

# RESUMOS

REPRODUÇÃO DE EQUÍDEOS



  
**ABRAVEQ**

## **A duração do estro antes da ovulação afeta a expressão endometrial de genes ligados à receptividade uterina em éguas cíclicas**

Maria Eduarda Rodrigues de Almeida (1), Arthur Pelegi Maran (1), Laís Andrade Barbosa (1), Michelle Borges Silva (1), Juan Cuervo-Arango (2), Tamiris Sabrina Rodrigues (1), Elisa Santanna Monteiro da Silva (1)

(1) Universidade Federal de Uberlândia (UFU), (2) Cantero de Letur

Demonstrou-se correlação positiva entre a duração do estro e as taxas de prenhez em éguas receptoras cíclicas. Além disso, em receptoras acíclicas, a exposição ao estrógeno prévia à progesterona parece proporcionar melhor ambiente uterino em termos do padrão de expressão dos genes uterocalina (P19), fator de crescimento de fibroblastos 2 (FGF-2), fator de crescimento semelhante à insulina 1 (IGF-1) e receptor de progesterona (PGR), bem como favorecer a sobrevivência inicial do embrião. No entanto, ainda não se conhece o padrão de expressão desses mesmos genes em éguas cíclicas no início do diestro, quando a duração prévia do estro é levada em consideração. Sendo assim, este trabalho teve como objetivo investigar a expressão endometrial dos genes P19, FGF-2, IGF-1 e PGR em éguas cíclicas cinco dias após a ovulação, comparando éguas que apresentaram estro curto ou longo antes da ovulação. Para isso, monitorou-se a atividade folicular por ultrassonografia transretal em éguas sem raça definida com idade entre 3 e 8 anos e peso entre 350 e 450 kg. Após a detecção de folículo dominante associado à presença de edema endometrial  $\geq 1,5$  (0 = ausente; 1 = mínimo; 2 = moderado; 3 = alto), as éguas foram avaliadas diariamente até o dia da ovulação. Os animais foram divididos em dois grupos conforme a duração do edema/estro: estro longo (EL,  $n = 6$ ), composto por éguas com  $\geq 6$  dias de edema, e estro curto (EC,  $n = 5$ ), formado por éguas com duração de edema  $\leq 3$  dias. No quinto dia após a ovulação, foram realizadas biópsias uterinas para posteriormente realizar análises de expressão gênica por RT-qPCR. Utilizou-se o teste de Mann-Whitney para comparar o resultado de expressão gênica entre os grupos. Como resultado, houve maior expressão de IGF1. No entanto, como havia quatro éguas em comum pertencentes aos dois grupos (apresentaram ciclos curtos e longos), aplicou-se o teste t pareado e, neste caso, observou-se maior expressão apenas do P19 no grupo EL ( $p < 0,05$ ). De acordo com a literatura, a redução no PGR no diestro é benéfica para o desenvolvimento embrionário, assim como a maior expressão do IGF1 e P19. Além disso, foi descrito que o FGF-2 promove proliferação celular, podendo resultar na falha da implantação. Desta forma, menor expressão no diestro também pode ser benéfica em éguas. No geral, conclui-se que o padrão de expressão dos genes avaliados em éguas cíclicas corrobora os encontrados nas éguas acíclicas e que o maior tempo de exposição do útero ao estrógeno parece favorecer a receptividade uterina.

**Palavras-chave:** Éguas cíclicas. Ovulação. Expressão gênica. Receptividade uterina. Uterocalina.

**Agradecimentos:** UFU, pelo financiamento da bolsa para o projeto.

**Comissão de Ética:** CEUA/UFU nº 23117.036108/2023-23.



## **A idade dos equinos no momento da coleta da biópsia para produção de clones não afeta a taxa de produção de embriões por transferência nuclear**

Juliana Schleich Fonte (1), Pamella Costa Marques (2), Mariana Priotto de Macedo (3), Victoria Martins Braghetto Barillari (1), Henrique Cusatis Novaes (4), Juliana Guarnieri Dante Bovo (1), Caroline Mariano de Souza (1), Gustavo Pulzatto Merlini (4), Perla Dagher Cassoli Fleury (5), Jose Henrique Fortes Pontes (5), Vilceu Bordignon (3), Edward Squires (6), José Buratini Junior (6), Claudia Barbosa Fernandes (2)

(1) In Vitro Equinos, (2) Universidade de São Paulo (USP), (3) McGill University, (4) Faculdade de Ensino Superior e Formação Integral (FAEF Garça), (5) In Vitro Brasil, (6) Reliance In Vitro

A clonagem é uma técnica de reprodução assistida que possibilita a criação de um indivíduo geneticamente idêntico a outro. A viabilidade das células somáticas usadas para produzir clones de animais é um dos fatores que pode influenciar o sucesso dessa biotecnologia. Atualmente, fibroblastos coletados a partir da derme são amplamente utilizados para a produção de clones equinos. Entretanto, estudos adicionais se fazem necessários para demonstrar se a idade do animal no momento da coleta de biópsias que serão usadas para a criação de clones interfere de maneira significativa sobre o desenvolvimento dos embriões produzidos por transferência nuclear de célula somática. O presente estudo, portanto, teve como objetivo avaliar o efeito da idade do animal doador de fibroblastos sobre a taxa de fusão e o desenvolvimento dos embriões reconstruídos até o estágio de blastocisto. A taxa de fusão foi calculada dividindo-se o número de estruturas efetivamente fusionadas pelo número total de oócitos reconstituídos que foram submetidos ao processo de fusão. A taxa de desenvolvimento dos blastocistos foi determinada dividindo-se o número total de blastocistos produzidos pelo número de estruturas fusionadas. Para a realização do estudo, foram produzidos embriões a partir de 46 cultivos de fibroblastos oriundos de biópsias de pele coletadas de equinos com idades entre 0 meses e 30 anos, pertencentes às raças Brasileiro de Hipismo, Mangalarga e Mangalarga Marchador. As taxas de fusão e produção de blastocistos foram avaliadas conforme a faixa etária dos animais, divididos nos seguintes grupos: A (0 a 10 anos, n = 14 animais), B (11 a 15 anos, n = 6 animais), C (15 a 20 anos, n = 12 animais), e D (> 20 anos, n = 17 animais). Os resultados foram analisados por meio de análise de variância (ANOVA) com nível de significância de  $p < 0,05$  e apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas nas taxas de fusão entre os quatro grupos: A ( $58,4\% \pm 5,30$ ), B ( $48,5\% \pm 6,02$ ), C ( $55,8\% \pm 6,06$ ) e D ( $51\% \pm 3,38$ ). De forma semelhante, a produção de blastocistos não apresentou diferenças estatisticamente significativas entre os grupos: A ( $32,7\% \pm 5,30$ ), B ( $37,3\% \pm 8,55$ ), C ( $24,6\% \pm 6,07$ ) e D ( $26\% \pm 7,53$ ). Com base nesses resultados, conclui-se que a idade do animal no momento da coleta da biópsia para o cultivo de fibroblastos não influencia significativamente as taxas de fusão e produção de blastocistos por transferência nuclear. Esses resultados indicam

que células somáticas podem ser coletadas para a produção de clones independentemente da idade dos animais.

**Palavras-chave:** Clonagem. Fusão. Blastocisto. Idade. Equinos.

## A taxa de conversão de oócito a embrião correlaciona-se com a taxa de perda gestacional precoce em embriões equinos produzidos por ICSI

Victoria Martins Braghetto Barillari (1), Natalia Vasconcelos (1), Gustavo Pulzatto Merlini (2), Perla Dagher Cassoli Fleury (3), Jose Henrique Fortes Pontes (3), Vilceu Bordignon (4), Edward Squires (5), José Buratini Junior (5), Claudia Barbosa Fernandes (6)

(1) In Vitro Equinos, (2) Faculdade de Ensino Superior e Formação Integral (FAEF Garça), (3) In Vitro Brasil, (4) McGill University, (5) Reliance In Vitro, (6) Universidade de São Paulo (USP)

As biotecnologias da reprodução equina têm sido cada vez mais adotadas por criadores brasileiros. Entre essas técnicas, a produção *in vitro* de embriões por meio da injeção intracitoplasmática de espermatozoide (ICSI) vem ganhando destaque. Ao longo dos anos, o mercado tem reconhecido diversas vantagens dessa tecnologia, como o aumento na produção anual de embriões por animal, a possibilidade de estocar embriões vitrificados e um melhor planejamento das transferências embrionárias (TEs) a partir desse estoque. Além dessas vantagens, a ICSI possibilita a produção de progênes de éguas e garanhões com baixa performance reprodutiva e/ou idade avançada. No entanto, ainda existe grande variabilidade na taxa de conversão de oócito a embrião (Emb/Ooc) entre indivíduos, bem como nas taxas de gestação após a TE. Diante desse contexto, o presente estudo teve como objetivo avaliar a relação entre a taxa de Emb/Ooc com o potencial embrionário para iniciar a gestação e a perda gestacional aos 30 dias após a TE em éguas submetidas a programas de ICSI. Foram analisadas: 1) a conversão média de Emb/Ooc (o número de embriões que se desenvolveram a blastocisto dividido pelo número de oócitos submetidos à maturação *in vitro*) de 480 doadoras submetidas a três ou mais seções de aspiração transvaginal de oócitos entre janeiro de 2023 e dezembro de 2024; 2) as taxa média de prenhez inicial (P15, correspondente ao diagnóstico positivo de gestação aos 15 dias após a TE); e 3) a taxa média de perda embrionária aos 30 dias de gestação (MEP30 - o percentual de diagnósticos negativos aos 30 dias após a TE nas receptoras que tiveram prenhez confirmada aos 15 dias após TE). Para o cálculo de P15 e MEP30, foram considerados apenas embriões oriundos de doadoras com pelo menos cinco embriões transferidos. Os embriões foram classificados em dois grupos com base na conversão média Emb/Ooc. O grupo A incluiu os embriões de 332 doadoras que resultaram em taxas de Emb/Ooc iguais ou maiores a 20%. O grupo B foi composto por embriões de 148 doadoras que resultaram em taxas de Emb/Ooc inferiores a 20%. O teste U de Mann-Whitney revelou que não houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) na taxa de P15 entre embriões do grupo A ( $62,5\% \pm 0,9$ ) e grupo B ( $59,5\% \pm 1,3$ ). No entanto, o mesmo teste indicou que a taxa de MEP30 foi significativamente inferior ( $p < 0,001$ ) nos embriões do grupo A ( $14,9\% \pm 0,8$ ) comparados aos embriões do grupo B ( $22,1\% \pm 1,5$ ). Esses resultados sugerem que o potencial de conversão Emb/Ooc não influencia a capacidade dos embriões equinos para iniciar a gestação, entretanto, uma menor taxa de conversão Emb/Ooc está associada a uma maior perda gestacional precoce.

**Palavras-chave:** Equinos. ICSI. Produção de embrião. Perda de embrião.

## Ação do hidrogênio molecular na viabilidade esper-mática

Arthur Pizapio Pacce Cintra (1), Carlos Eduardo Vasques (1), Carlos Sanches Vargas Neto (1), Tammy Cardoso Serizava Melles (1), Rafael Silva Cipriano (1), Wildemberto Arena dos Santos (2), Tatiane da Silva Poló (1), Ludimila Cardoso Zoccal Janini (3)

(1) Centro Universitário Católico Salesiano Auxilium (UNISALESIANO), (4) Universidade Estadual Paulista (Unesp), (5) Universidade de São Paulo (USP)

Um dos principais problemas relacionados à criopreservação do sêmen em equinos é a geração de agentes reativos do oxigênio (ROS) seminal e a oxidação no processo de descongelamento. O hidrogênio molecular (HM) é um gás fundamental para várias funções biológicas do corpo. Pesquisas demonstram que o HM age onde os radicais livres causam danos celulares devido à metabolização do oxigênio presente no espermatozoide, além de agir nas mitocôndrias, preservando a produção de adenosina trifosfato (ATP) e evitando lesões celulares. Utilizando-se dessas ações, torna-se um agente protetor nos processos de criopreservação e redução de efeitos deletérios avaliados no espermograma. Este experimento teve como objetivo avaliar os parâmetros espermáticos após hidrogenação do meio diluente na criopreservação de sêmen de equinos. Foram utilizadas amostras de sêmen fresco de dois garanhões, divididas em frações iguais e diluídas com e sem hidrogênio na proporção de 1:1 com diluidor para transporte comercial (BotuSemen Gold®, Botupharma®) imediatamente após a coleta. A amostra do garanhão A apresentou 87,02% de motilidade total (MT) e 66,08% de motilidade progressiva (MP), do garanhão B 92,27% de MT e 87,29% de MP, antes de serem diluídos, ambos com vigor 3. Realizou-se a hidrogenação através de gerador de hidrogênio modelo pró de 1200 ml de vasão (HYDROGEN MAX®) no meio diluente a uma concentração de 1200 ml de H<sub>2</sub> por ml de sêmen, mantidos em recipiente para transporte de sêmen refrigerado (BotuIA®, Botupharma®). As amostras foram fracionadas em duas alíquotas de cada garanhão, uma fração com meio hidrogenado e a outra em diluente sem adição de H<sub>2</sub>. Realizou-se centrifugação em 600 G por 10 minutos, envase e congelamento do sêmen em palhetas de 0,5 ml utilizando protocolo padrão ONE STEP para sêmen equino do Congelador CRYOGEN HS Minilab® (NEOVET®), e armazenadas em botijão de nitrogênio até a descongelação a 36°C, por 30 segundos, e análise. Na avaliação do sêmen no AndroScope® (Minitube®), após a descongelação, observaram-se os seguintes valores de MT e MP: Garanhão A (MT = 11,73% e MP = 4,22%), Garanhão A+H<sub>2</sub> (MT = 32,89% e MP = 6,26), Garanhão B (MT = 20,90% e MP = 9,66%), Garanhão B+H<sub>2</sub> (MT = 56,88% e MP = 31,16%). Considerando os resultados após o congelamento, nas amostras que foram utilizadas o HM no diluidor de transporte, verificou-se um acréscimo na MT e MP dos espermatozoides, obtendo valores de MT 2,8 e 2,72 vezes maiores nos garanhões A e B, respectivamente, quando comparadas com as amostras sem H<sub>2</sub>. Conclui-se que o HM acrescentado no meio diluidor antes do congelamento melhorou a MT e MP dos espermatozoides após congelamento. Com isso, acredita-se que o hidrogênio foi capaz de neutralizar radicais livres e preservar a integridade da membrana mitocondrial à oxidação



após congelamento. Apesar dos resultados serem promissores, são necessárias análise de maior número de animais, adequação e padronização das técnicas aplicadas.

**Palavras-chave:** Oxidação. Motilidade. Hidrogênio.

## **Aplicação de subdose de histrelina nos acupontos Bai-hui e Yan-chi na indução da ovulação de éguas - Resultados preliminares**

Lys De Barros Fogagnoli (1), Mirelle Ochrimowicz (1), Rafaela Caroline Machado (1), Clara Mantovani Ozorio Mota (1), Kallena Canali Abdala Jose (1), Rachel Weckl (1), Luana Guimarães Cardoso (1), Pedro Vicente Michelotto Júnior (1), Carlos Eduardo Camargo (1,2)

(1) Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR), (2) Embryohorse

A farmacopuntura é uma das formas de estimulação dos pontos de acupuntura. Consiste na aplicação de subdoses de fármacos diretamente nos acupontos para conseguir mesmos os resultados em relação a doses usualmente empregadas, minimizando efeitos adversos, produção de resíduos em produtos de origem animal e diminuição de custos. A histrelina é um hormônio análogo ao hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH), preconizado na dose de 250 µg/égua para indução da ovulação em tempo previsível de 24 a 48 horas. Este estudo objetivou avaliar a eficácia da aplicação de subdoses de histrelina nos acupontos Bai-hui e Yan-chi na indução da ovulação de éguas. Foram investigadas sete éguas híbridas (com idade entre 10 e 17 anos), sem raça definida, do plantel da Fazenda Experimental Gralha Azul da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR), em Fazenda Rio Grande, Paraná. A pesquisa consistiu na aplicação de oito protocolos: 1 - 250 µg de histrelina via intramuscular (IM); 2 - 75 µg de histrelina via IM; 3 - 25 µg de histrelina via IM; 4 - sem intervenção nenhuma (ovulação espontânea); 5 - solução salina a 0,9% no Bai-hui; 6 - 25 µg de histrelina Bai-hui; 7 - solução salina a 0,9% no Yan-chi; e 8 - 25 µg de histrelina no Yan-chi. Os protocolos iniciaram em 21 de setembro de 2024, no início do equinócio da primavera. Foram aplicados em oito ciclos reprodutivos consecutivos de maneira aleatória, definida por meio de sorteio, e obedecendo aos parâmetros ideais para a indução da ovulação (folículo igual ou maior que 35 mm, presença de edema uterino grau 3 e relaxamento de cérvix), e os volumes aplicados foram padronizados todos para 1 ml. A avaliação do tempo de ovulação foi realizada por meio de ultrassonografia nos tempos 24h, 36h e 48h após a indução, registrando-se os dados por estimativas dentro da faixa entre exames. Das sete éguas que completaram os oito protocolos, observou-se que nos protocolos 1, 2 e 3 (via IM) houve uma taxa de 85,7% (6/7 éguas) de ovulação em até 48 horas da indução; no protocolo 4, a taxa caiu para 42,9% (3/7). Nas aplicações de solução salina a 0,9% nos acupontos Bai-hui e Yan-chi (protocolos 5 e 7), as taxas de ovulação foram de 57,1% (4/7) e 14,3% (1/7), respectivamente. Para a aplicação de 25 µg de histrelina nos acupontos Bai-hui e Yan-chi (protocolos 6 e 8), as taxas de ovulação até 48h foram de 100% (7/7) e 85,7% (6/7), respectivamente. Concluindo, o estudo mostra que a aplicação de subdose de histrelina (25µg) nos acupontos Bai-hui e Yan-chi foi eficaz na indução da ovulação em até 48 horas, sendo o protocolo de farmacopuntura com subdose de histrelina no acuponto Bai-hui o único protocolo que foi 100% eficaz para a indução da ovulação. O pequeno número de éguas pode ter influência nos resultados e estudos com números maiores de animais devem ser realizados.

