliada por meio de corantes vitais, onde espermatozoides que apresentam integridade de membrana não são corados. A avaliação da morfologia espermática permite determinar a frequência de cada anormalidade e do total de alterações na amostra de sêmen e esta é correlacionada com o poder fecundante da célula espermática (Chemineau et. al., 1991).

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do diluidor ACP-102<sup>®</sup> adicionado a diferentes concentrações do extrato da *Aloe vera* (AV) na incubação do sêmen ovino à 37 °C por até duas horas quanto à viabilidade espermática e alterações morfológicas.

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizadas quatro coletas de sêmen com uso de vagina artificial de ovinos das raças Santa Inês (n=2) e Dorper (n=2). Em cada coleta, o sêmen foi reunido em um *pool* e alíquotas deste foram diluídas a 37 °C em ACP-102 acrescido de diferentes concentrações (%) de AV constituindo os tratamentos: 0, ACP 0; 10, ACP 10; 20, ACP 20; 30, ACP 30; 40, ACP 40; 50, ACP 50; 70, ACP 70 e 100, ACP 100. O sêmen foi incubado a 37 °C por duas horas e realizados esfregaços de sêmen que foram corados com eosina-nigrosina logo após a diluição (t0) e após duas horas de incubação (t2), para avaliação da viabilidade espermática e percentual de alterações morfológicas (Chemineau et al., 1991). Foram notificadas as seguintes alterações: espermatozoide sem flagelo (SF), alterações de cabeça (AC), de peça intermediária (API), gota citoplasmática proximal (GCP), gota citoplasmática distal (GCD), cauda enrolada (CE) e cauda dobrada (CD). Os resultados para percentual de alterações morfológicas e de viabilidade foram

transformado em arco seno e submetidos à ANOVA seguido de teste de Tukey a 5,0%. As variáveis não puderam ser normalizadas foram consideradas não-paramétricas e submetidas ao teste de Kruskal-Wallis ao nível de significância de 5,0%.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Independente do tempo de incubação, os tratamentos não diferiram entre si ( $P>0,05$ ) quanto às alterações morfológicas e viabilidade espermática (Tab. 1). Os percentuais médios para t0 e t2 das alterações analisadas foram respectivamente: SF ( $4,0\pm 2,6$  e  $3,6\pm 3,1$ ), AC ( $1,2\pm 1,2$  e  $1,6\pm 2,0$ ), API ( $0,3\pm 0,4$  e  $0,5\pm 0,5$ ), GCP ( $0,4\pm 0,6$  e  $0,1\pm 0,4$ ), GCD ( $0,1\pm 0,2$  e  $0,1\pm 0,2$ ), CE ( $3,0\pm 3,1$  e  $3,8\pm 3,6$ ) e CD ( $1,7\pm 1,9$  e  $0,8\pm 1,1$ ).

Excetuando o tratamento ACP 70, onde ocorreu aumento ( $P<0,05$ ) nas alterações morfológicas entre t0 e t2, particularmente nas alterações SF ( $2,4\pm 1,6\%$  e  $5,6\pm 1,5\%$ ), API ( $0,1\pm 0,2\%$  e  $1,2\pm 0,2\%$ ) e CE ( $1,6\pm 2,1\%$  e  $5,8\pm 1,4\%$ ), não foi observada mudança significativa nas alterações morfológicas e viabilidade espermática entre o início e o fim do período de incubação ( $P>0,05$ ), sugerindo que a adição de diferentes teores de AV não afetou a viabilidade e a morfologia espermática, contrastando com os resultados de Gutiérrez et al. (2006) onde observaram que a adição de AV superior a 50% reduziu a viabilidade do sêmen ovino criopreservado em diluidor à base de água de coco.

Tabela 1. Média±desvio padrão das alterações morfológicas e de viabilidade do sêmen ovino diluído em ACP-102<sup>®</sup> com diferentes concentrações de *Aloe vera* avaliados logo após diluição (t0) e com duas horas de incubação à 37 °C (t2).