**Palavras-chave:** Acupuntura. Bem-estar. Cavalos. Equinos. Reprodução.

**Agradecimentos:** Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e PUCPR.

**Comissão de Ética:** CEUA/PUCPR nº 3456051124.

## Avaliação citológica do muco cervical de éguas da raça Crioula no terço final de gestação

Talita Vitória Oliveira Fabossa (1), Isadora Paz Oliveira dos Santos (1), Bianca de Fátima Dallo (1), Thaís Feijó Gomes (1), Rafaela Pinto De Souza (1), Mariana Andrade Mousquer (1), Marcos Eduardo Neto (1), Carlos Eduardo Wayne Nogueira (2), Paloma Beatriz Joanol Dallmann (1), Bruna da Rosa Curcio (1)

(1) Universidade Federal de Pelotas (UFPel), (3) Universidade Federal de Santa Maria (UFSM)

A avaliação obstétrica da égua é essencial para garantir a saúde gestacional. O muco cervical reflete o estado hormonal e a saúde do trato reprodutivo da égua, assim sua avaliação através da citologia permite identificar infecções, inflamações e anormalidades previamente. Dessa forma, este estudo possui o intuito de caracterizar e quantificar as células encontradas em amostras citológicas do muco cervical de éguas Crioulas gestantes. Dados foram expressos em média  $\pm$  desvio-padrão. Foram avaliadas 11 éguas hípidas em dois momentos gestacionais (300 e 330 dias), sem alterações placentárias, com idade de  $7,28 \pm 2,1$  anos. Previamente à coleta, realizava-se a higienização perineal, com clorexidina 2% e solução fisiológica. A coleta foi realizada pela palpação cuidadosa da região externa da cérvix, via transvaginal, utilizando luva de palpação estéril. Com o material contido na luva foram confeccionadas duas lâminas (manobra *squash*) por égua e corados com Panóptico Rápido. Ao todo, dez campos foram avaliados por lâmina. Após, realizou-se a contagem de todas as células presentes em cada campo e, em seguida, o diferencial das células em inflamatórias e epiteliais uterinas. Verificou-se, também, se havia presença de microrganismos. Ao todo, foram obtidas 22 lâminas, nas quais foram analisados 10 campos por lâmina com microscopia óptica. As lâminas apresentaram baixa contaminação e população heterogênea de células isoladas ou em aglomerados celulares, com pleomorfismo e anisocitose, núcleos nus, fragmentos citoplasmáticos, cromatina dispersa em arranjo linear e células degeneradas; não foram visualizados microrganismos. Identificou-se uma média de  $71 \pm 49$  neutrófilos e  $12 \pm 10$  linfócitos nos 300 dias e  $64 \pm 35$  neutrófilos e  $8 \pm 5$  linfócitos nos 330 dias. Quanto às células epiteliais uterinas, obteve-se uma média de  $76 \pm 12$  células/lâmina nos 300 dias e  $73 \pm 10$  células/lâmina nos 330 dias, não sendo identificada diferença na contagem de células entre os dias avaliados. Em éguas prenhes, espera-se um predomínio de células epiteliais superficiais, que indicam um ambiente uterino saudável e adequado para o desenvolvimento do feto. A presença de neutrófilos em grande quantidade pode sugerir infecção ou inflamação, o que requer intervenção imediata para evitar complicações como abortos ou partos prematuros. Assim, a presença de neutrófilos no muco cervical constatada na população estudada é considerada fisiológica, pois estão em quantidades que não excederam as células epiteliais superficiais. No presente estudo, observou-se 53% de células inflamatórias na avaliação citológica do muco cervical, o que pode ser explicado devido às mudanças teciduais e hormonais que ocorrem com a aproximação do parto. As descrições e valores definidos nesse estudo podem auxiliar na interpretação da citologia de muco cervical de éguas prenhas, demonstrando que

este método pode ser utilizado como uma ferramenta complementar em diferentes momentos do período gestacional em éguas.

**Palavras-chave:** Citologia. Obstetrícia. Muco-cervical. Equinos.

**Agradecimentos:** Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS).

**Comissão de Ética:** CEEA nº 8245-2015.



## **Avaliação da produção de biofilme por *Staphylococcus* em amostras de éguas com endometrite infecciosa - Dados preliminares**

Eduarda Goulart Costa, Andressa Schunemann Bernardes, Leonel Amaral Beltran, Pâmella Araújo Damasceno, Fabricio Desconsi Mozzaquatro, Claudia Acosta Duarte, Irina Lübeck

Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA)

A endometrite é a inflamação do endométrio, estando diretamente relacionada à infertilidade, perdas gestacionais e outros problemas reprodutivos em éguas. Ela pode ser de origem não infecciosa ou infecciosa, quando causada por microrganismos como bactérias e fungos. Alguns agentes em específico podem ser formadores de biofilme. Esta particularidade pode proteger o microrganismo, dificultando a ação do sistema imune do animal. Além disso, compromete a ação de substâncias antimicrobianas, o que pode ocasionar infecções crônicas. Neste estudo, 40 animais passaram por uma triagem inicial onde foram colhidas amostras uterinas com swab de dupla proteção, escova citológica e lavado de baixo volume. A partir desta amostragem, realizou-se cultura para identificação microbiana. Após a confirmação do agente, foram realizados testes de suscetibilidade a alguns antibióticos, nos quais a maioria foi sensível à Gentamicina. Posteriormente, foram selecionadas para os testes de produção de biofilme amostras de animais em que houve crescimento positivo para *Staphylococcus* spp. Para tanto, utilizou-se a técnica qualitativa de repique e em ágar vermelho congo. As bactérias foram então reativadas em ágar sangue a 37 °C por 24 horas e, após, em meio *Plate Count Agar* a 37 °C por 24 horas. Após esse período, foram adicionadas aos meios de cultura para a análise da produção de biofilme, sendo empregados o *Brain Heart Infusion* (BHI) com adição de 2,5 % sacarose e o *Tryptic Soy Agar* (TSA) com adição de 1% de glicose. Em ambos os meios, adicionou-se vermelho congo na concentração final 0,08%. As placas foram divididas em três partes, sendo: amostra teste, controle positivo (*S. aureus* ATCC 25923) e controle negativo (água destilada estéril). Os testes foram realizados em triplicata e após 24, 48 e 72 horas de incubação procedeu-se à análise da coloração das colônias, sendo os microrganismos classificados em produção leve (coloração vermelha), média (cinza) e intensa (escuras). Para a determinação da produção de biofilme, consideraram-se positivas as amostras que obtiveram cor escura (negro) e cinza, e negativas as de cor vermelha. Diante disso, observou-se que no meio TSA todas as amostras foram produtoras de biofilme, não sendo possível a categorização em relação a sua capacidade de produção devido à coloração homogênea. Já no meio BHI com sacarose foi possível classificar as cepas, sendo três não produtoras e oito produtoras. Ambas as cepas não produtoras eram sensíveis à gentamicina, permitindo inferir que mesmo as cepas suscetíveis à ação de antibióticos podem produzir biofilme e dificultar o tratamento da afecção.

**Palavras-chave:** Biofilme. Endometrite. Diagnóstico microbiológico.

**Agradecimentos:** UNIPAMPA, Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação e bolsa PRO IC-Mulheres na Ciência.

**Comissão de Ética:** CEUA/UNIPAMPA nº 036/2024.

## **Avaliação de diferentes protocolos para obtenção de plasma rico em plaquetas para uso na clínica reprodutiva equina**

Joel Neves de Oliveira (1,2), Adriana Pires Neves (3), Henrique Boll de Araujo Bastos (1), Anna Júlia Schneider Moraes (1), Anelise da Costa Silva (1)

(1) Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) - Laboratório de Reprodução Animal (REPROLAB), (2) Coudelaria da Serra, (2) Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA)

O plasma rico em plaquetas (PRP) é um produto biológico consolidado dentro da medicina regenerativa equina, que possui diversos métodos e protocolos para sua obtenção com diferentes aplicações. Na medicina reprodutiva, há a necessidade de avaliar e classificar o PRP quanto ao número de leucócitos, eritrócitos e plaquetas. A avaliação permitirá a sua classificação em plasma puro rico em plaquetas (P-PRP) ou plasma rico em leucócitos e plaquetas (L-PRP) e não apenas com o nome genérico de PRP. O objetivo deste estudo foi avaliar a concentração de plaquetas, eritrócitos, leucócitos e carga bacteriana presentes no PRP, com base em dois protocolos já utilizados na clínica reprodutiva equina e outros dois novos protocolos que visaram maior eficiência/praticidade no processo de separação. Foram selecionados dez cavalos de diferentes raças e de cada um foram coletadas cinco amostras totais de sangue por venopunção: uma para hemograma completo e quatro protocolos para produção de PRP (P1, P2, P3 e P4). Em P1 e P2, o sangue foi coletado em Vacutainer (tubos de vidro de 4 ml) com citrato de sódio a 3,2%. As coletas de sangue P3 e P4 foram feitas em sistema aberto em tubos plásticos cônicos de 50 ml, utilizando citrato de sódio a 3,2% e citrato-fosfato-dextrose adenina (CPDA-1), respectivamente. P1 utilizou centrifugação de 120 x g/10 min e P2 realizou duas centrifugações, uma a 120 x g/10 min e outra a 240 x g/10 min. Em ambos os protocolos, P3 e P4 utilizaram duas centrifugações (215 x g/10 min e 863 g x/10 min). Foram realizadas análises de hemocomponentes e crescimento bacteriano. Os protocolos foram considerados fatores independentes e a concentração de plaquetas, eritrócitos e leucócitos, variáveis dependentes. A concentração de plaquetas foi analisada com ANOVA e teste t; a concentração de eritrócitos e leucócitos com teste de Kruskal-Wallis. A concentração de plaquetas foi maior no P3 e P4 do que no P1 ( $p < 0,0009$ ) e igual no protocolo P2. P1 apresentou menor concentração de eritrócitos do que P2, P3 e P4 ( $p = 0,0014$ ). Leucócitos foram observados em todos os grupos, entretanto, P1 apresentou menor número de leucócitos do que P3 e P4 ( $p = 0,0120$ ) e não apresentou diferença de P2. Todos os grupos foram identificados como sendo P-PRP e sem contaminação bacteriana. A identificação das quantidades e proporções dos hemocomponentes após cada preparação do protocolo leva a um uso clínico específico (plaquetas intrauterinas auxiliarão na endometrite persistente pós-cobertura), uma vez que a presença de determinados hemocomponentes pode gerar resultados diferentes na proliferação, diferenciação e imunidade tecidual. Portanto os protocolos P3 e P4 podem ter vantagens no tratamento de doenças reprodutivas, pois o maior volume dos tubos torna o procedimento mais rápido e simples.

**Palavras-chave:** Clínica reprodutiva. Sangue. Plasma rico em plaquetas. Protocolo PRP.

## Avaliação de três diluentes comerciais na refrigeração de sêmen equino

Catherine Dall'Agnol Krause (1), Rodrigo Bozembecker de Almeida (1), Daniel Henrique Vieira Cavalcante (2), Felipe Pires Hartwig (2)

(1) Hartwig Fertilidade Equina, (2) Universidade Federal de Pelotas (UFPel)

A utilização de um diluente apropriado é indispensável para a refrigeração e o transporte do sêmen equino. Esses diluentes possuem componentes básicos que estabilizam a membrana plasmática e o pH, protegem contra o choque térmico, mantêm o equilíbrio osmótico e eletrolítico, fornecem energia e inibem o crescimento bacteriano. O objetivo deste trabalho foi comparar o uso de três diluentes na refrigeração do sêmen equino, um contendo leite desnatado (A - Botusêmen®) e os outros dois à base de caseína, sendo um nacional (B - Botusêmen KZ®) e o outro importado (C - INRA 96®). Para o estudo, foram realizadas 20 coletas de sêmen de dez garanhões da raça Crioula, de diferentes idades (entre 4 e 22 anos, média de  $11,6 \pm 6,24$ ) e perfis de parâmetros espermáticos. Cada ejaculado foi dividido em três amostras, diluídas a uma concentração final de  $50 \times 10^6$  espermatozoides/ml com os diluentes citados acima, respeitando uma proporção mínima de 3:1 (diluente:sêmen). Ejaculados com uma concentração inferior a  $200 \times 10^6$  espermatozoides/ml foram diluídos na proporção 1:1 e centrifugados com a utilização de Red Cushion® (Botupharma) por 20 minutos a 1000 G; o sobrenadante foi descartado e o *pellet* de espermatozoides ressuspendido com o mesmo diluente até a concentração final desejada. A cinética espermática de cada alíquota foi avaliada a fresco e após 24h e 48h de refrigeração, utilizando o sistema CASA portátil AndroScope® (Minitube), registrando a motilidade total (MT), progressiva (MP) e rápida (MR). Para análise estatística, realizou-se o teste de Shapiro-Wilk, onde determinou-se uma distribuição não normal dos dados, seguido pelo teste de Friedman, que verificou diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os grupos. Para melhor compreensão dos resultados, utilizou-se um teste post hoc (Durbin-Conover) para verificar a relação entre os três grupos. As amostras diluídas com diluente C apresentaram valores significativamente maiores quando comparadas aos diluentes A e B a fresco: MT (C:  $87,3\% \pm 9,36\%$ ; A:  $86,0\% \pm 9,37\%$ ; B:  $85,3\% \pm 9,22\%$ ); MP (C:  $85,8\% \pm 10,7\%$ ; A:  $84,2\% \pm 10,8\%$ ; B:  $83,3\% \pm 10,7\%$ ); MR (C:  $56,8\% \pm 16,7\%$ ; A:  $54,7\% \pm 17\%$ ; B:  $53,4\% \pm 16,4\%$ ); com 24h MT (C:  $74,6\% \pm 8,7\%$ ; A:  $64,8\% \pm 11\%$ ; B:  $63,9\% \pm 12,2\%$ ); com 24h MP (C:  $70,5\% \pm 10,8\%$ ; A:  $60,5\% \pm 11,7\%$ ; B:  $59,4\% \pm 12,9\%$ ); com 24h MR (sem diferença estatística); com 48h MT (C:  $70,1\% \pm 10,0\%$ ; A:  $60,1\% \pm 12,4\%$ ; B:  $61,5\% \pm 15,3\%$ ); com 48h MP (C:  $65,8\% \pm 11,3\%$ ; A:  $54,7\% \pm 14,2\%$ ; B:  $56,5\% \pm 16,1\%$ ); com 48h MR (C:  $36,7\% \pm 11,1\%$ ; A:  $30,6\% \pm 10,5\%$ ; B:  $28,0\% \pm 9,88\%$ ). O diluente A foi superior ao B apenas em MR às 24h ( $35,2\% \pm 9,03\%$ ;  $30,4\% \pm 8,56\%$ ). O diluente B apresentou medianas superiores ao A em MT e MP com 48h ( $61,5\% \pm 15,3\%$  e  $56,5\% \pm 16,1\%$  contra  $60,1\% \pm 12,4\%$  e  $54,7\% \pm 14,2\%$ ), entretanto sem diferença estatística. Este estudo analisou um panorama geral dos diluentes, porém é fundamental realizar testes individuais de forma a



verificar o diluente que melhor atende o perfil de parâmetros espermáticos de cada garanhão.