Tratamento	Alterações morfológicas, %		Viabilidade, %	
	t0	t2	t0	t2
ACP 0	12,5±7,8 <sup>a,A</sup>	13,6±5,4 <sup>a,A</sup>	59,3±13,5 <sup>a,A</sup>	64,6±11,5 <sup>a,A</sup>
ACP 10	13,5±4,2 <sup>a,A</sup>	6,5±4,4 <sup>a,A</sup>	62,8±17,2 <sup>a,A</sup>	63,0±8,3 <sup>a,A</sup>
ACP 20	8,7±4,2 <sup>a,A</sup>	12,4±8,1 <sup>a,A</sup>	65,6±9,2 <sup>a,A</sup>	60,8±7,7 <sup>a,A</sup>
ACP 30	9,4±3,0 <sup>a,A</sup>	8,5±5,6 <sup>a,A</sup>	56,4±16,5 <sup>a,A</sup>	58,7±8,2 <sup>a,A</sup>
ACP 40	7,5±2,1 <sup>a,A</sup>	7,1±3,5 <sup>a,A</sup>	59,0±9,8 <sup>a,A</sup>	61,0±8,1 <sup>a,A</sup>
ACP 50	10,0±5,7 <sup>a,A</sup>	8,6±6,4 <sup>a,A</sup>	67,0±7,4 <sup>a,A</sup>	64,2±7,7 <sup>a,A</sup>
ACP 70	7,5±3,6 <sup>a,B</sup>	18,8±7,5 <sup>a,A</sup>	66,9±4,0 <sup>a,A</sup>	62,0±9,5 <sup>a,A</sup>
ACP 100	7,7±3,3 <sup>a,A</sup>	10,8±4,5 <sup>a,A</sup>	64,6±9,5 <sup>a,A</sup>	63,5±9,3 <sup>a,A</sup>

<sup>a,b</sup> Diferenças entre tratamentos no mesmo tempo de incubação num dado parâmetro.

<sup>A,B</sup> Diferenças entre tempos de incubação no mesmo tratamento num dado parâmetro.

## CONCLUSÃO

A adição de *Aloe vera* ao diluidor ACP-102<sup>®</sup> não induziu alterações morfológicas de relevância nem alterou a viabilidade nos espermatozoides durante a incubação de espermatozoides ovinos a 37 °C por até 2h.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Chemineau, P.; Cagnie, Y.; Guerin, Y.; Orgeur, P.; Vallet, J.C. Training Manual on Artificial Insemination in Sheep and Goats. Food and Agriculture Organization of the United Nations, p.223, 1991.

Gutiérrez, A.J.; Cosme, R.W.; Jiménez, C.J.A.; Ramírez, G.J.A. Agua de coco, suero fetal bovino, *Aloe vera* y sus combinaciones para criopreservar semen ovino. *Revista Archivos de Zootecnia*, v.55, n.209, p.101-104, 2006.

Nunes, J.F.; Salgueiro, C.C.M. Strategies to improve the reproductive efficiency of goats in Brazil. *Small Ruminant Research*, v.98, p.176-184, 2011

Melo, C.C.S.; Melo, L.C.S.; Castro, E.V.; Santos, B.M.B.; Oliviera, E.C.S.; Salgueiro, C.C.M.; Nunes, J.F. *Aloe vera* sp. is an acceptable alternative to egg yolk for preserving goat semen at 4°C. *Reproduction in Domestic Animals*, v.47, p.433, 2012.

Shah, A.H.; Qureshi, S.; Tariq, M.; Ageel, A.M. Toxicity studies on six plants used in the traditional Arab system of medicine. *Phytotherapy Research*, v.3, p.25-29, 1989.

## **Suínos**



## EFICIÊNCIA DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE CÁLCIO NA CONSERVAÇÃO DO SÊMEN SUÍNO

[Efficiency of different concentrations of calcium on the conservation of swine semen]

Thalles Gothardo Pereira Nunes<sup>1</sup>, Iara Gonçalves Roberto<sup>1</sup>, Lúcia Daniel Machado da Silva<sup>2</sup>, Aírton Alencar de Araújo<sup>2</sup>, Darlete Lima Matos<sup>1</sup>, Ricardo Toniolli<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Reprodução Suína e Tecnologia do Sêmen – LRSTS.