**Palavras-chave:** Andrologia. Biotecnologia. Garanhões.

## **Avaliação de três diluentes comerciais utilizados na pré-centrifugação para criopreservação de sêmen equino**

Catherine Dall'Agnol Krause (1), Rodrigo Bozembecker de Almeida (1), Daniel Henrique Vieira Cavalcante (2), Felipe Pires Hartwig (2)

(1) Hartwig Fertilidade Equina, (2) Universidade Federal de Pelotas (UFPel)

Após a coleta do sêmen, é de fundamental importância a utilização de diluentes de refrigeração e transporte para manter a viabilidade seminal durante o processo de criopreservação. Esses diluentes contêm substâncias que atuam na manutenção da atividade metabólica dos espermatozoides, fornecendo energia, equilibrando o pH, mantendo o equilíbrio eletrolítico e osmótico e inibindo o crescimento bacteriano. Este trabalho teve como objetivo avaliar três diferentes diluentes comerciais utilizados na pré-centrifugação para a criopreservação de sêmen equino, um contendo leite desnatado (A - Botusêmen®) e dois à base de caseína, sendo um nacional (B - Botusêmen KZ®) e o outro importado (C - INRA 96®). Para o estudo, foram realizadas 20 coletas de sêmen de dez garanhões da raça Crioula, de diferentes idades (entre 4 e 22 anos, média de  $11,6 \pm 6,24$ ) e perfis de parâmetros espermáticos. Após a coleta, cada ejaculado foi dividido em três amostras, diluídas com os produtos citados na proporção de 1:1 (diluente:sêmen). Após cerca de 20 minutos, todas as amostras foram processadas (centrifugação por 20 minutos a 1000 G com utilização de Red Cushion® - Botupharma) e criopreservadas da mesma forma (diluente Botucrio® - Botupharma), decréscimo de  $1^\circ\text{C}/\text{min}$  até  $5^\circ\text{C}$  e  $30^\circ\text{C}/\text{min}$  até  $-140^\circ\text{C}$  em máquina de congelamento TK 5000®, seguido de imersão em nitrogênio líquido atingindo  $-196^\circ\text{C}$ ). Avaliou-se a cinética espermática de cada amostra após descongelamento (30 segundos a  $37^\circ\text{C}$  em banho maria) utilizando o sistema CASA portátil AndroScope® (Minitube), registrando a motilidade total, progressiva e rápida. Para análise estatística, realizou-se o teste de Shapiro-Wilk, onde determinou-se uma distribuição não normal dos dados, seguido pelo teste de Friedman. As médias mais altas para motilidade total, progressiva e rápida foram do diluente C ( $74,2\% \pm 10,5\%$ ;  $71,3\% \pm 12,5\%$ ;  $31,4\% \pm 11,9\%$ ), seguidas pelo diluente B ( $72,9\% \pm 12,3\%$ ;  $70\% \pm 13,1\%$ ;  $29,4\% \pm 12,2\%$ ) e A ( $71,9\% \pm 10,1\%$ ;  $69,2\% \pm 10,7\%$ ;  $28,0\% \pm 9,62\%$ ). Entretanto houve diferença significativa apenas na motilidade rápida. Desta forma, o estudo demonstrou que a utilização de qualquer um dos três diluentes na pré-centrifugação não leva à diminuição considerável dos parâmetros cinéticos. Ainda são necessários testes mais aprofundados, como avaliação da integridade de membrana, para determinar se haveria mudanças de qualidade seminal. A composição do diluente de refrigeração utilizado na pré-centrifugação desempenha um importante papel para o sucesso da criopreservação do sêmen, pois os seus componentes estabilizam a membrana plasmática e fornecem proteção para as células. Estudos descrevem a caseína como sendo o principal componente do leite que fornece proteção ao espermatozoide equino. É importante lembrar que os garanhões apresentam particularidades, sendo interessante realizar análises individuais para estabelecer o melhor diluente em cada caso.

**Palavras-chave:** Andrologia. Biotecnologia. Garanhões.

## Avaliação do efeito *in vitro* de *Lactocaseibacillus* de bactérias do útero de éguas com endometrite

Maria Clara Mendes Bernabe (1), Amanda Luiza Pereira de Sousa (1), Julia Fabbris Morandin (1), Vasco Ariston de Carvalho Azevedo (2), Belchiolina Beatriz Fonseca (1), Elisa Santanna Monteiro da Silva (1), Michelle Borges Silva (1)

(1) Universidade Federal de Uberlândia (UFU), (2) Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG)

O uso excessivo e inadequado de antibióticos no tratamento da endometrite bacteriana em éguas tem levado a um crescente interesse por alternativas terapêuticas. O uso de bactérias ácido-láticas (BAL) para prevenir e controlar a disbiose causada pela vaginite e endometrite tem sido documentado em humanos e bovinos. Estudos mostram que as espécies de *Lactocaseibacillus* conseguem produzir peróxido de hidrogênio, ácido acético e lático, bacteriocinas e outros metabólitos, os quais têm a capacidade de inibir bactérias patogênicas, além de atuar na imunomodulação e proteção das mucosas. Nosso grupo de pesquisa demonstrou recentemente efeitos benéficos de duas cepas de *Lactocaseibacillus*, sendo elas *L. acidophilus* e *L. plantarum*, sobre bactérias potencialmente patogênicas isoladas do útero de éguas com e sem endometrite. No entanto, ainda há a necessidade de testar outros tipos de BAL sobre diferentes bactérias patogênicas isoladas de éguas com endometrite ativa. O objetivo deste trabalho, portanto, foi avaliar o efeito *in vitro* de BAL sobre cepas de bactérias patogênicas por meio da formação de halos de inibição. Foram usadas três cepas de BAL [*L. acidophilus* (LA01)], [*L. plantarum* (LP09)] e [*L. rhamnosus* (LR156.4)] para avaliar seus efeitos sobre três bactérias patogênicas - *Staphylococcus warneri* (Bac1), *Pasteurella aerogenes* (Bac2) e *Salmonella* spp. (Bac3) isoladas do útero de éguas com endometrite ativa. Os animais utilizados pertenciam ao setor de equinos da Universidade Federal de Uberlândia (SEQUI-UFU) e haras da região. Para o teste, fez-se a formação dos spots de LA01, LP09 e LR156.4 em ágar MRS em microaerofilia. Após 24 horas, o LA01, LP09 e LR156.4 foram inativados com clorofórmio e, na sequência, as cepas patogênicas Bac1, 2 e 3 foram diluídas separadamente em ágar AN líquido e inoculadas sobre os spots e incubadas a 37 °C por 24 horas. Após esse período, o halo de inibição foi medido e caracterizado como: muito forte ( $\geq 2,0$  cm); forte ( $1,5 \geq \text{diâmetro} \leq 1,9$  cm); moderado ( $1,1 \geq \text{diâmetro} \leq 1,4$  cm); fraco ( $0,9 \geq \text{diâmetro} \leq 1,0$  cm); e ausente ( $\leq 0,9$  mm). Realizou-se análise descritiva dos dados e a partir dos resultados observou-se que tanto LA01, LP09 e LR156.4 apresentaram halos muito fortes sobre a *Pasteurella*, enquanto LA01 e LP09 apresentaram halos fortes sobre a *Salmonella* spp. O LR156.4 apresentou halo moderado para *Pasteurella*. Já o *Staphylococcus* apresentou halo moderado para LA01 e LP09, e ausente para LR156.4. Conclui-se, portanto, que as três BAL têm potencial para serem usadas como método preventivo ou para controle da endometrite bacteriana em éguas, sendo algumas mais que outras de acordo com o tipo de bactéria isolada. É necessário realizar testes *in vivo* para comprovar a eficácia do uso das BAL sobre as bactérias patogênicas do útero.

**Palavras-chave:** Útero. Endometrite. Patogênica.

**Agradecimentos:** Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia INCT-TeraNano (CNPq/CAPES nº 403193/20 22-2, FAPEMIG nº C.B.B.-APQ-03613-17) e Uniclon.



## Avaliação estereológica placentária de clones equinos derivados de fibroblastos

Bianca de Fátima Dallo (1), Flávia Moreira (1), Talita Vitória Oliveira Fabossa (1), Giovanna Helena da Silva Thier (1), Thaís Feijó Gomes (1), Isadora Paz Oliveira dos Santos (1), Luiza Gheno (1), Paloma Beatriz Joanol Dallmann (1), Rafaela Amestoy de Oliveira (1), Gabriela Castro da Silva (1), Maria Fernanda Ortiz de Elguea (1), Carlos Eduardo Wayne Nogueira (2), Bruna da Rosa Curcio (1)

(1) Universidade Federal de Pelotas (UFPe), (3) Universidade Federal de Santa Maria (UFSM)

A clonagem equina por transferência nuclear de células somáticas é uma biotecnologia promissora para a preservação genética e multiplicação de indivíduos de alto desempenho. No entanto, sua baixa eficiência reprodutiva está ligada a falhas na reprogramação epigenética, que podem impactar o desenvolvimento placentário, resultando em padrões anômalos de vascularização, morfologia e função placentária, comprometendo a troca materno-fetal e o desenvolvimento fetal adequado. O objetivo deste estudo foi avaliar e comparar a área microcotiledonária e área capilar em placentas de gestações de clones equinos oriundos de fibroblastos e de gestações convencionais. Foram utilizadas placentas do grupo Clone ( $n = 7$ ), obtidas de éguas da raça Polo Argentino de centros especializados na Argentina na temporada de 2023, enquanto as placentas grupo Controle ( $n = 5$ ) foram coletadas de éguas Crioulas do plantel da UFPe. Imediatamente após a expulsão, as placentas foram seccionadas em fragmentos de 3 x 3 cm das regiões do corpo uterino, corno grávido (CG) e corno não grávido (CNG) para processamento histológico. As lâminas foram analisadas em microscopia óptica, digitalizadas pelo software Aperio ImageScope, e analisadas usando o software de código aberto NIH ImageJ (US National Institute of Health). Para cada lâmina, dez campos aleatórios foram examinados para quantificação da área total microcotiledonária e área capilar, utilizando calibração espacial (setScale). A segmentação das estruturas foi realizada pelo Color Threshold. Os dados foram submetidos à análise de variância *one-way*, seguida pelo teste Tukey, com avaliação da interação entre os grupos e regiões das placentas, com auxílio do software Statistix 10.0, considerando significância quando  $p \leq 0,05$ . Os resultados demonstraram diferenças significativas entre clones e controles nos parâmetros analisados ( $p \text{ CG} > \text{CNG}$ ) e hipervascularização generalizada, possivelmente como mecanismo compensatório a déficits funcionais.

**Palavras-chave:** Clonagem equina. Estereologia. Placenta.

**Agradecimentos:** Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS) e Hospital Equino Kawell.

**Comissão de Ética:** CEUA/UFPe nº 8245-2020.

## Avaliação morfométrica de éguas gestantes - Desenvolvimento de novos métodos

Hilgarde Ferreira Pessoa (1), Regis Sperotto de Quadros (1), Tatiane Leite Almeida (1), Isadora Paz Oliveira dos Santos (1), Hortencia Campos Mazzo (2), Thiago Raymundi Nygaard (1), Micael Feliciano Machado Lopes (1), Marcos Eduardo Neto (1), Paloma Beatriz Joanol Dallmann (1), Carlos Eduardo Wayne Nogueira (3), Bruna da Rosa Curcio (1)

(1) Universidade Federal de Pelotas (UFPel), (2) Instituto Federal de Rondônia (IFRO), (3) Universidade Federal de Santa Maria (UFSM)

Na criação de equinos, as medidas corporais das éguas gestantes são fundamentais para avaliar o desenvolvimento adequado da gestação. O monitoramento dessas medidas permite acompanhar o ganho de peso e identificar possíveis alterações no estado físico da égua, impactando diretamente a saúde do potro. A ausência de estudos e avaliações sistemáticas sobre a biometria gestacional pode comprometer a percepção do progresso da gestação. O objetivo desse trabalho foi analisar as biometrias de éguas gestantes, com o intuito de compreender as variações no desenvolvimento fetal e ganho de peso da égua durante o período gestacional. Foram utilizadas 33 éguas Crioulas com idade de  $9,5 \pm 1,7$  anos, que já tenham tido pelo menos uma gestação a termo. Essas éguas foram avaliadas mensalmente com o auxílio de fita milimetrada para estimar seu peso com base na circunferência torácica, obtendo as seguintes medidas biométricas: perímetro torácico, diâmetro do 12º espaço intercostal (EI), diâmetro na 18ª costela, peso metabólico, peso na balança e na fita peso. As observações foram divididas de acordo com o mês da gestação em três períodos: 4 a 6 meses, 7 a 8 meses e de 9 a 11 meses. Realizou-se análise de variância *one-way* e comparação entre as médias pelo teste de Tukey, com significância de  $p < 0,05$ . Nas variáveis que apresentaram diferença, realizou-se teste de correlação de Pearson para avaliar o grau de associação com o peso na balança. As variáveis perímetro torácico, peso na fita e peso metabólico não apresentaram diferença entre os períodos. A comparação do peso na balança ao longo da gestação revelou um aumento significativo entre o 9º e 11º mês, sendo os pesos (kg) por período, respectivamente:  $387 \pm 49$ ;  $392 \pm 49$ ; e  $408 \pm 51$ . As variáveis perímetro (cm) no 12ºEI ( $191 \pm 141$ ;  $192 \pm 10$  e  $198 \pm 10$ ) e 18ª costela ( $186 \pm 13$ ;  $188 \pm 12$  e  $195 \pm 11$ ) também apresentaram incremento no período 9º e 11º mês, similar ao peso na balança. Observou-se alta correlação entre o 12ºEI ( $r = 0,89$ ,  $p < 0,001$ ) e 18ª costela ( $r = 0,85$ ,  $p < 0,001$ ) em relação ao peso na balança. A fita peso e o peso metabólico não foram confiáveis para avaliar o ganho de peso real no final da gestação. É fundamental utilizar métodos mais precisos e específicos para monitorar o ganho de peso durante a fase gestacional. Pode-se concluir que as medidas de perímetro na 12ºEI e 18ª costela mostram-se adequadas para monitorar a expansão abdominal das éguas gestantes, especialmente no período pré-parto, refletindo o crescimento fetal e o consequente ganho de peso da égua.

**Palavras-chave:** Biometria. Éguas gestantes. Fita de pesagem. Balança.

**Agradecimentos:** Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS).

**Comissão de Ética:** CEUA/UFPeI nº 1165/2016.

## Biochemical analysis during early pregnancy in mare

Thomas Baumbach Gomes (1), Juliana Pereira Matheus (2), Vanessa Canal (1), Verônica La Cruz Bueno (1), Henrique Boll de Araujo Bastos (1), Gustavo Henrique Zimmermann Winter (1), Rodrigo Costa Mattos (1), Leonardo Glaeser Paul (1), Manuela Tondin (1)

(1) Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), (2) Laboratório Zelle de Patologia Clínica

The embryo-maternal communication is a complex mechanism of interaction between the mother and the embryo. Systemic changes during early pregnancy in mares have been sparingly studied. However, they may reveal important aspects of the complex physiology of the embryo-maternal interaction. The aim of this study was to evaluate changes in biochemical analysis during early pregnancy in mares. Blood samples were collected from 8 cyclic mares, aged 6 to 15 years, during the breeding season. The samples were collected on the day of ovulation induction (D-2) and on days 15 (D15), 25 (D25), and 45 (D45) of pregnancy. All mares were artificially inseminated. The samples collected through jugular venipuncture were sent to a laboratory for biochemical analysis. The serum metabolites analyzed were aspartate aminotransferase (AST), total bilirubin, direct bilirubin, albumin, alkaline phosphatase (AP), total calcium, phosphorus, creatinine, urea and total serum protein. After clot retraction, the samples were centrifuged and the serum used to measure specific analytes. The biochemicals were measured by the colorimetric-kinetic/enzymatic method, according to the specific technique for each analyte, using commercial kits and automatic biochemical analyzer Labmax 240, LABTEST®. Statistically significant differences were observed in total bilirubin, which decreased by D45 compared to D-2. AST concentration was higher on D25 than D-2. The fibrinogen evidenced a gradual growth during the initial days evaluated, showing an increase on D25 compared to D-2 and D45. An increase in fibrinogen levels at D25 may be associated with the disappearance of the embryonic capsule. Similar to fibronectin, fibrinogen binds to integrins which mediate cell adhesion. The endometrial expression of those integrins suggests that conceptus fibrinogen supports attachment by interacting with endometrial integrins during early pregnancy. Inflammatory responses are characterized by elevated fibrinogen levels, which may explain the findings analyzed in the present study. The literature lacks consensus regarding the observed alterations of AST and bilirubin. These hormonal shifts result in increased plasma volume and physiological phenomena such as hemodilution, heightened metabolic demand, and hepatic overload. In conclusion, significant systemic changes occur in AST, bilirubin and fibrinogen during the early stages of pregnancy, which could be important for embryo development, physiological adaptation and for maternal recognition to the pregnant mare.

**Keywords:** Equine reproduction. Pregnancy. Embryo-maternal interaction. Biochemical profile.

## Características obstétricas e neonatais em equinos da raça Crioula

Giovanna Helena da Silva Thier (1), Bruna da Rosa Curcio (1), Isadora Paz Oliveira dos Santos (1), Gabriela Castro da Silva (1), Andre Machado da Silva Junior (1), Bianca de Fátima Dallo (1), Luiza Gheno (1), Marcos Eduardo Neto (1), Micael Feliciano Machado Lopes (1), Paloma Beatriz Joanol Dallmann (1), Tatiane Leite Almeida (1), Bernardo Rocha de Lima (1), Clarissa Fernandes Fonseca (1), Flávia Moreira (1), Otavio de Lima (1), Thaís Feijó Gomes (1), Thiago Raymundi Nygaard (1), Milena Miolo Antunes (1), Thiago Nunes Alves Reis (1), Talita Vitória Oliveira Fabossa (1), Matheus Pinto Sechous (1), Hilgarde Ferreira Pessoa (1), Carlos Eduardo Wayne Nogueira (2)

(1) Universidade Federal de Pelotas (UFPel), (2) Universidade Federal de Santa Maria (UFSM)

Durante o nascimento, os potros passam por adaptações essenciais para a vida extrauterina, assumindo as funções que a placenta assumia anteriormente. Esse processo de transição é considerado crítico para os neonatos, exigindo do veterinário atenção e acompanhamento durante o parto. Desta forma, o objetivo deste estudo foi descrever as características obstétricas e neonatais de éguas Crioulas e seus respectivos neonatos, acompanhando o parto de 94 éguas. Após o rompimento da bolsa alantoideana, as éguas eram encaminhadas para uma cocheira maternidade onde era realizado o parto assistido. Realizava-se a ligadura da cauda, seguida de palpação transvaginal, para constatar o posicionamento do potro no canal do parto. Intervenções eram feitas somente em casos de necessidade. Com o auxílio do Software Statistix 10.0, realizou-se teste de normalidade dos dados e posteriormente teste t de Student para comparar o efeito do sexo dos neonatos nestes reflexos. Os dados referentes aos momentos do parto e o aparecimento dos reflexos neuroadaptativos dos neonatos foram descritos como média  $\pm$  desvio-padrão. A significância estatística foi fixada em  $p \leq 0,05$ . Todos os partos foram eutócicos, com os potros apresentando posição dorso-sacra ao nascimento. Observou-se tempo gestacional de  $314 \pm 13$  dias. Quanto ao sexo dos potros, 47,9% ( $n = 45$ ) eram fêmeas e 52,1% ( $n = 49$ ) eram machos, e o peso médio dos neonatos foi de  $39 \pm 6$  kg. A média de tempo entre a ruptura do alantoide e a expulsão completa dos potros foi de  $14,7 \pm 6$  minutos. Quanto aos reflexos neuroadaptativos dos neonatos, todos apresentaram boa capacidade de adaptação à vida extrauterina, com os tempos para decúbito esternal de  $11,7 \pm 9$ , reflexo de sucção de  $37 \pm 18$ , permanecer em estação  $1 \pm 19$ , mamar o colostro  $70 \pm 22$  e eliminação do mecônio em  $120 \pm 49$  minutos, não diferindo entre sexos e considerados dentro dos parâmetros normais para a espécie equina. Quanto ao sexo do neonato, observou-se uma diferença ( $p = 0,05$ ) no tempo entre a ruptura da bolsa alantoideana e o aparecimento do focinho, com valores de  $6,3 \pm 5,5$  minutos para as fêmeas e  $8,6 \pm 3,8$  minutos para os machos. No entanto, não houve diferença significativa no tempo total de parto, que foi de  $13,6 \pm 7,5$  e  $15,9 \pm 5,3$  minutos para as fêmeas e machos, respectivamente. Demais parâmetros não tiveram diferença estatística entre os sexos ( $p > 0,05$ ). Essas informações são importantes para a identificação precoce de potros em risco, permitindo intervenções



mais eficazes e melhor manejo durante o parto e os primeiros momentos de vida dos animais. As descrições e os tempos apresentados neste estudo tornam-se úteis no acompanhamento de partos e na caracterização das características obstétricas e neonatais da raça Crioula.

**Palavras-chave:** Reflexos neuroadaptativos. Acompanhamento obstétrico. Parto assistido. Adaptação neonatal.

**Agradecimentos:** Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS).

**Comissão de Ética:** CEEA/UFPeI nº 8245-2015.

## Citologia e bacteriologia uterina de éguas com endometrite: comparativo dos resultados obtidos por *cytobrush* e lavado de baixo volume

Fabricio Desconsi Mozzaquatro, Leonel Amaral Beltran, Marcele Guimarães Barros Eduarda Goulart Costa, Andressa Schunemann Bernardes, Claudia Anacleto Amorim, Luíza Gonçalves Martini, Claudia Acosta Duarte, Irina Lübeck

Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA)

A endometrite equina é um processo inflamatório de origem infecciosa ou não, podendo manifestar-se de forma aguda ou crônica, acarretando prejuízos à fertilidade das fêmeas. O diagnóstico para essa afecção é realizado por meio do histórico reprodutivo da égua e avaliação ginecológica, incluindo exames complementares como ultrassonografia trans-retal, citologia, histologia e colheita de amostras uterinas para cultura microbiana. O objetivo do presente estudo foi avaliar se existe alteração nas contagens citológicas e cultura bacteriana frente a dois tipos de colheita de amostra para a citologia (escova tipo *cytobrush* ou lavado de baixo volume - LBV) e para o diagnóstico microbiológico (*swab* com dupla proteção e LBV). Inicialmente, foram incluídos no estudo seis animais que apresentavam histórico de alteração reprodutiva (acúmulo de líquido intrauterino e perdas gestacionais), os quais foram submetidos ao exame clínico específico do trato reprodutivo, bem como colheita de *swab*, *cytobrush* e LBV. As amostras de escova citológica foram fixadas diretamente em lâminas. Já para o LBV foram utilizados 250 ml de solução fisiológica e massagem por 1 min. Deste volume foram retirados 50 ml para centrifugação a 800 rpm por 20 min, sendo o sobrenadante descartado e o *pellet* utilizado para confecção de lâminas citológicas e cultura microbiana. Os *swabs* foram empregados para o cultivo em ágar sangue. As lâminas foram coradas com panóptico rápido e avaliadas por microscopia, sendo considerada citologia positiva quando apresentavam 2% de neutrófilos no total de células contadas. Três éguas apresentaram cultura positiva com colheita via *swab* e LBV (*Streptococcus* B-hemolítico, *Escherichia coli* e levedura). Uma égua teve crescimento somente na amostra do *swab* (enterobactéria) e outra somente com LBV (*Pseudomonas* spp.). Uma égua não apresentou crescimento microbiano em nenhum meio de cultura. O tipo de colheita não influenciou no crescimento de microrganismos. Não identificou-se correlação entre o tipo de colheita para a análise citológica, sendo possível a contagem tanto de amostras de *cytobrush* quanto de LBV, contudo a qualidade das lâminas foi superior quando realizado esfregaço diretamente de *cytobrush*. Já no que se refere à avaliação da inflamação uterina em relação à presença de microrganismos, não identificou-se correlação positiva; entretanto, 50,0% das amostras (3/6) apresentaram cultura e citologia positiva e 33,3% (2/6) apresentaram citologia negativa e cultura positiva. Tal fato pode ter ocorrido porque a produção de células inflamatórias pode estar relacionada ao gênero microbiano. Para que possamos fortalecer nossas avaliações acerca do tema abordado, ampliaremos o número de animais avaliados. Conclui-se que os métodos *cytobrush* e LBV

podem ser empregados para citologia uterina e que LBV e o *swab* podem ser utilizados para cultura de microrganismos no diagnóstico da endometrite.

**Palavras-chave:** Inflamação uterina. Bactéria. Neutrófilo.

**Agradecimentos:** Programa Institucional de Iniciação Científica e Tecnológica - PRO-IC Modalidade Iniciação Científica - Chamada Interna UNIPAMPA nº 15/2024.

**Comissão de Ética:** CEUA/UNIPAMPA nº 037/2024.

## Comparação das taxas de prenhez entre dois protocolos de vitrificação de embriões equinos produzidos por ICSI

Giovana de Faria Tessarini (1), Marcos Antonio Gonçalves (1), Victoria Martins Braghetto Barillari (1), Thaina Machado Dutra (1), Gustavo Pulzatto Merlini (2), Perla Dagher Cassoli Fleury (3), Jose Henrique Fortes Pontes (3), José Buratini Junior (3), Giovana Rodrigues dos Santos (4), Álvaro de Miranda Alves (4), Marcilio Nichi (4), Claudia Barbosa Fernandes (4), Vilceu Bordignon (5), Edward Squires (6)

(1) In Vitro Equinos (2) Faculdade de Ensino Superior e Formação Integral (FAEF Garça), (3) In Vitro Brasil, (5) Universidade de São Paulo (USP), (5) McGill University, (6) Reliance In Vitro

A vitrificação de embriões facilita o manejo e melhor utilização das receptoras em programas de transferência de embriões equinos produzidos por injeção intracitoplasmática de espermatozoide (ICSI). Este estudo comparou a eficácia dos protocolos de vitrificação *One Step* e W1/W2 aferida pelas taxas de prenhez aos 15, 30 e 60 dias após a transferência do embrião. No protocolo *One Step*, os embriões foram vitrificados em gotas sequenciais em soluções de vitrificação (VS1 e VS2). A exposição progressiva ocorreu ao longo de 8 minutos no VS1 e 30 segundos em VS2, com a transferência final para a palheta de vitrificação e imersão imediata em nitrogênio líquido. A desvitrificação foi realizada em meio *holding* aquecido a 37,5°C, observando-se a expansão do embrião antes do envase na palheta para a transferência. No protocolo W1/W2, a exposição ao VS1 ocorreu por 6 minutos, seguida da transferência para VS2 por 40 segundos e vitrificação. A desvitrificação envolveu meios W1 e W2, com lavagens sequenciais antes do envase com meio *holding*. Foram vitrificados e desvitrificados 4.393 embriões, sendo 1.778 com o protocolo *One Step* e 2.615 com o protocolo W1/W2. Do total de blastocistos transferidos, 60% (1.066/1.778) eram D7 e 40% (716/1.778) eram D8 para o protocolo *One Step*. No protocolo W1/W2, 48% (1.254/2.615) eram D7 e 52% (1.361/2.615) eram D8. A taxa de prenhez (DG) foi avaliada aos 15, 30 e 60 dias pós-transferência. A análise estatística indicou distribuição não paramétrica dos dados, sendo utilizados o teste de qui-quadrado e regressão logística com valor de  $p < 0,05$ . Houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) na prenhez aos 15 dias, com 63,4% (1.658/2.615) no protocolo W1/W2 e 67,8% (1.176/1.732) no protocolo *One Step*. No entanto, as taxas de prenhez aos 30 dias (91% - 1.510/1.658 vs. 91,4% - 1.075/1.176) e aos 60 dias (90,7% - 1.370/1.510 vs. 90,4% - 972/1.075) não foram estatisticamente diferentes entre os protocolos W1/W2 e *One Step*, respectivamente. A análise da taxa total de prenhez revelou diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os protocolos, sendo 52,4% (1.370/2.615) para o protocolo W1/W2 e 58,6% (1.075/1.835) para o protocolo *One Step*, demonstrando a maior eficácia do protocolo *One Step*. A regressão logística apontou que o protocolo *One Step* aumentou a chance de prenhez em 27% [1.275 (1.122 - 1.449),  $p = 0,0001$ ] aos 15 dias, e a taxa total de prenhez no período foi 17,2% maior [1.172 (1.038 - 1.325),  $p = 0,01$ ]. Os resultados indicam que o protocolo *One Step* preserva melhor a viabilidade dos embriões equinos vitrificados em comparação ao protocolo W1/W2, influenciando positivamente a taxa de prenhez. O efeito do dia do embrião (7 x 8) no

momento da vitrificação não foi avaliado no modelo, mas pôde ter colaborado para a melhor eficiência deste protocolo. Além disso, a execução rápida, simplicidade de armazenamento e acesso aos meios utilizados conferem vantagens operacionais tanto no laboratório quanto no campo, garantindo segurança e eficiência na vitrificação de embriões equinos produzidos por ICSI.

**Palavras-chave:** Vitrificação. Desvitrificação. Protocolo *One Setp*. Protocolo W1/W2. Taxa de prenhez.

## Comparação de métodos de contagem celular em tecido ovariano equino: uma abordagem semiautomática vs. manual com a utilização de softwares computadorizados

Luiza Gheno (1), Carlos Eduardo Wayne Nogueira (2), Isadora Paz Oliveira dos Santos (1), Andre Machado da Silva Junior (1), Marcos Eduardo Neto (1), Bianca de Fátima Dallo (1), Micael Feliciano Machado Lopes (1), Paloma Beatriz Joanol Dallmann (1), Tatiane Leite Almeida (1), Clarissa Fernandes Fonseca (1), Francisco Leo Nascimento de Aguiar (3), Gustavo Desire Antunes Gastal (4), Bruna da Rosa Curcio (1)

(1) Universidade Federal de Pelotas (UFPel), (2) Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), (3) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia (IFPB), (4) Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA)

A utilização de softwares computadorizados para a contagem de células estromais em tecido ovariano equino agiliza, padroniza e aprimora a precisão das análises histológicas, reduzindo erros e subjetividade. Desta forma, este estudo teve como objetivo validar uma nova metodologia semiautomatizada com a utilização do software ImageJ, comparando sua eficiência e precisão à metodologia manual já estabelecida. Para avaliar a densidade estromal, 10% das secções histológicas de cada fragmento ovariano foram analisadas. Imagens capturadas por uma câmera digital (Olympus DP-72) acoplada a um microscópio (Nikon Eclipse 50i/55i) foram processadas no ImageJ (v. 1.53s). Cinco campos ( $50 \times 50 \mu\text{m}$ ) foram selecionados e os núcleos celulares foram contados manualmente ou pelo método semiautomático. No método manual, após calibrar o ImageJ, as células foram marcadas e contadas com a ferramenta *Multi-point*. No método semiautomático, as imagens foram convertidas para tons de cinza, segmentadas com *Threshold* e transformadas em binário (*Make Binary* e *Convert to Masks*). O *plugin Analyze Particles* identificou células de  $0,3 - 5 \mu\text{m}^2$  e realizou a contagem automaticamente. Através do software Statistic 10.0, realizou-se a comparação entre as duas metodologias de contagem celular por meio do teste ANOVA *one-way*, seguido pelo teste de Tukey. Neste estudo, observou-se que a contagem de células estromais pelo método semiautomático revelou um número celular significativamente maior ( $p \leq 0,05$ ) em comparação ao método manual ( $106,3 \pm 0,9$  e  $97,5 \pm 0,8$ , respectivamente), bem como a redução do tempo (em segundos) de contagem das células estromais ( $169,7 \text{ segundos} \pm 10,2$  e  $297,2 \text{ segundos} \pm 14,5$ , respectivamente). O método semiautomatizado de contagem celular, embora quantifique um número maior de células estromais, tem se destacado na análise histológica, especialmente na avaliação do estroma em cortes histológicos. Essa abordagem é particularmente útil para evidenciar a organização e densidade estromal. A maior quantificação observada pode ser atribuída à maior sensibilidade do software na detecção de núcleos celulares, à eliminação do viés humano, à identificação precisa de estruturas menores, à padronização do processamento das imagens e à melhor separação de células sobrepostas, reduzindo erros frequentes na contagem manual. O uso do *plugin Analyze Particles*, aliado à segmentação em escala de cinza do software ImageJ, proporciona alta precisão na identificação e quantificação celular, reduzindo a subjetividade inerente aos métodos manuais. Além de otimizar o

tempo de análise, essa abordagem minimiza erros humanos, tornando-se uma ferramenta ideal para estudos quantitativos em histologia. Dessa forma, conclui-se que a incorporação de ferramentas semiautomatizadas maximiza a eficácia das análises histológicas, atendendo às exigências de precisão, eficiência e reprodutibilidade na avaliação da qualidade do tecido ovariano equino após processamento.

**Palavras-chave:** Estroma. Ovário. Histologia. Quantificação.

**Agradecimentos:** Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal do Ensino Superior (CAPES) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelas bolsas de pós-graduação concedidas.

**Comissão de Ética:** CEUA nº 4312240522.

## Comparação entre coleta de sêmen convencional e fracionada em garanhões da raça Crioula

Natália Amanda Silveira (1), Barbara Manica (2), Fernando Paixão Lisboa (1), Lorenzo Segabinazzi (3)

(1) Médicas veterinárias autônomas, (2) Universidade de Caxias do Sul (UCS), (3) Ross University

As biotecnologias reprodutivas de sêmen baseiam-se nas técnicas de coleta e manipulação do ejaculado de um garanhão. O contato dos espermatozoides com as secreções das glândulas anexas, como o plasma seminal, leva a perdas importantes após descongelamento de sêmen criopreservado. A coleta fracionada de sêmen, aliada a técnicas de manipulação seminal, é utilizada para melhora da fertilidade. O objetivo deste trabalho foi avaliar as diferenças entre volume, motilidade total, vigor e concentração total de espermatozoides de ejaculados obtidos de coleta de sêmen convencional e fracionada de garanhões da raça Crioula. Para o estudo foram utilizados 16 ejaculados de dois garanhões (10 e 14 anos). Os ejaculados foram divididos entre coleta fracionada ( $n = 6$ ) e coleta convencional ( $n = 10$ ). Para as coletas convencionais, utilizou-se vagina artificial modelo Botucatu (Botupharma, SP, Brasil), enquanto para as coletas fracionadas foi utilizada uma vagina curta, medindo 30 cm de comprimento, com ambas as extremidades abertas. Após a coleta, as amostras de sêmen foram diluídas com Botusemen Special® até a proporção de  $50 \times 10^6/\text{ml}$ . Os dados de volume, motilidade espermática, vigor e concentração total do ejaculado foram avaliados através de teste T pareado, considerando-se  $p < 0,05$ . A coleta fracionada apresentou menor volume (24 ml), maior motilidade (78%) e maior vigor (4) quando comparada à coleta convencional (volume = 69 ml; motilidade = 57%; vigor = 3) ( $p < 0,05$ ). Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos em relação à concentração total dos ejaculados. Com base nos resultados obtidos dos garanhões avaliados, a coleta fracionada demonstrou ser uma opção útil em reprodutores cujo ejaculado possui elevado volume (livre ou não de gel) e baixa motilidade espermática, já que para alguns reprodutores o contato dos espermatozoides com o plasma seminal é aparentemente um fator deletério. Portanto, conclui-se que a coleta fracionada pode ser uma alternativa para garanhões que apresentam ejaculados de alto volume e baixa qualidade.