<sup>2</sup> Professor Associado da Faculdade de Veterinária (FAVET) da Universidade Estadual do Ceará (UECE). \*Autor para correspondência. E-mail: toniolli@roadnet.com.

**ABSTRACT:** The calcium ion has a regulatory role in the control of motility and energetic metabolism of the sperm. The objective of this study was to evaluate the effect of calcium ion on the quality of swine sperm. The semen of 5 males (n=25) was collected and diluted in 5 treatments with BTS and CaCO<sub>3</sub> [0.4, 4.0, 40.0, 400.0mM, and it was evaluated for vigour, motility and acrosome quality. It was used a randomized block design, F and Tukey tests at 5% of significance on statistical program Systat 7.0. The samples with 40 and 400mM CaCO<sub>3</sub> had values of motility, vigour, and quantity of living sperm that were significantly smaller than the others in the early days, while at the last day, there was no significant difference. Samples with 0.4 to 4mM CaCO<sub>3</sub> did not have significant difference the 0mM. In conclusion, the calcium ion did not show significant preservative power over the swine sperm.

**Keywords:** swine; sperm cold; extender; BTS; CaCO<sub>3</sub>.

**Palavras-Chave:** suíno; sêmen resfriado; diluente; BTS; CaCO<sub>3</sub>.

### INTRODUÇÃO

O íon cálcio tem um papel regulador no controle da motilidade e do metabolismo energético do espermatozóide (Darszon et al., 1999). O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de diferentes concentrações de íons cálcio, proveniente do carbonato de cálcio (CaCO<sub>3</sub>), no diluente Beltsville Thawing Solution (BTS) sobre a qualidade dos espermatozoides suínos.

### MATERIAL E MÉTODOS

No LRSTS, através da técnica da mão enluvada, foram coletados 5 reprodutores (n=25), utilizando-se o ejaculado total e um total de  $3,5 \times 10^7$  sptz/tratamento. Avaliou-se concentração, volume, total de espermatozoides, vigor e motilidade. Os ejaculados com vigor <3,0 ou motilidade <70% foram descartados. Os tratamentos foram: 1)BTS; 2)BTS + CaCO<sub>3</sub> [0,4mM]; 3)BTS + CaCO<sub>3</sub> [4mM]; 4)BTS + CaCO<sub>3</sub> [40mM]; 5)BTS + CaCO<sub>3</sub> [400mM]. As amostras foram conservadas durante cinco dias (D0 - dia da coleta, D1, D2, D3 e D4), em geladeira a 17 °C. Para as análises, as amostras foram incubadas em banho-maria a 37 °C por 10 minutos. Em D0, foram realizadas análises logo

após a diluição, como também após 4 horas de conservação. Características analisadas: 1) Vigor espermático, 2) Motilidade espermática; durante D0, D2 e D4; 3) Qualidade acrossomal e vitalidade, sendo confeccionados os esfregaços com azul de bromofenol, logo após a diluição (Dil) e em D0 e D4. Utilizou-se Blocos ao Acaso como delineamento experimental. A análise estatística foi feita por meio da variância (Teste F) e comparação de médias (teste Tukey, a 5% de significancia). Utilizou-se o programa de estatística Systat 7.0.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

O sêmen *in natura* apresentou concentração ( $10^6$ sptz/mL):  $297 \pm 23$ ; volume (mL):  $255,5 \pm 23,0$ ; total de espermatozoides ( $\times 10^9$ sptz):  $75,1 \pm 8,8$ ; vigor:  $4,1 \pm 0,1$  e motilidade (%):  $91 \pm 1$ . Os tratamentos 04 e 05, apresentaram valores de motilidade e vigor significativamente menores que os demais em D0 e D2, enquanto no D4 não houve diferenças significativas entre grupos experimentais (Tabela 1). As amostras 02 e 03 não diferiram significativamente de BTS no D0 e D4, mas no D2 seus valores foram significativamente menores para vigor e motilidade. Observou-se, também, que em todas as concentração de CaCO<sub>3</sub> houve uma

redução progressiva nestas duas características ao longo do período de conservação do sêmen. Toniolli & Combarous (1999) utilizaram o cloreto de cálcio ( $\text{CaCl}_2$ ) e concluíram que altas concentrações desse sal teve um efeito negativo sobre a motilidade espermática. Desse modo é possível que o cálcio residual no meio extracelular provoque um desequilíbrio à membrana do espermatozoide. As amostras 4 e 5, as quais receberam as maiores concentrações, tiveram porcentagem de espermatozoides vivos significativamente menores que as demais, em Dil e D0. Os resultados em D4, não apresentaram

diferenças estatísticas significativas entre tratamentos (Tabela 2). Os tratamentos 2 e 3, não diferiram significativamente de 1 em nenhuma das análises. Observou-se que não houve diferença entre os tratamentos em Dil e D0, sendo estes valores melhores com diferenças significativas em relação a D4. A mudança de permeabilidade indica alterações na membrana plasmática, ocorrendo um aumento da permeabilidade para corantes, além de um aumento das concentrações intracelulares de íons, incluindo o cálcio, assim como alterações nos canais iônicos (Johnson et al., 2000).

Tabela 1. Vigor e motilidade espermática ( $x \pm dp$ ) do sêmen suíno conservado a 17 °C, após adição de  $\text{CaCO}_3$  ao diluente.

Tratamentos	Vigor			Motilidade		
	D0	D2	D4	D0	D2	D4
1	3,1±0,3Aa	2,1±0,2Ab	0,1±0,1Ac	60,5±4,0Aa	45±6,3Ab	4,0±2,7Ac
2	2,3±0,2Aa	1,1±0,2Bb	0,4±0,1Ab	49,5±4,5Aa	33,5±4,0ABa	11,0±4,8Ab
3	2,4±0,3Aa	0,9±0,1Bb	0,3±0,1Ab	58,5±5,1Aa	27,5±4,6Bb	10±3,6Ab
4	1,3±0,1Ba	0,5±0,0Cb	0,0±0,0Ab	31,5±4,4Ba	2,0±2,0Cb	0,0±0,0Ab
5	0,8±0,2Ba	0,0±0,0Cb	0,0±0,0Ab	22,5±5,0Ba	0,0±0,0Cb	0,0±0,0Ab

Letras minúsculas distintas na mesma linha e maiúsculas distintas, na mesma coluna indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

Tabela 2. Porcentagem de espermatozoides vivos com acrossoma intacto do sêmen suíno conservado a 17 °C, após adição de  $\text{CaCO}_3$  ao diluente.

Tratamentos	Qualidade Acrossomal / Vitalidade (%)		
	Dil	D0	D4
1	56,5Aa	60,5Aa	34,0Ab
2	62,0Aa	65,5Aa	32,5Ab
3	62,5Aa	65,5Aa	33,5Ab
4	42,5Ba	42,0Ba	22,5Ab
5	42,5Ba	42,0Ba	24,0Ab

Letras minúsculas distintas na mesma linha e maiúsculas distintas, na mesma coluna indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

## CONCLUSÕES

A associação entre BTS e  $\text{CaCO}_3$ , nas concentrações estudadas não demonstrou ser eficiente na proteção dos espermatozoides, não servindo para evitar os danos ocasionados pela a refrigeração.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Darszon, A., Labarca, P., Nishigaki, T., And Espinosa, F. Ion channels in sperm physiology. *Physiol.Rev.*, v.79, p.481-510, 1999.
- Johnson, L.A.; Weitze, K. F.; Fiser, P.; Maxwell, W. M. C. Storage of boar semen. *Animal Reproduction Science*, v.62, p.143-172, 2000.
- Toniolli, R.; COMBARNOUS, Y. Adição de cálcio ( $\text{CaCl}_2$ ) ao diluidor de sêmen: efeito sobre a motilidade espermática. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.23, n.1, p.33-40, 1999.

## TAXA DE NÃO RETORNO AO ESTRO DE FÊMEAS SUÍNAS SUBMETIDAS À INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL INTRACERVICAL E INTRAUTERINA

*[Rate of no return to estrus of swine females submitted to intracervical and intrauterine artificial insemination]*

**Regivany do Socorro de Lima Chaves<sup>1</sup>, Nathalia Clemente Barreto<sup>1\*</sup>, Victor da Costa Mileo<sup>1</sup>, Sebastião Tavares Rolim Filho<sup>2</sup>, Haroldo Francisco Lobato Ribeiro<sup>2</sup>, Keitiane Colares de Sousa<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> Aluno de Graduação do Curso de Medicina Veterinária/ UFRA-Belém-Pará. \*Autor para correspondência. E-mail: nathaliaclementebarreto@yahoo.com.br.