**Palavras-chave:** Equino. Espermatozoide. Coleta fracionada. Motilidade.



## **Correlação da idade gestacional com o tamanho da órbita ocular em éguas Crioulas do Planalto Catarinense: resultados parciais**

Jordane Bunn Felimberti, Maurício Seminotti Zanette Melissa Caroline Risso, Larissa Henrique da Silva, Mariana Zanini Tortato, Luísa Fontes Giachini, Camila Machado Ferrari, Aimé de Medeiros Friso, Verônica Flores da Cunha Scheeren

Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC)

A realização de coberturas em manada ainda é bastante utilizada na criação de cavalos Crioulos, dificultando a estipulação do tempo de gestação e previsão de parto. Assim, a determinação da idade gestacional é um importante parâmetro a fim de estimar a data do parto e acompanhar o desenvolvimento fetal ao longo da gestação, por meio da ultrassonografia. Este estudo teve como objetivo mensurar órbitas fetais em éguas Crioulas do Planalto Catarinense para determinar o tempo gestacional. Para a realização da pesquisa foram avaliadas 29 fêmeas gestantes, entre 3 e 15 anos de idade, com gestações entre 4 e 8 meses, as quais possuíam datas de ovulações conhecidas. Entre os animais avaliados, submetidos à palpação uterina seguida de ultrassonografia transretal, com ultrassom no modo B equipado com transdutor linear com frequência de 5mHz, foram mensuradas 21 órbitas oculares fetais. Após a identificação da órbita, realizou-se a medição do comprimento e largura, em linhas perpendiculares, a qual foi repetida mais duas vezes, obtendo um total de três medidas de ambos os diâmetros. Para cada exame, realizou-se uma média de cada conjunto de medida de largura e comprimento e o valor médio do diâmetro foi aplicado na fórmula  $y = 8.3756 x + 11,90$ , onde y representa a idade gestacional em dias e x representa o diâmetro da órbita ocular fetal em milímetros. Até o momento, entre as mensurações avaliadas, as medidas dos diâmetros das órbitas de acordo com o mês de gestação foram de  $13,81 \pm 2,81$  no 4º mês,  $17,79 \pm 2,55$  no 5º mês,  $18,59 \pm 0,43$  no 6º mês,  $22,18 \pm 0,12$  no 7º mês e  $24,58 \pm 2,65$  no 8º mês, apresentando crescimento linear com o avanço da gestação. Desta forma, conclui-se que a correlação entre a determinação da idade gestacional e o tamanho da órbita ocular fetal é um método de avaliação relevante nos criatórios da raça em que não se tem o conhecimento da data da inseminação ou da ovulação, podendo auxiliar na observação do desenvolvimento fetal e previsão de parto.

**Palavras-chave:** Gestação. Órbita. Éguas. Mensuração.

**Agradecimentos:** UDESC, pelo incentivo e fornecimento da bolsa na modalidade de iniciação científica através do programa PROBIC.

**Comissão de Ética:** CEUA/UDESC nº 5245271124.

## Dados preliminares sobre endometrite infecciosa equina no Rio Grande do Sul

Andressa Schunemann Bernardes (1), Luíza Gonçalves Martini (1), Claudia Anacleto Amorim (1), Gabriela Döwich Pradella (1), Nicolý Pasqualon (1), Adriana Oliveira Andrade (2), Wagner de Souza Tassinari (2), Fabricio Desconsi Mozzaquatro (1), Irina Lübeck (1)

(1) Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA), (2) Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ)

A endometrite, inflamação do endométrio, é uma afecção comum na reprodução equina e decorre em resposta a agentes estranhos como plasma seminal, espermatozoides e microrganismos. Tem origem multifatorial, sendo a principal causa de subfertilidade e infertilidade em éguas. A endometrite infecciosa tem alta prevalência, podendo ser causada por vários agentes bacterianos e fúngicos. Os trabalhos publicados na área evidenciam que, embora sejam isolados os mesmos microrganismos na maioria dos estudos, eles podem variar sua frequência conforme a região estudada, sendo as bactérias mais comumente relatadas *Streptococcus equi*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Klebsiella pneumoniae*. Assim, objetiva-se identificar os principais agentes infecciosos presentes em éguas com histórico de alteração reprodutiva na Região Sul. Também busca-se verificar se alguns fatores predisponentes para a endometrite interferem com a sua ocorrência. Até o momento foram coletados swab e lavado uterino de 40 animais de diferentes raças, os quais foram analisados quanto à inclinação, coaptação vulvar e presença de líquido intrauterino, além da coleta de informações gerais como raça e idade. Dados preliminares, obtidos por estatística exploratória, mostraram que houve crescimento microbiano em 62,5% das amostras, sendo em 20% delas isolado *Streptococcus* spp. e 32,5% outros microrganismos, com predomínio de enterobactérias. No estudo realizado, a inclinação horizontalizada do períneo, má coaptação vulvar e presença de líquido intrauterino demonstraram uma tendência ao crescimento microbiano positivo, de acordo com a condição clínica e anatômica dos animais. Além disso, através da coleta de dados acerca da idade (idoso > 20 anos; adulto = 6 a 19; jovem = 0 a 5 anos), observou-se que todos os animais idosos obtiveram crescimento microbiológico positivo, sendo que essa prevalência diminuiu em animais adultos e jovens, respectivamente. Os dados encontrados são condizentes com os descritos em outros estudos, onde a prevalência relatada de endometrite infecciosa foi de 25 a 60% dos casos. *Streptococcus* spp. e enterobactérias, assim como no presente trabalho, são mais frequentemente isolados nos casos desta afecção. Assim, sugere-se que existe uma alta prevalência da enfermidade na Região Sul, sendo importante a investigação em um maior número de animais para a realização de levantamento epidemiológico. Ainda, conclui-se que a conformação do períneo da égua, presença de líquido intrauterino e idade contribuem para a ocorrência da endometrite.

**Palavras-chave:** Endometrite. Éguas. Prevalência. Infecção.

**Agradecimentos:** Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), UNIPAMPA.

**Comissão de Ética:** CEUA/UNIPAMPA nº 036/2024.

## Detecção de anticorpos anti-*Brucella abortus* em reprodutores Lavradeiros de comunidades indígenas roraimenses

Rebeca Farias Passos (1), Ana Carolina Borsanelli (2), Maria Clorinda Soares Fioravanti (3), Tatiana Nunes de Azevedo Romanowski (4), Janaína Silva Campos (4), Ramayana Menezes Braga (5), Fernanda Carlini Cunha dos Santos (6)

(1) Universidade Federal de Roraima (UFRR), (2) UFG, (3) Universidade Federal de Goiás (UFG), (4) Agência Goiana de Defesa Agropecuária, (5) Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa Roraima), (6) Universidade Federal dos Vales Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM)

Os equinos Lavradeiros são um ecótipo genuinamente brasileiro, considerados naturalmente adaptados ao característico e exclusivo bioma do estado de Roraima, denominado de Lavrado, definido como região de vegetação aberta do tipo savana. Os Lavradeiros foram submetidos à seleção natural, adquirindo características peculiares com o passar dos anos, como aspectos morfológicos, funcionais e tolerância às condições adversas de alimentação e sanidade. Em comunidades indígenas, equinos e ruminantes são mantidos em sistema de criação extensivo, com alimentação exclusiva de pastagens nativas, com mínima interação humana e ausência de manejo sanitário, sem administração de vacinas, antiparasitários ou tratamento de enfermidades. A ocorrência de brucelose em bovinos criados próximos aos equinos e observações empíricas a campo sugerem a presença de brucelose equina na população de Lavradeiros, sendo esta uma enfermidade com potencial zoonótico. Na região Norte, e mais especificamente em Roraima, há mínimo conhecimento ou estudos relativos à ocorrência de brucelose equina. Neste contexto, objetiva-se relatar a soroprevalência da infecção por *Brucella abortus* em equinos Lavradeiros criados em comunidades indígenas roraimenses com finalidade de reprodução. O estudo foi realizado em 48 comunidades indígenas no estado de Roraima, localizadas nas cidades de Alto Alegre, Amajari, Boa Vista, Bonfim, Cantá, Mucajaí, Normandia e Pacaraima. Foram coletadas amostras de 322 animais, machos e fêmeas, com idade acima de 2 anos, mantidos em rebanhos para reprodução. As amostras foram submetidas ao teste do antígeno acidificado tamponado (AAT), realizado no Laboratório de Análise e Diagnóstico Veterinário da Agência Goiana de Defesa Agropecuária (Agrodefesa), Goiânia, GO. Os resultados foram submetidos à estatística descritiva e distribuição de frequência, com auxílio do programa Statistic9®. Dos 322 reprodutores avaliados, 4,3% (n = 14) foram considerados reagentes no teste do AAT. Das 48 comunidades indígenas analisadas, 20,8% (n = 10) apresentaram no mínimo um reprodutor positivo. Em todas as comunidades havia criação simultânea de equinos e bovinos, em condições extensivas. Dois locais possuíam histórico recente de animais que vieram a óbito após apresentar sinais clínicos de bursite em região da cernelha, sendo esse um dos principais sinais clínicos de brucelose equina. Conclui-se que a infecção por *B. abortus* está presente em reprodutores Lavradeiros no estado de Roraima, representando um risco zoonótico com implicações para a saúde pública. Esses resultados ressaltam a necessidade de implementação de políticas públicas voltadas à prevenção e controle da brucelose, especialmente em comunidades indígenas.

**Palavras-chave:** Brucelose. Ecótipo. Localmente adaptado. Zoonose.

**Agradecimentos:** Embrapa Roraima, Programa de Pós-graduação em Reprodução Animal na Amazônia e UFVJM.

**Comissão de Ética:** CEUA/UFRR nº 27/2019.

## Doppler colorido, mais uma ferramenta para o diagnóstico de endometrite subclínica em éguas

Larissa Bastos Mello Rosa (1), Paula Junqueira Ferraz (2), Vera Lucia Teixeira de Jesus (2), Julio Cesar Ferraz Jacob (1), Vitória Caroline Abdalla de Mendonça Siqueira (3), Marcella Taina Resende Ribeiro (1), Ana Carolina de Oliveira de Andrade (4), Daniel Cantini Lopes (5), João Felipe Halfeld Carraca (6), Vitor Souza de Freitas (6)

(1) Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), (2) Jacob Academy (3) Universidade Federal de Uberlândia (UFU), (4) Universidade Estácio de Sá, (5) Universidade Santa Úrsula, (6) Universidade de Vassouras

A ultrassonografia (US) com Doppler colorido ainda não é muito difundida entre os clínicos de equinos no campo da reprodução, apesar de a maioria dos equipamentos portáteis incluírem modalidades Doppler. A relativa falta de conhecimento por parte dos profissionais sobre suas aplicações para avaliar funções reprodutivas limita seu uso na prática reprodutiva. O útero da égua com endometrite apresenta aumento de vascularização, possibilitando o diagnóstico através da US com Doppler colorido. A endometrite subclínica em éguas pode ser de difícil identificação, pois os sinais ultrassonográficos e achados laboratoriais podem variar bastante entre as fêmeas. Identificar a causa pode exigir mais do que um *swab* endometrial. A endometrite é a patologia reprodutiva mais comum nas fêmeas desta espécie, afetando negativamente as taxas reprodutivas, causando infertilidade, perdas embrionárias e, conseqüentemente, menor lucratividade em haras comerciais, uma vez que o diagnóstico de endometrite em éguas é um desafio na clínica e na prática reprodutiva equina. O processo inflamatório no endométrio leva à incapacidade de conceber, à morte precoce do embrião e ao aumento dos custos de produção. Quando mal diagnosticada e/ou tratada de forma não específica, a endometrite pode evoluir para uma endometrite degenerativa crônica ou endometriose. O objetivo do presente estudo foi avaliar a técnica de US com Doppler colorido como método diagnóstico auxiliar para a endometrite equina em comparação aos já existentes. Foram utilizadas 16 éguas da raça Mangalarga Marchador, com idade entre 6 e 20 anos. Quando as éguas estavam no estro, os exames foram realizados na seguinte sequência: US modo B e Doppler colorido, cultura bacteriológica, fúngica e citologia uterina. Para avaliação da endometrite, utilizou-se um ultrassom Sonoescape E2 Pro e realizou-se de maneira subjetiva com graduação de intensidade de pontos coloridos no endométrio uterino. Os casos classificados como positivos apresentavam múltiplas áreas de fluxo colorido difusamente distribuídas pelo endométrio, indicando aumento da perfusão endometrial. Já os exames considerados negativos exibiam apenas pontos coloridos isolados, com distribuição esparsa ao longo do mesométrio. Para análise estatística e comparação dos diferentes métodos diagnósticos, utilizou-se o teste de qui-quadrado. As análises foram realizadas ao nível de 5% de significância e utilizou-se o programa SPSS 29.0. Das 16 éguas, 7 (43,7%) apresentaram líquido no útero com US modo B, 14 (87,5%) no Doppler colorido positivo. Para cultura, 10 (67%) apresentaram bactéria, dois apresentaram (13%) fungo, quatro apresentaram (25%) cultura mista (bactéria/fungo) e 13 apresentaram (81%) citologia positiva. Os resultados corroboram

trabalhos que encontraram fluxo sanguíneo aumentado em todas as éguas que tiveram o útero previamente contaminado por bactéria. Nesse estudo houve presença de fluxo sanguíneo em 87,5% das éguas, demonstrando que a presença de endometrite foi estatisticamente superior àquela de outros métodos de diagnóstico ( $p < 0,0001$ ). Foi possível identificar endometrite através da US com Doppler colorido mesmo em éguas que não apresentaram líquido intrauterino (endometrite subclínica), o que pode ser relevante para auxiliar o diagnóstico precoce. Diante dos resultados, o Doppler colorido pode ser utilizado como método diagnóstico da endometrite clínica e subclínica. Sua associação à citologia pode representar excelente opção.

**Palavras-chave:** Infertilidade. Subfertilidade. Éguas. Perda embrionária.

**Agradecimentos:** Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) e Jacob Academy.

**Comissão de Ética:** CEUA/UBM nº 010/2016.

## **Efeito da rediluição com plasma seminal e do tratamento com plasma rico em plaquetas na resposta inflamatória e fertilidade de jumentas inseminadas com sêmen criopreservado**

Amanda Carvalho Silva (1), Carla Joseph (2), Lorenzo Segabinazzi (2)

(1) Universidade Estadual Paulista (Unesp), (2) Ross University

A inseminação artificial (IA) com sêmen criopreservado em asininos ainda é um desafio devido às baixas taxas de fertilidade nessa espécie. Acredita-se que a principal causa para estes baixos resultados seja a resposta inflamatória uterina exacerbada de jumentas ao sêmen criopreservado, devido à remoção do plasma seminal durante o processo de criopreservação e à adição de crioprotetores. Dessa forma, o presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da rediluição de sêmen criopreservado em plasma seminal (PS) e da infusão intrauterina de plasma rico em plaquetas (PRP) na inflamação uterina pós-inseminação, concentração de progesterona e fertilidade em jumentas. Um total de 68 ciclos estrais de 14 jumentas férteis foram aleatoriamente distribuídos em cinco grupos: inseminação com sêmen criopreservado rediluído em 7 ml de PS (PS,  $n = 12$ ), inseminação com sêmen criopreservado seguida de infusão intrauterina de ringer com lactato (Controle,  $n = 14$ ) ou PRP autólogo (T-PRP,  $n = 14$ ) 6h pós-IA, inseminação com sêmen fresco (SF,  $n = 14$ ) e um grupo não inseminado recebendo infusão intrauterina de PRP 44 horas após a indução da ovulação (S-PRP,  $n = 14$ ). Todas as inseminações foram realizadas 38h após a indução da ovulação (250  $\mu$ g de acetato de histrelina) e a deposição do sêmen realizada na ponta do corno uterino ipsilateral ao folículo pré-ovulatório ( $\geq 30$  mm) com a utilização de pipeta flexível. A lavagem uterina foi realizada 6h pós-IA em todos os ciclos. Acúmulo de fluido intrauterino (FIU), contagem de neutrófilos endometriais, volume do corpo lúteo (CL) e concentração plasmática de progesterona foram avaliados em vários momentos pré e pós-IA. O diagnóstico de gestação foi realizado no dia 14 (D14). Os grupos SF e PS apresentaram contagens mais baixas de neutrófilos 6h pós-IA do que os grupos Controle e PRP ( $p < 0,05$ ). Progesterona plasmática foi maior nos ciclos de SF nos dias 3 e 8, quando comparado com o Controle ( $p < 0,05$ ). Taxas de prenhez foram maiores nos ciclos SF (71%) comparado com todos os outros grupos (Controle: 0%; PRP: 14%, OS: 8%;  $p < 0,05$ ). Conclui-se, portanto, que PS reduziu a inflamação uterina pós-IA, mas não melhorou as taxas de fertilidade em jumentas inseminadas com sêmen criopreservado, enquanto PRP não teve efeito. Além disso, a progesterona plasmática foi afetada pelo tipo de sêmen utilizado para IA, mas não pelos tratamentos.

**Palavras-chave:** PRP. Asininos. Sêmen congelado.



## Efeito de diferentes crioprotetores permeáveis e concentrações na criopreservação do sêmen asinino

Camila Zanardi dos Santos (1), Amanda Carvalho Silva (1), Camila Freitas Dell Aqua (1), Marco Antônio Alvarenga (2), Frederico Ozanan Papa (1), Gabriel Augusto Monteiro (3), Lorenzo Segabinazzi (4)

(1) Universidade Estadual Paulista (Unesp), (2) Associação Brasileira dos Médicos Veterinários de Equídeos (ABRAVEQ), (3) Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), (4) Ross University

A redução global das populações de jumentos reforça a necessidade de técnicas eficazes de criopreservação do sêmen para conservação da espécie. Estudos indicam que a dimetilformamida (DMF) pode ser mais eficiente que a metilformamida (MF) como crioprotetor permeável, mas concentrações elevadas podem comprometer a fertilidade das éguas. Dessa forma, este estudo avaliou os efeitos de diferentes crioprotetores – glicerol (GLY), etilenoglicol (ETI), MF e DMF – na qualidade espermática do sêmen de jumentos criopreservado (experimento 1) e o impacto de concentrações reduzidas (5%, 3% e 2%) da combinação GLY:MF (1:4) (experimento 2). O sêmen foi coletado com vagina artificial, diluído em meio BotuGold® (100 milhões de espermatozoides/ml), centrifugado (600 × g/10 min) e ressuspensionado na mesma concentração em um dos diluentes experimentais testados. O sêmen foi carregado em palhetas de 0,5 ml e criopreservado. No experimento 1, ejaculados de cinco jumentos Pêga (n = 20) foram criopreservados com BotuCrio® (10% gema de ovo) e 5% de GLY, ETI, MF ou DMF; um grupo controle (BC) utilizou 1% GLY e 4% MF. No experimento 2, ejaculados de seis jumentos Pêga (n = 30) foram congelados com BotuCrio® contendo 5%, 3% ou 2% da combinação GLY:MF. Após o descongelamento (37°C/30 s), a motilidade total (TM), motilidade progressiva (PM) e porcentagem de espermatozoides rápidos (RAP) foram analisadas por CASA, enquanto a integridade da membrana plasmática foi avaliada por microscopia de fluorescência. No Experimento 1, DMF e BC apresentaram maior TM ( $p < 0,05$ ) (5%:  $57,70 \pm 4,82$ ; 3%:  $53,60 \pm 4,82$ ; 2%:  $49,50 \pm 4,82$ ;  $p > 0,05$ ), mas 5% resultaram em PM e RAP mais altos que 2% ( $p < 0,05$ ). Conclui-se que DMF é um crioprotetor promissor para sêmen de jumentos e a combinação GLY:MF (1:4) apresenta resultados comparáveis. A redução da combinação GLY:MF (1:4) para 3% se mostra uma alternativa viável, mas estudos *in vivo* são essenciais para confirmar seus efeitos na fertilidade.