<sup>2</sup> Professor Curso de Medicina Veterinária / Setor de reprodução animal / ISPA / UFRA.

<sup>3</sup> Residente de Medicina Veterinária / Reprodução Animal.

**ABSTRACT** -This study aimed to examine the influence of the type of induction and insemination rate on return to estrus of sows submitted to artificial insemination. Twelve nulliparous crossbred sows (F1 - Landrace x Large White) were used. The animals were divided in two groups. The animals in group 1 (8 animals ) were subjected to an application of 1000 IU of eCG and 96 hours after 0.1 mg of GnRH was applied . The second group (4 animals) received only one treatment with 1.0 mg of estradiol cypionate. Females were inseminated by the methods intracervical (6 animals) and intrauterine (6 animals). In group 1 intracervical insemination (IC) were applied to 5 animals and intrauterine insemination (IU) for 3 animals. In group 1, were made intracervical insemination in 5 animals and intrauterine insemination in 3 animals. For group 2, IC insemination was applied for 1 animal and IU insemination for 3 animals. For all of the females under AI protocol (12) it was obtained a rate of return to estrus of 25%.

**Keywords:** swine; artificial insemination; estrous.

**Palavras-Chave:** suínos; inseminação artificial; estro.

### INTRODUÇÃO

A Inseminação artificial (IA) é uma biotécnica reprodutiva cujo uso vem crescendo substancialmente em granjas comerciais de suínos, em função da aceleração do processo de melhoramento genético (DESCHAMPS et al., 2000). Portanto, este trabalho visou verificar a influência do protocolo hormonal e do tipo de inseminação na taxa de retorno ao estro de fêmeas suínas nulíparas, na região nordeste do Estado do Pará.

### MATERIAIS E MÉTODOS

As fêmeas foram divididas em dois grupos. Os animais do grupo I (n = 8) foram submetidos a 5,0 ml de Novormone CG (1000UI) e 96 horas após, foi administrado 2,5 ml de GnRH (0,1 mg). O grupo II (n = 4) foi submetido a uma dose única de 0,5 ml de ECP cipionato de estradiol (1 mg), conforme metodologia empregada por Rossi et al. (2009). Os hormônios foram administrados por via intramuscular profunda na região do pescoço.

Os sinais comportamentais do estro foram observados 24 horas após a aplicação do GnRH. As fêmeas foram consideradas em estro quando aceitavam a monta associada ou não, a presença de muco vaginal.

Foram realizadas três inseminações às 24, 36 e 48 horas após a última dose do hormônio, independente da sintomatologia estral. Foram utilizados dois modelos de pipetas: 1) Pipeta de inseminação artificial intracervical (IAIC); 2) Pipeta descartável espiral com tampão, com auxílio de cateter intra-uterino para inseminação artificial intrauterina (IAIU). Dos 12 animais inseminados, seis foram submetidos à IAIC e os seis restantes foram submetidos à IAIU, independente do protocolo de sincronização.

Os dados da taxa de retorno ao estro foram submetidos ao Teste Exato de Fisher, para verificar o efeito da sincronização e do método de inseminação na taxa de retorno ao estro.

**RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A taxa de retorno ao estro observada nos animais do grupo 1 foi de 12,5 % (n = 1) e do grupo 2 foi de 50 % (n = 2). Gama et al. (2005), avaliaram a combinação hormonal eCG e LH, com dosagens diferenciais de LH suíno (1,25; 2,5 e 5 mg), e verificaram que na dosagem de 2,5 mg houve maior eficácia de sincronização do estro à puberdade, identificando-se ainda neste grupo uma menor variabilidade no intervalo entre aplicação de LH suíno e a ovulação. No estudo de Moretti (2013), na sincronização à puberdade, 70% das fêmeas manifestaram estro nas 48 horas após aplicação de LH, a taxa de aproveitamento das marrãs foi de 86,66%.