**Palavras-chave:** Jumento. *Equus asinus*. Espermatozoides. Sêmen congelado.

**Agradecimentos:** Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

**Comissão de Ética:** CEUA/Unesp nº 0184/2024.

## Efeito do tempo de exposição ao estradiol prévio à progesterona sobre a caracterização de vesículas extracelulares do útero de éguas

Arthur Pelegi Maran (1), Julia Fabbri Morandin (1), Leonardo de Mendonça Siqueira (2), Schaienni Fontoura Saldanha (3), Juan Cuervo Arango Lecina (4), Juliano Coelho da Silveira (3), Elisa Santanna Monteiro da Silva (1)

(1) Universidade Federal de Uberlândia (UFU), (2) Universidade Estadual Paulista (Unesp), (3) Universidade de São Paulo (USP), (4) Universidad CEU Cardenal Herrera

Demonstrou-se que o maior tempo de exposição do útero ao estradiol representa um fator benéfico ao estabelecimento de receptividade endometrial e taxas de prenhez em equinos. Nas espécies humana e bovina, estudos apontam que as vesículas extracelulares (VEs) desempenham um importante papel em vias de sinalização presentes no útero e que suas características e conteúdo encontram-se sob regulação dos esteroides sexuais. Já na espécie equina, estudou-se a associação destas ao reconhecimento materno da gestação e mecanismos associados à endometrite. O objetivo deste trabalho foi determinar a influência do tempo de exposição ao estradiol na concentração, tamanho e caracterização de vesículas extracelulares do fluido uterino de éguas cíclicas e acíclicas em diestro inicial. Foram selecionadas 16 éguas, em anestro estacional e sem sinais de endometrite, divididas nos grupos estro longo (EL;  $n = 5$ ), estro curto (EC;  $n = 5$ ) e sem estro (SE;  $n = 6$ ), que foram expostas a 10 mg de cipionato de estradiol por 7 dias, 2 dias ou sem exposição, respectivamente, antes da aplicação de 1500 mg de progesterona de longa ação (P4 LA). As mesmas éguas foram avaliadas em fase de ciclicidade para inclusão nos grupos: EL cíclico (ELC; estro  $\geq 6$  dias;  $n = 6$ ) e EC cíclico (ECC; estro = 2 dias;  $n = 6$ ). As amostras de fluido uterino foram obtidas após infusão de 60 ml de DMPBS e recuperação do líquido por via transcervical, utilizando sonda nasogástrica nº 20, quatro dias após (D4) a ovulação ou administração de P4 LA. As amostras foram submetidas a centrifugações seriadas de 300, 2000 e 16.500 xg para remoção de células, *debris* celulares e corpos apoptóticos, retrospectivamente, e depois armazenadas em freezer  $-80^{\circ}\text{C}$ . Posteriormente, as VEs foram isoladas por ultracentrifugação a 119.700 xg e analisadas por citometria de fluxo, com os marcadores Alix, CD9, CD63 e Calnexina, e por rastreamento de nanopartículas. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância seguida do teste de Tukey. Já para a expressividade de cada marcador, utilizou-se o teste de Kruskal-Wallis. Considerou-se diferença quando  $p < 0,05$ . Não detectou-se diferença para os parâmetros de marcação específica para VEs, concentração de nanopartículas e tamanho das mesmas entre os grupos experimentais adotados. Todavia, quando as éguas foram agrupadas em cíclicas (ELC+ECC) e acíclicas (EL+EC+SE), observou-se maior concentração de nanopartículas nas amostras provenientes de éguas acíclicas ( $p = 0,018$ ). O Alix apresentou maiores níveis de detecção em relação aos demais marcadores utilizados. Estes resultados apontam que o tempo de exposição ao estradiol não refletiu em diferenças entre os grupos para os

parâmetros avaliados. Sugere-se que a diferença na concentração de nanopartículas seja decorrente dos diferentes perfis plasmáticos de progesterona, já que nas acíclicas o pico de concentração ocorre de maneira precoce (24h após administração) em comparação com as cíclicas.

**Palavras-chave:** Equinos. Receptividade. Estrógeno. Vesículas extracelulares.

**Agradecimentos:** Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pelo financiamento do projeto (Processo N.: APQ-00380-24) através do Edital 001/2024 - Demanda Universal.

**Comissão de Ética:** CEUA/UFU nº 23117.023474/2024-01.

## Effect of different ovulation induction protocols on the ovulation interval in mares

Fabio Amoroso Gomes Sanches (1), Rafaela de Fatima Soares (2), Paula Cristina Cepeda Perez (2), Daniele Branco Marques (2), Diogo Faria dos Santos (3), Álvaro de Miranda Alves (1), Beatriz Bringel (4), Perla Dagher Cassoli Fleury (5), José Cintra Cunha Neto (5), Edward Squires (6), Robert Douglas (4), Claudia B. Fernandes (1)

(1) Universidade de São Paulo (USP), (2) Equicenter Reprodução, (3) Universidade de Guarulhos (UNG), (4) B.E.T. Laboratories do Brasil S/C LTDA, (5) In Vitro Brasil, (6) Reliance In Vitro

Ovulation induction is a key strategy in equine reproductive management, allowing better control of breeding schedules and optimizing the timing of artificial insemination or natural mating. This study aimed to evaluate the ovulation interval in mares subjected to three different induction protocols. A total of 61 cyclic mares with dominant pre-ovulatory follicles ( $\geq 35$  mm) and endometrial edema were assigned to three treatment groups: group 1 ( $n = 20$ ) received 1.5 mg of deslorelin acetate; group 2 ( $n = 22$ ) received 1.5 mg of deslorelin acetate combined with 1500 IU of human chorionic gonadotropin (hCG); and group 3 ( $n = 19$ ) received only 1500 IU of hCG. All mares were monitored by transrectal ultrasonography every 2 hours, beginning 12 hours after induction and continuing until ovulation occurred or up to 90 hours post-treatment. The data were analyzed using the SAS System for Windows program (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Since the assumption of normality was not met for any of the groups, a non-parametric approach was applied. Differences among treatment groups were assessed using the Kruskal-Wallis test, followed by Dunn's post-hoc test with Bonferroni correction for multiple comparisons. The level of significance used to reject  $H_0$  (null hypothesis) was 5%. There was no statistically significant difference in the ovulation interval among the groups ( $p = 0.18$ ). The mean ( $\pm$  standard deviation) ovulation interval was  $31.7 \pm 12.79$  hours for group 1,  $40.82 \pm 6.92$  hours for group 2, and  $39.42 \pm 25.89$  hours for group 3. Although there was no statistically significant difference in the ovulation interval among treatment groups based on the Kruskal-Wallis test ( $p = 0.18$ ), additional analyses were performed to assess the consistency of ovulation timing across treatments. The Bartlett's test for homogeneity of variances indicated a statistically significant difference among groups (Bartlett's  $K^2 = 31.41$ ;  $df = 2$ ;  $p < 0.001$ ). Pairwise F-tests further revealed that group 2 had significantly lower variance in ovulation interval compared to group 1 ( $F = 3.23$ ;  $p = 0.0109$ ) and group 3 ( $F = 0.071$ ;  $p < 0.0001$ ). Additionally, group 3 showed greater variance than group 1 ( $F = 0.23$ ;  $p = 0.0024$ ). These results confirm that group 2 (deslorelin + hCG) provided the most consistent ovulatory response, with lower variability in time to ovulation, supporting the interpretation that this protocol may offer enhanced predictability despite similar mean ovulation intervals.

**Keywords:** Ovulation induction. Deslorelin. hCG. Reproductive biotechnology. Follicular dynamics.

## Effect of non-residency on the first estrous cycle post-transportation in thoroughbred mares

Florencia Maria Graglia Giménez (1), Gustavo Desire Antunes Gastal (2), Irene Kalpokas Tognazzolo (3)

(1) Centro Universitario Regional Noreste (CENUR), Universidad de la República (UDELAR), (2) Instituto Nacional De Investigación Agropecuaria, Estación Experimental (INIA), (3) Polo de Desarrollo Equino

Transportation of mares to breeding centers (stud farms) is a common practice in Thoroughbred (TB) breeding, dictated by Stud Book regulations. However, this practice exposes animals to stressors such as transport, environmental changes, and social instability. While stress has been shown to affect follicular dynamics in horses, few studies have evaluated its post-transport reproductive impact. This retrospective study assessed the effect of non-residency on the first estrous cycle in TB mares, comparing 44 resident and 63 non-resident mares (transported to a stud farm in San José, Uruguay, during one breeding season). The mares were aged 4-23 years (evenly distributed, with equal proportions of older mares in both groups, >13 years) and classified as either with (n = 63; 31 resident and 32 non-resident) or without (n = 44; 13 resident and 31 non-resident) foals at foot. All animals were maintained on an extensive system. Serial transrectal ultrasonography (US) was used to record follicular size, ovulation (disappearance of follicles > 35 mm and visualization of an echogenic mass indicative of a corpus luteum - CL), and pregnancy diagnosis. The first cycle was defined as the interval between the first and second US-detected CL for each mare. Analyzed parameters included ovarian disorders, pregnancy rate per first cycle/ovulation (PFC), monthly pregnancy distribution, interovulatory interval (IOI) of the first cycle, and end-of-season pregnancy rate (ESP). Data were processed using SAS v9.4 with chi-square, Tukey, and Student's T-tests (significance:  $p \leq 0.05$ ; trend:  $p < 0.05$ ) between resident (59%) and non-resident mares (47%). However, resident mares with foals had a higher ( $p < 0.05$ ) between groups, though variations occurred between early and late season (August: 69% vs. 37%; September: 56% vs. 43%; October: 50% vs. 53%; November: 50% vs. 68%). Foal presence did not affect ( $p > 0.05$ ) monthly PFC. The IOI of the first cycle was 34% longer in non-resident mares ( $27.0 \pm 1.5$  days vs.  $22.7 \pm 0.9$  days;  $p < 0.05$ ), associated with anovulatory hemorrhagic follicles and follicular regressions. These follicular disturbances were more frequent ( $p < 0.05$ ) in non-resident (22%) than in resident mares (2%). ESP was higher in residents (87% vs. 70%,  $p < 0.05$ ), demonstrating a cumulative stress effect on reproductive efficiency. In conclusion, moving animals to a new location disrupts initial follicular dynamics, delaying ovulation and reducing overall fertility. This suggests that stress from resocialization and environmental adaptation impacts ovulatory synchronization, particularly after post-transport in early-season cycles. Optimizing pre-breeding adaptation protocols is recommended to mitigate these effects.

**Keywords:** Stress. Estrous cycle. Animal transport. Equine fertility. Follicular dynamics.

## Eficiência de técnicas de seleção espermática para reprodução assistida em garanhões com baixa tolerância à criopreservação

Bruna Merci De Zutter, Camila Freitas Dell Aqua, Raquel Zaneti Puelker, Ana Caroline Silva Soares, Mariana Silva Frasson Camila Moreira Trinque, Leonardo de Mendonça Siqueira, Thaís Mendes Sanches Cavallero, Amanda Carvalho Silva, Luiza Padovani Zanolorenzi-Silva, Gabriel Augusto Monteiro, Marco Antônio Alvarenga, Frederico Ozanan Papa

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

A injeção intracitoplasmática de espermatozoides e a fertilização *in vitro* são as principais biotécnicas utilizadas na produção *in vitro* de embriões em equinos. A seleção dos espermatozoides constitui um fator determinante para o sucesso da fertilização e para o desenvolvimento embrionário, especialmente considerando a elevada suscetibilidade desses gametas a danos durante o processamento. Métodos convencionais, como *swim-up* e centrifugação por gradiente de densidade, são amplamente utilizados, embora se baseiem exclusivamente em parâmetros como motilidade e densidade celular. Em contrapartida, novas abordagens, como o uso de placas microfluídicas, têm demonstrado maior eficácia na seleção de espermatozoides com melhor motilidade, viabilidade e integridade do DNA, utilizando mecanismos fisiológicos. Este estudo comparou quatro metodologias de seleção aplicadas ao sêmen descongelado de oito garanhões classificados como *bad freezers*. Para cada partida, foram utilizadas 15 palhetas de sêmen, descongeladas em banho maria a 37 °C por 30 segundos e então divididas em quatro alíquotas e processadas por SU (Meio Fert-Talp), EP (Equipure®, Botupharma, São Paulo, Brasil), VM (VetMotl®, Spectrun, São Paulo, Brasil) e MF (MFSS®, Strex Inc., Osaka, Japan). Foram avaliados a cinética espermática (CASA), integridade e estabilidade de membrana (YoPro-1), potencial mitocondrial (MitoStatus Red), geração de ânion superóxido (MitoSOX Red) e morfologia (DIC). Os resultados demonstraram que EP e VM promoveram maior motilidade total (50% e 51,5%), progressiva (27% e 22,3%) e percentual de espermatozoides rápidos (36,7% e 36,6%) em comparação aos grupos SU (26%, 4,1% e 8,3%) e MF (40%, 8,3% e 20,2%) ( $p < 0,05$ ). A estabilidade de membrana, índices de hiperpolarização mitocondrial e menor produção de ânion superóxido também foram superiores nos grupos EP (45,3%, 45,6% e 51,3%) e VM (45,3%, 43,3% e 44,4%) em comparação aos grupos SU (28,0%, 27,5% e 76,7%) e MF (22,1%, 27,5% e 63,6%). Morfologicamente, o grupo VetMotl® apresentou menor incidência de defeitos de cabeça (3,9%) e acrossoma (0,6%), embora com maior frequência de anomalias na peça intermediária (7,5%;  $p < 0,05$ ), em comparação ao Swim-up (4,9%, 1,7% e 14,8%), Equipure (9,5%, 2,2% e 7,5%) e MFSS (4,6%, 1,2% e 10,6%). Tais resultados indicam que EP e VM promovem uma seleção mais eficaz de células com maior integridade estrutural e funcional. A capacidade dos sistemas microfluídicos de mimetizar condições fisiológicas *in vivo* representa uma alternativa promissora aos métodos tradicionais. Conclui-se que as tecnologias microfluídicas, especialmente o

VetMotl®, apresentam elevado potencial como ferramentas complementares na otimização da seleção espermática em sêmen criopreservado de garanhões com baixa resposta à criopreservação, devendo ser exploradas em estudos futuros com enfoque na taxa de fertilização e desenvolvimento embrionário.

**Palavras-chave:** Biotecnologia. Garanhão. Seleção espermática. Reprodução assistida.

**Agradecimentos:** Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo apoio financeiro à pesquisa (2024/03500-9).

## Éguas no pós-parto cíclicas e acíclicas utilizadas como receptoras de embrião - Relato de caso

Janaina Rodrigues Raiser (1), Anderson Dias de Campos Filho (2), Hortencia Campos Mazzo (1)

(1) Instituto Federal de Rondônia (IFRO), (2) Autônomo - Empresa AF Reprodução Equina

A transferência de embriões (TE) é uma biotecnologia reprodutiva utilizada na reprodução equina. As receptoras de embrião desempenham um papel imprescindível para o sucesso da TE, pois é através delas que o embrião se desenvolve. Contudo existe uma escassez desses animais na época de reprodução, visto que é necessário que possuam características como saúde, ciclicidade, aspecto do útero e, idealmente, que o número seja de ao menos três receptoras para cada doadora de embrião. Dessa forma, o presente relato tem por objetivo descrever a forma de utilização dessas éguas em pós-parto e relatar a efetividade da TE. No município de Nova União/RO, entre os meses de setembro de 2024 e março de 2025, oito éguas mestiças, idades variadas, foram utilizadas como receptoras de embrião em um tempo após o parto de 10 a 25 dias. As éguas eram híginas, de bom escore de condição corporal, criadas apenas a pasto, com histórico de gerarem somente os próprios potros. A escolha se deu devido à alta demanda de embriões e à escassez de receptoras aptas a TE neste período. Realizou-se avaliação ultrassonográfica dos ovários e do útero. Das oito éguas, quatro estavam ciclando, possuíam desenvolvimento dos folículos ovarianos, apresentação de cio e edema uterino. As mesmas foram induzidas à ovulação com administração de 3 ml de Sincrorrelin® entre o período de 11 a 12 dias de pós-parto. No sexto dia, optou-se por administrar 5 ml de P4-300® em duas dessas éguas, e no oitavo dia pós-ovulação o embrião foi transferido para as receptoras, sendo administrado mais 5 ml de P4-300® nas receptoras medicadas anteriormente. A respeito das outras quatro éguas acíclicas, administrou-se estradiol RIC-BE® com doses decrescentes a cada dia de 4, 3, 2 e 1 ml, com avaliação de edema uterino no sexto dia após a última aplicação. Por apresentarem edema uterino satisfatório, foram administrados 10 ml de P4-300® para recepção do embrião, que foi inoculado entre o quarto e oitavo dia pós-uso da progesterona. Destas oito éguas, duas não tiveram a implantação do embrião, sendo as mesmas nas quais não foi utilizada a progesterona. As outras seis tiveram a efetividade na TE e a continuidade da aplicação de P4-300® até os 120 dias de gestação. Até o momento, as éguas permanecem prenhas e saudáveis. O relato de caso em questão evidenciou a possibilidade do uso de éguas cíclicas e acíclicas no pós-parto e a relação entre o uso da P4 mesmo em animais ovulando para a efetividade da TE. Fazem-se necessários mais estudos visando investigar o melhor meio para o uso dessas.