Entre as fêmeas utilizadas neste estudo, seis receberam inseminação artificial intracervical (IAIC) e seis intrauterina (IAIU), sendo que os valores de repetição de estro foi de 2 (33,33 %) para IAIC; 1 (16,7%) para IAIU, totalizando 3 retornos ao estro, o que corresponde a 25% da taxa de retorno total ao estro. Marchetti et al. (2001) realizaram inseminação artificial com taxa de retorno ao estro de 4,97 %, a qual foi inferior ao do presente estudo. Da mesma forma, também foram superiores as citadas por Bortolozzo et al. (2005a) que utilizando duas inseminações diárias obtiveram uma taxa de retorno ao estro de 4,92 a 6,09 %. Em outro trabalho (Bortolozzo et al., 2005b) observaram o desempenho reprodutivo de fêmeas suínas submetidas a duas inseminações diárias durante o estro e obtiveram uma taxa de retorno ao estro de 5,82 %. Neste estudo foi obtido uma taxa de retorno ao estro de 12,5 % com inseminação intrauterina, enquanto que Diehlet al. (2006) obtiveram uma taxa de retorno de 8,0 % utilizando a inseminação artificial intrauterina.

**CONCLUSÃO**

A taxa de retorno ao estro se mostrou superior comparada à de outros autores, dessa forma, conclui-se que a inseminação artificial no presente estudo apresentou resultados insatisfatórios, e bem abaixo do esperado, frente ao pequeno número de animais utilizados, principalmente ao se tratar de IAIC.

**REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- Bortolozzo F.P., Bennemann P.E., Wentz I. & Bernardi M.L. Técnica, momento e frequência de realização da inseminação artificial em suínos. In: Bortolozzo F.P. & Wentz I. (Eds). *Suinocultura em ação: Inseminação artificial na suinocultura tecnificada*. Porto Alegre: Pallotti, pp.127-157.2005a.
- Bortolozzo F.P., Wentz I. & Dallanora D. Situação atual da inseminação artificial em suínos. *Acta Scientiae Veterinariae*.33: 17-32. 2005b.
- Deschamps, J.C., Lucia, T. Jr., Talamini, D.J.D. A Cadeia Produtiva Da Suinocultura. In: Lucia, T. Jr., Corrêa, M.N., Deschamps, J.C. *Tópicos em suinocultura*. Ed. Universitária/UFPEL. Pelotas-RS. p. 11-35. 2000.
- Diehl, G. N.;Filha, W. S. A.;Kummer, R.; Koller, F. Bernardi, M. L.; Ivo Wentz, I.; Bortolozzo, F. P. Nova pipeta para inseminação intra-uterina em suínos. *Ciência Rural*, v.36, n.1, jan-fev, 2006.
- Gama Rd, Vianna Wl, Pinese Me, Rosseto Ac, Moretti As. Different doses of porcine luteinizing hormone in precocious puberty induction in gilts. *Reprod Domest Anim*, v.40, p.433-435, 2005.
- Marchetti, A. N. , Bortolozzo F. P. , Wentz I., Borchardt Neto G., Wollmann E. , Dias C. P., Pozzobon M., Flores L., Silva L. E. , Lisboa P. Efeito da utilização de 2, 3 e 4 bilhões de espermatozoides na dose inseminante sobre a taxa de retorno ao estro, taxa de parto e o tamanho das leitegadas de fêmeas suínas.*Ars veterinaria*, 17(2):107-112, 2001.
- Moretti, A.S.; Martins,S.M.M.K.; Andrade, A.F.C.; Parazzi,L. J.; Oliveira,M. L.Controle farmacológico do ciclo estral. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, Belo Horizonte, v.37, n.2, p.213-219, abr./jun. 2013.
- ROSSI, C.A.R., LOVATTO, P.A., LEHNEN, C.R., MAZUTTI, A., GUILARDI, P.H. E PIRES, B.P. Indução e sincronização de estro em porcas lactantes através de gonadotrofinas eCG E hCG. *Arch. Zootec*.58 (Supl. 1): 617-620. 2009.