**Palavras-chave:** Éguas. Receptoras. Pós-parto. Progesterona.



## Endometrial fibrosis in mares: gene expression of Angiopoietin 1 and TGF-beta

Luiz Augusto Machado Centeno (1), Verônica La Cruz Bueno (1), Janislene M Trentin (2), Eduarda Braz Paezano (1), Mariani Farias Fiorenza (3), Gustavo Henrique Zimmermann Winter (1), Sandra Mara da Encarnação Fiala (1), Rodrigo Costa Mattos (1), Mara Iolanda Batistella Rubin (1), Henrique Boll de Araujo Bastos (1)

(1) Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFGRS), (2) Universidade Federal do Paraná (UFPR), (5) Universidade Federal de Santa Maria (UFSM)

In mares, endometrial fibrosis occurs due to the abnormal deposition of collagen in the stroma and surrounding the endometrial glands. The pathogenesis of endometrial fibrosis remains unknown, but the perfusion disorders in the uterus likely contribute to the advancement of endometrosis. Angiopoietins (ANGPTs) are pivotal angiogenic factors known to play a crucial role in orchestrating vascular growth and development. This study evaluated the endometrial expression of ANGPT1 and transforming growth factor beta (TGF- $\beta$ ) in the endometrium of mares with different degrees of fibrosis. Cyclic mares ( $n = 34$ ) with a mean age of  $14 \pm 6.4$  years old were used. A uterine biopsy from each mare was obtained at diestrus (D5-D10). Mares were grouped according to the degree of uterine fibrosis described by Kenney (1978): Category I ( $n = 12$ ), Category II ( $n = 12$ ), and Category III ( $n = 10$ ). Endometrial samples were stored under refrigeration in RNeasy Lysis Buffer (Life Technologies) during transport to the laboratory, then stored at  $-80^\circ\text{C}$  until analysis. The tissues were used for quantitative polymerase chain reaction (qPCR) analysis. Amplification was performed at  $95^\circ\text{C}$  for 2 minutes, followed by 40 denaturation cycles at  $95^\circ\text{C}$  for 3 seconds, annealing at  $60^\circ\text{C}$  for 30 seconds, and elongation at  $60^\circ\text{C}$  for 30 seconds. Relative quantification was performed, and the mRNA levels of the target genes were normalized against  $\beta$ -Actin and GAPDH mRNA levels. Categories were considered independent factors, while transcript expression were considered dependent factors. Data were analyzed with Kruskal-Wallis test. Category I samples presented higher expression of ANGPT1 transcripts compared to Category III ( $p = 0.001$ ). Additionally, Category II exhibited significantly higher expression compared to Category III ( $p = 0.022$ ). However, TGF- $\beta$  did not show differences between groups. The higher expression of ANGPT1 in Category I mares compared to Category III, as well as the reduced gene expression in Category III relative to Category II, suggests that angiogenesis dynamics may play a crucial role in equine endometrial fibrosis. The correlation between the presence and severity of endometrosis and angiogenesis indicates a possible mutual influence between these processes. In conclusion, that capillary formation and angiogenesis could be impaired in the development of endometrosis. This study highlights the potential role of ANGPT1 in maintaining a healthy endometrium, while its lower expression may be associated with severe endometrial fibrosis.

**Keywords:** Endometrosis. Fibrosis. Angiogenesis.

## Endometrite persistente pós-cobertura predispõe a alterações hepáticas em equinos?

Thainara Rodrigues de Oliveira, Thais de Oliveira Cardoso Silva, Ana Luiza Carriel Griffó, Ellen Lara Miguel, Rubens Paes de Arruda, Eduardo Harry Birgel Junior, Daniela Becker Birgel, Eneiva Carla Carvalho Celeghini

Universidade de São Paulo (USP)

O fígado é um importante órgão para o metabolismo e a homeostase, impactando em todos os sistemas e responsável por parte das funções energética, hormonal e imunomoduladora. A endometrite persistente pós-cobertura (EPPC) pode afetar a higidez sistêmica e resultar em alteração da bioquímica hepática. Assim, o objetivo desse trabalho foi verificar se a EPPC nas fêmeas equinas pode resultar em alterações do perfil hepático pelo aumento de globulinas (GL), lactato (LAC), gama glutamil transferase (GGT), aspartato amino transferase (AST), fosfatase alcalina (FA) e creatina quinase (CK), como também redução de proteínas totais (PT), da albumina (ALB) e da relação albumina:globulina (A:G). Para isso, 51 ciclos estrais de 21 éguas foram acompanhados, por palpação e ultrassonografia, quanto ao desenvolvimento folicular e condições uterinas, sendo a ovulação induzida (folículo  $\geq 35$  mm e presença de edema endometrial) e a inseminação artificial (IA) realizada pós-ovulação com sêmen criopreservado. As éguas foram avaliadas quanto ao perfil hepático e à citologia endometrial em dois momentos: imediatamente antes (T0) e 48 horas após (T48) a IA. Para a avaliação bioquímica sérica (GL, LAC, GGT, AST, FA, CK, PT, ALB e A:G), o sangue foi colhido da veia jugular com sistema Vacutainer® em tubo seco, sendo centrifugado e o soro separado e armazenado congelado ( $-80^{\circ}\text{C}$ ) em triplicata. As éguas foram classificadas como positivas para EPPC quando apresentaram  $\geq 10\%$  de polimorfonucleares (PMN) na citologia endometrial no T48. As amostras séricas foram avaliadas com um analisador bioquímico automático (EXC 200), usando kits comerciais (K048; K010; K080; K084; K040; K031). Os dados do perfil hepático dos grupos negativo e positivo, em T0 e T48, foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ou Wilcoxon, e realizou-se teste de correlação de Spearman pelo software R v.4.2.2, sendo considerada diferença estatística quando  $p \leq 0,05$ . Não foram notados efeitos ( $p > 0,05$ ) do tempo (T0 e T48) dentro de cada grupo. Ademais, notou-se que no T48 o grupo positivo mostrou redução de ALB ( $2,78 \pm 0,40 \times 2,58 \pm 0,10$  g/dL,  $p = 0,01805$ ) e aumento de FA ( $171,10 \pm 25,40 \times 231,65 \pm 26,10$  U/L,  $p = 0,04979$ ) e lactato ( $12,00 \pm 4,40 \times 14,56 \pm 4,70$  mg/dL,  $p = 0,04148$ ) em relação ao negativo. No T0 houve redução ( $p = 0,0353$ ) de PT no grupo positivo ( $5,92 \pm 0,40$  g/dL) em relação ao negativo ( $6,21 \pm 0,40$  g/dL). Embora notadas diferenças entre os grupos, as médias estavam dentro dos valores de referência. Observou-se correlação entre AST x CK ( $r = 0,46$ ;  $p < 0,0001$ ), GGT x PT ( $r = -0,34$ ;  $p = 0,0100$ ), FA x GL ( $r = -0,33$ ;  $p = 0,0200$ ), FA x PT ( $r = -0,33$ ;  $p = 0,0200$ ), LAC x GL ( $r = 0,48$ ;  $p < 0,0001$ ), LAC x PT ( $r = 0,31$ ;  $p = 0,0400$ ), LAC x A:G ( $r = -0,54$ ;  $p < 0,0001$ ), ALB x PT ( $r = 0,60$ ;  $p < 0,0001$ ), GL x PT ( $r = 0,88$ ;  $p < 0,0001$ ), GL x A:G ( $r = -0,82$ ;  $p < 0,0001$ ) e PT x A:G ( $r = -0,54$ ;  $p < 0,0001$ ). Dessa forma, a EPPC não é suficiente

para ocasionar alterações hepáticas detectadas pelos marcadores, mas é possível que este processo cause alteração sistêmica no indivíduo.

**Palavras-chave:** Bioquímica sérica. Éguas. Inseminação artificial.

**Agradecimentos:** Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela bolsa de iniciação científica (Processo nº 2023/16198-6).

**Comissão de Ética:** CEUA/USP nº5705031022.

## Estabilidade de preparações antibióticas para infusão uterina em éguas

Mariana Polesso Mazzuchini (1), Igor Frederico Canisso (2)

(1) Universidade Estadual Paulista (Unesp), (2) Universidade de Illinois Urbana-Champaign

A endometrite infecciosa é a principal causa de subfertilidade em éguas. Existem diversos manuais e diretrizes para a administração de infusões intrauterinas de antibióticos e soluções que quebram biofilmes, detalhando várias concentrações, soluções veiculares e tampões. No entanto, a estabilidade dessas soluções não foi relatada. Na prática clínica, as soluções são preparadas com antecedência e armazenadas sob diferentes condições. Este estudo teve como objetivo examinar como a temperatura de armazenamento, a concentração, os tipos de tampões, as combinações de disruptores de biofilmes e os veículos afetaram a estabilidade dessas preparações antibióticas ao longo de 24 horas. No experimento 1, amicacina (1 e 2 g), ampicilina (1 e 2 g), ceftiofur (1 g), ciprofloxacino (1 g), gentamicina (1 g), penicilina G potássica ( $5 \times 10^6$  UI), penicilina G procaína ( $4,5 \times 10^6$ ) e ticarcilina-clavulanato (3,1 g) foram diluídas em solução salina e ringer lactato atingindo volume final de 60 ml e armazenadas a 5 °C, 21 °C e 37 °C por 24 horas em ambientes controlados (i.e., refrigerador, caixa isotérmica com temperatura controlada e estufa). As soluções foram avaliadas quanto ao pH, utilizando-se um pHmetro (LAQUAtwin pH-22, HORIBA Advanced Techno Co.), e quanto às características físicas nos tempos iniciais 1, 3, 6 e 24 horas após o armazenamento. No experimento 2, o pH de doses de 1 g e 2 g de amicacina, ampicilina e gentamicina foram comparados, avaliando o mesmo volume com diferentes concentrações e sua estabilidade ao longo de 24 horas. O experimento 3 envolveu quelantes de biofilme (i.e., Tris-EDTA, peróxido de hidrogênio e dimetilsulfóxido) misturados com soluções de antibióticos para avaliar a interação medicamentosa. O experimento 4 comparou a estabilidade de cada antibiótico diluído em solução salina e solução de ringer lactato. A análise estatística foi realizada utilizando o GraphPad Prism 9.3.0, com significância definida em  $p < 0,05$ . Soluções contendo aminoglicosídeos, como a amicacina e gentamicina 1 e 2 g, demonstraram aumento no pH ao longo do tempo (respectivamente:  $6,9 \pm 0,3$ ;  $6,6 \pm 0,3$ ;  $6,8 \pm 0,5$ ;  $6,5 \pm 0,11$ ;  $p < 0,05$ ). Por outro lado, outros antibióticos apresentaram diminuição no pH, especialmente em temperaturas mais altas, sendo a penicilina G potássica a redução mais expressiva ( $6,4 \pm 1,3$ ,  $p < 0,05$ ). A estabilidade das soluções antibióticas para infusões uterinas em éguas é bastante afetada pelas condições de armazenamento e pelas variações de pH, o que pode reduzir sua eficácia. Concluiu-se que as infusões uterinas são influenciadas por diversas condições de armazenamento e veículos. Assim, este estudo pode ser utilizado como um guia quanto à duração do armazenamento para antibióticos comuns usados na reprodução de éguas.

**Palavras-chave:** Endometrite. Resistência antimicrobiana. Biofilme. Subfertilidade.

**Agradecimentos:** Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

## Fatores que influenciam as taxas de prenhez e perda embrionária em éguas receptoras cíclicas e acíclicas

Fernanda Saules Ignácio, Leticia Sayuri Setoguchi, Bruna Merci de Zutter, Lucas Gualberto Faria, Renan Denadai, Flávia Santana Bassetti, Orpheu de Souza Ávila Junior

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Diversos são os fatores que podem interferir nas taxas de sucesso em um programa de transferência de embrião em equinos, como aqueles ligados ao embrião, ao sêmen e à escolha da receptora, sendo este considerado determinante. O comportamento sazonal reprodutivo de éguas e diferenças de manejo entre doadoras e receptoras limitam o número de receptoras cíclicas disponíveis, e o uso de receptoras acíclicas preparadas hormonalmente com aplicações de estrógeno seguido de progesterona é uma alternativa. Demonstrou-se que a maior exposição (em dias) uterina ao estrógeno aumenta a expressão de uterocalina (P19), proteína responsável pela nutrição do embrião em fase inicial da gestação, e que éguas cíclicas com maior número de dias de cio apresentam maior taxa de prenhez, mas não há dados sobre taxas de prenhez em éguas acíclicas preparadas com diferentes dias de exposição ao estrógeno. Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a exposição ao estrógeno na preparação de receptoras acíclicas, o dia do ciclo (D0 = dia da ovulação ou primeiro dia da aplicação da progesterona) da receptora no momento da inovulação, a classificação embrionária e o processamento do sêmen sobre as taxas de prenhez e perda embrionária para receptoras cíclicas e acíclicas. O estudo retrospectivo utilizou dados de prenhez e perda embrionária de 263 éguas receptoras, sendo 99 cíclicas e 164 acíclicas (anestro ou transição), durante duas estações de monta consecutivas. Entre as acíclicas, 57 éguas foram divididas conforme o tempo de exposição ao estrógeno (estro curto:  $\leq 3$  dias; estro longo:  $\geq 4$  dias) e conforme a dose total administrada (25-40 mg; 50-75 mg; 80-90 mg). Para as variáveis classificação embrionária, processamento de sêmen e dia do ciclo, foram considerados os dados de receptoras cíclicas e acíclicas. O teste de qui-quadrado foi empregado para investigar associações entre categorias, com correção de Bonferroni para ajuste do nível de significância em comparações múltiplas ( $p < 0,05$ ). Éguas acíclicas preparadas hormonalmente e expostas  $\geq 4$  dias ao estrógeno apresentaram maiores taxas de prenhez (87,2%) do que aquelas expostas a  $\leq 3$  dias (60%;  $p < 0,05$ ). As receptoras (cíclicas e acíclicas) em D5 apresentaram maior taxa de prenhez (85,7%) em relação às receptoras em D7 (58,6%), mas não diferiram de D4 e D6. Embriões obtidos de doadoras inseminadas com sêmen fresco ou refrigerado tiveram maior taxa de prenhez (81,7%) do que aqueles obtidos de inseminações com sêmen congelado (68,2%;  $p < 0,05$ ). Embriões produzidos *in vitro* desvitrificados apresentaram maior taxa de prenhez (90,9%) do que embriões bons (42,9%) e regulares (0%;  $p < 0,05$ ) produzidos *in vivo*, mas não diferiram dos embriões excelentes (79,4%). Não houve diferença nas taxas de prenhez em relação ao estágio de desenvolvimento embrionário. Conclui-se que fatores como dia da inovulação, tempo de exposição ao estrógeno e processamento seminal afetam as taxas de prenhez. Nenhum dos fatores avaliados influenciou a perda embrionária.

**Palavras-chave:** Transferência de embrião. Receptora. Fertilidade.

## Identificação HSP-1 no plasma seminal equino

Manuela Tondin (1), Bruna Santos Soares (1), Verônica La Cruz Bueno (1), Henrique Boll de Araujo Bastos (1), Humberto Josué Ramos (2), Edvaldo Barros (2), Pedro Marcus Pereira Vidigal (2), Rodrigo Costa Mattos (1), Sandra Mara E. Fiala (1)

(1) Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), (2) Universidade Federal de Viçosa (UFV)

As proteínas do plasma seminal exercem funções essenciais na fisiologia reprodutiva dos equinos, entre elas a regulação da capacitação espermática. A proteína seminal equina 1 (HSP-1), expressada na ampola do ducto deferente do garanhão, pertence à família das Fn-2 e representa cerca de 70 a 80% das proteínas do plasma seminal equino, interagindo com elementos celulares fundamentais para o processo de fertilização. Este estudo investigou a presença de HSP-1 no plasma seminal de garanhões. Foram utilizados 24 garanhões da raça Crioula, com histórico reprodutivo conhecido e taxa de concepção por ciclo calculada a partir de, no mínimo, 30 inseminações. Coletou-se um ejaculado de cada garanhão durante a estação reprodutiva. As taxas de prenhez no dia 16 após a inseminação artificial variaram de 20,2 a 95,6%. Os animais foram divididos em dois grupos com base na taxa de prenhez por ciclo: alta prenhez (AP  $\geq 60\%$ ) e baixa prenhez (BP  $\leq 40\%$ ). Aqueles com taxas intermediárias foram excluídos para evitar sobreposição dos dados e garantir distinção clara entre os grupos. As amostras foram analisadas quanto à concentração, cinética e morfologia espermática, além de integridade e funcionalidade da membrana plasmática. O plasma seminal foi obtido por dupla centrifugação ( $400 \times g/10 \text{ min}$  e  $10.000 \times g/60 \text{ min}$  a  $4^\circ\text{C}$ ) e submetido à eletroforese em gel bidimensional (2D SDS-PAGE), em duplicata. Selecionou-se e identificou-se uma proteína correspondente a um *spot* presente em pelo menos 80% dos géis de um dos grupos, com abundância significativamente diferente ( $p < 0,05$ ) e com *fold* de 1,5. O *spot* foi analisado no espectrômetro de massas LC-MS/MS, em cada amostra, e teve sua proteína identificada pelo software MASCOT e validada pelo software SCAFFOLD. O *spot* identificado foi a proteína HSP-1. Para a análise estatística, utilizou-se a correlação de Pearson com nível de significância de  $p < 0,05$ . Apesar de sua elevada abundância no plasma seminal equino, a proteína HSP-1 não apresentou correlação com a idade dos animais e com parâmetros seminais clássicos, como motilidade, morfologia e porcentagem de espermatozoides imóveis. Da mesma forma, não foram observadas correlações com a integridade física ( $p = 0,852$ ) e funcional ( $p = 0,575$ ) da membrana plasmática. A HSP-1 apresenta homologia funcional com a proteína bovina PDC-109, que atua na modulação da membrana espermática, promovendo a remoção de colesterol e aumentando sua permeabilidade, podendo, em concentrações elevadas, comprometer a estabilidade celular. No presente estudo, a expressão da HSP-1 foi maior no grupo BP em comparação com o grupo AP, sugerindo que sua maior abundância pode estar associada a alterações negativas na funcionalidade espermática ( $p < 0,05$ ). Assim, a HSP-1 desponta como um potencial biomarcador molecular de infertilidade em garanhões, embora sejam necessários estudos adicionais para elucidar seus mecanismos de ação e sua aplicabilidade prática na reprodução equina.

**Palavras-chave:** Fertilidade. Proteômica. HSP-1. Garanhão.  
**Comissão de Ética:** CEUA/UFRGS nº 38666.



## **Influência da idade ao parto de éguas da raça Crioula na produção de animais premiados no Freio de Ouro**

Ana Paula da Costa Rodrigues, Maria Lina Pinto Rodrigues Andreazza, Breno Antonio Müller, Miguel Ravalha Cortelini, Marcos da Silva Azevedo

Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA)

O Freio de Ouro (FO) é uma das competições mais importantes do cenário equestre brasileiro, destacando-se como um evento fundamental para a seleção da raça Crioula bem como para sua valorização. Em outras raças, como a Puro Sangue de Corrida (PSC), sabe-se que a égua atinge seu pico de eficiência na produção de descendentes premiados aos nove anos, porém, à medida que a idade delas aumenta, a performance dos produtos é afetada de forma negativa. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar como a idade das éguas influenciou a produção dos animais premiados no FO. Os dados de idade de parição de 195 éguas mães de animais premiados no FO (entre 1982 e 2024) foram compilados e alocados em faixas etárias com intervalos de um ano (iniciando aos 2 e finalizando aos 24 anos) e posteriormente os animais foram classificados em grupos conforme a premiação: Geral (todos os premiados), Ouro, Prata, Bronze e Alpaca. Os resultados mostraram que em quase todos os grupos, mais da metade dos animais premiados nasceram até os nove anos de idade das mães (Geral: 54,9%; Ouro: 61,1%; Bronze: 53,8%; Alpaca: 54,6%), apenas Prata (48,3%) ficando abaixo. Os intervalos de idade com maior percentual dentro dos grupos foram: Geral (5-6 e 6-7, ambos com 11,3%), Ouro (7-8, com 15,3%), Prata (5-6 e 9-10, ambos com 13,8%), Bronze (6-7, com 16,7%) e Alpaca (7-8, com 27,3%). A idade mais longa de parição de um animal premiado foi dos 23-24 anos (Geral), 21-22 (Ouro), 23-24 (Prata), 19-20 (Bronze) e 12-13 (Alpaca). Com base nos resultados do presente estudo, pode-se observar que o período entre 4-9 anos de idade parece ser considerado, também em éguas Crioulas, o de maior eficiência reprodutiva em termos de produção de animais premiados, haja vista que 50,8% dos animais premiados nasceram nesse período. Em um estudo com cavalos PSC, observou-se que éguas, a partir dos 4 anos de idade, produziram potros de melhor desempenho até os 9 anos, seguido por um declínio na performance de seus produtos a partir de então. Esse intervalo de idade está intimamente ligado à maturidade sexual dos equinos, momento em que eles alcançam condições ideais para a reprodução, tanto físicas quanto comportamentais. A influência da idade materna no desempenho da prole pode ser explicada por alguns fatores, como circulação sanguínea uterina, desenvolvimento fetal, peso do potro ao nascer e perdas durante o processo de criação. A transferência de embriões é uma técnica que possibilita minimizar o impacto negativo da idade sobre a eficiência reprodutiva e performance da prole, já que permite o uso de receptoras jovens (< 10 anos), com melhor saúde uterina e habilidade materna. Assim, éguas velhas e éguas em campanha, com alto potencial zootécnico e de mercado, podem ser utilizadas para difusão de genética e ganho econômico. Conclui-se que a idade das éguas Crioulas ao parto teve uma influência importante na performance de seus filhos, com mães entre 4-8 anos produzindo metade dos animais premiados no FO.

**Palavras-chave:** Equino. Parto. Reprodução.

**Agradecimentos:** Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

## Influência da idade e sazonalidade na largura testicular de garanhões Crioulos no sul do Brasil

Andre Machado da Silva Junior (1), Carlos Eduardo Wayne Nogueira (2), Tatiane Leite Almeida (1), Isadora Paz Oliveira dos Santos (1), Uélliton Gomes de Macedo (3), Felipe Pires Hartwig (4), Bruna da Rosa Curcio (1)

(1) Universidade Federal de Pelotas (UFPel), (2) Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), (3) Universidade de Caxias do Sul (UCS)

A produção de espermatozoides está relacionada ao tamanho testicular funcional nos machos equinos. O crescimento e desenvolvimento testicular iniciam-se aproximadamente aos 12 meses de idade, no período da puberdade, onde também começa a produção de espermatozoides; entretanto, o desenvolvimento testicular continua e ultrapassa esse período. Dessa forma, os garanhões atingem a maturidade testicular aproximadamente aos 5 anos, porém o tamanho testicular pode sofrer alterações após esse período. Principalmente em garanhões com idade avançada, pode ocorrer uma diminuição na massa do tecido testicular, chamada degeneração idiopática ou senil, causando também uma diminuição na capacidade reprodutiva. Além disso, apesar da atividade reprodutiva dos machos não cessar com as variações do fotoperíodo, parâmetros como tamanho testicular e produção espermática podem sofrer alterações em decorrência da sazonalidade, sendo crucial considerar a localização geográfica dos animais. O presente estudo, portanto, teve como objetivo avaliar a influência da idade e sazonalidade sobre a largura testicular total em garanhões na região sul do Rio Grande do Sul. Durante o período de um ano, foram mensuradas as larguras testiculares de 23 garanhões da raça Crioula, separados em dois grupos por idade (maduros: 5 a 14 anos; idosos: 15 a 23 anos), avaliando os períodos da estação reprodutiva (setembro - fevereiro) e fora da estação (março - agosto), totalizando 169 observações. Os garanhões avaliados estavam alojados em uma central de reprodução comercial na cidade de Pelotas. As larguras testiculares foram mensuradas por ultrassonografia. A largura individual de cada testículo foi mensurada e utilizou-se a fórmula  $1,74 + 0,696 (LTE + LTD)$  previamente descrita para obter a largura testicular total de cada animal. Para avaliar a influência da idade e sazonalidade sobre a largura testicular total, realizou-se a análise de variância (ANOVA) e aplicou-se o teste de Tukey para comparar as médias dos diferentes grupos de idade. A largura testicular foi superior no grupo dos garanhões idosos ( $9,17 \pm 1,2$  cm) em comparação com os maduros ( $8,8 \pm 1,1$  cm) ( $p < 0,05$ ). Contudo, ao avaliar as quatro estações, assim como nos períodos da estação reprodutiva quanto fora da estação, a sazonalidade não influenciou a largura testicular total dos garanhões em nenhum momento. Esse estudo buscou verificar a influência da idade e sazonalidade sobre a largura testicular total ao longo das quatro estações do ano em garanhões Crioulos. Os resultados deste estudo indicam que a idade influenciou a largura testicular total dos garanhões, sendo os animais idosos os que apresentaram valores superiores aos maduros. Esse achado sugere que não houve redução do tamanho testicular

em equinos de idade avançada. Além disso, as variações no fotoperíodo ao longo do ano não exerceram influência sobre a largura testicular dos garanhões.

**Palavras-chave:** Largura testicular. Ultrassonografia. Idade. Sazonalidade.

**Agradecimentos:** Associação Brasileira de Criadores de Cavalos Crioulos (ABCCC), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS).

**Comissão de Ética:** CEUA/UFPel nº 23110.006744/2022-18.

## Influência da idade nas características seminais de garanhões da raça Crioula

Tatiane Leite Almeida (1), Bruna da Rosa Curcio (1), Isadora Paz Oliveira dos Santos (1), Carlos Eduardo Wayne Nogueira (1), Micael Feliciano Machado Lopes (1), Felipe Pires Hartwig (1), Uélliton Gomes de Macedo (2), Andre Machado da Silva Junior (1), Thaís Feijó Gomes (1), Giovana Mancilla Pivato (3), Paloma Beatriz Joanol Dallmann (1), Gabriela Camillo (1), Eliza Moreira Piemolini (1), Marcos Eduardo Neto (1)

(1) Universidade Federal de Pelotas (UFPel), (2) Universidade de Caxias do Sul (UCS), (3) Universidade Estadual Paulista (Unesp)

A idade é um fator determinante na vida reprodutiva de um garanhão, influenciando diretamente a qualidade do sêmen e, conseqüentemente, sua fertilidade. Este estudo foi baseado em dados retrospectivos de sete temporadas reprodutivas (2015/2016 a 2021/2022) em uma central de reprodução equina localizada em Pelotas, RS (31°46'34"S, 52°21'34"O). Foram analisados 2.390 ejaculados de 104 garanhões Crioulos, com idade entre 2 e 25 anos. Os animais estavam em sistema semi-intensivo, recebendo ração comercial peletizada, volumoso e água *ad libitum*. Foram avaliadas as variáveis concentração total de espermatozoides, concentração de espermatozoides móveis, motilidade, vigor espermático e volume ejaculado. Os garanhões foram divididos em três grupos: jovens (2-4 anos, n = 32), maduros (5-14 anos, n = 56) e idosos (15-25 anos, n = 16). Para a análise estatística, foram aplicados os testes de Shapiro-Wilk, ANOVA com teste de Tukey HSD, correlação de Pearson e regressão polinomial. Quando necessário, utilizou-se a análise não paramétrica de Kruskal-Wallis. Observou-se que a idade dos garanhões influenciou significativamente o total de espermatozoides por ejaculado e o total de espermatozoides móveis. Os garanhões jovens apresentaram maior concentração espermática por ml, enquanto os maduros tiveram os maiores valores absolutos de espermatozoides totais e móveis. Quando avaliadas as correlações dentro de cada grupo de idade, observou-se fraca correlação positiva entre idade e concentração espermática ( $r^2 = -0,031$ ;  $p < 0,001$ ) e total de espermatozoides móveis ( $r^2 = -0,033$ ;  $p < 0,001$ ) nos jovens. Fraca correlação entre idade e total de espermatozoides ( $r^2 = 0,004$ ;  $p < 0,050$ ), volume ( $r^2 = 0,082$ ;  $p < 0,050$ ) e concentração espermática ( $r^2 = -0,008$ ;  $p < 0,050$ ) nos maduros. Fraca correlação negativa entre idade e total de espermatozoides ( $r^2 = -0,031$ ;  $p < 0,050$ ) e concentração espermática ( $r^2 = -0,061$ ;  $p < 0,050$ ) nos idosos. Os resultados indicam que a idade impacta a produção espermática, sendo os garanhões maduros os mais produtivos. A individualidade dos garanhões também influenciou significativamente a qualidade seminal, possivelmente devido a fatores genéticos, manejo e estado de saúde. Embora os garanhões jovens apresentem maior concentração espermática, os maduros produzem maior quantidade total de espermatozoides móveis, favorecendo a fertilidade. Nos garanhões idosos, a idade exerce um impacto negativo sobre a produção espermática, reduzindo o número total de espermatozoides e sua viabilidade. Esses achados reforçam a

importância do manejo reprodutivo adequado para maximizar a eficiência reprodutiva dos garanhões ao longo de suas vidas.

**Palavras-chave:** Desempenho reprodutivo. Biotecnologia. Idade. Fertilidade.

**Agradecimentos:** Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS).

**Comissão de Ética:** CEUA/UFPeI nº 23110.006744/2022-18.

## **Influência da ordem de parição em animais da raça Crioula premiados no Freio de Ouro**

Maria Lina Pinto Rodrigues Andreazza, Breno Antonio Müller, Ana Paula da Costa Rodrigues, Luíza Gonçalves Martini, Maiara Prestes Soares, Miguel Ravalha Cortelini, Marcos da Silva Azevedo

Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA)

O Freio de Ouro é uma das três provas de seleção da Associação Brasileira de Criadores de Cavalos Crioulos (ABCCC), sendo considerada por muitos como a mais importante ferramenta de seleção, promovendo maior visibilidade e movimento na economia. Realizada anualmente, a final do Freio de Ouro é composta por uma etapa morfológica e oito funcionais. Diante disso, a busca por animais que consigam expressar de forma máxima suas características genéticas através da performance é uma necessidade de mercado. As condições do ambiente uterino desempenham um papel fundamental no crescimento e desenvolvimento dos potros, com impacto ao longo de suas carreiras atléticas. Fatores como nutrição, idade da égua e número de partos anteriores afetam a estrutura placentária e o tamanho do potro ao nascer. Por isso, estudos que avaliem a influência das variáveis maternas no desenvolvimento e performance desses indivíduos se fazem de suma importância. Diante da relevância do Freio de Ouro para a raça Crioula, realizou-se esse estudo avaliando como a ordem de parição influenciou a produção de animais premiados. O estudo analisou dados de 195 éguas produtoras de animais premiados no Freio de Ouro, entre os anos de 1982 e 2024. Esses dados foram organizados conforme a ordem de parição dos animais premiados (1º parto, 2º, etc.) e posteriormente divididos em grupos conforme a premiação: Geral (todos os premiados), Ouro, Prata, Bronze e Alpaca. Os resultados mostraram que mais da metade dos animais premiados no Geral (59%) nasceram até o terceiro parto, com 26,7% nascendo no primeiro, 16,9% no segundo e 15,4% no terceiro. Houve uma tendência de diminuição na produção de animais premiados à medida que aumentava o número de partos, tendo somente uma égua produzido um animal premiado (Ouro) no 13º parto. Identificou a mesma tendência no demais grupos, com mais da metade dos animais premiados sendo produzidos até o terceiro parto (Alpaca: 72,8%; Bronze: 64,8%; Ouro: 58,4%; Prata: 51,7%). Um estudo com cavalos Puro Sangue de Corrida demonstrou uma curva um pouco diferente em relação à performance dos produtos, havendo aumento gradual a partir do primeiro parto até atingir um pico em torno do quarto parto, seguido por um declínio consistente na performance dos produtos até >14º parto. Diante disso, dados apontam que éguas nos primeiros partos podem ter mais chances de desenvolver potros mais saudáveis e com maior potencial atlético. Acredita-se que isto esteja relacionado à proteção intrauterina, nutrição durante a gestação, tamanho do útero, capacidade de amamentação e instinto materno. É importante salientar que muitos fatores externos estão envolvidos, desde o nascimento até a competição, como nutrição, manejo e treinamento, que podem afetar negativamente esses valores. Conclui-

se que éguas da raça Crioula têm uma chance maior (aproximadamente 60%) de produzir animais premiados no Freio de Ouro até seu terceiro parto.

**Palavras-chave:** Desenvolvimento gestacional. Performance. Potros.

**Agradecimentos:** Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.



## Influência da origem celular nos parâmetros perinatais e de sobrevivência de potros clonados

Bianca de Fátima Dallo (1), Flávia Moreira (1), Giovanna Helena da Silva Thier (1), Talita Vitória Oliveira Fabossa (1), Isadora Paz Oliveira dos Santos (1), Luiza Gheno (1), Maria Fernanda Ortiz de Elguea (1), Carlos Eduardo Wayne Nogueira (2), Bruna da Rosa Curcio (1)

(1) Universidade Federal de Pelotas (UFPe), (3) Universidade Federal de Santa Maria (UFSM)

A clonagem equina visa replicar geneticamente animais de alto valor, utilizando células somáticas, como fibroblastos (FB) e células-tronco mesenquimais (MSQ). Apesar de ser uma das biotecnologias mais promissoras, ainda apresenta falhas, especialmente na viabilidade neonatal. Pesquisas apontam que a origem celular pode influenciar esses resultados, no entanto, essa influência ainda é pouco elucidada. Dessa forma, o objetivo desse estudo foi comparar parâmetros perinatais e sobrevivência de 29 potros clonados, sendo 14 derivados de FB e 15 de MSQ, nascidos em 2023 no Hospital Equino Kawell, Argentina. Amostras sanguíneas e placentas foram coletadas até três horas após o nascimento. Foram avaliados e comparados parâmetros hematológicos e bioquímicos, peso ao nascer (kg), peso da placenta (kg), relação entre o peso do potro: peso da placenta, proporção de machos e fêmeas e taxa de mortalidade. A comparação entre grupos foi realizada por qui-quadrado para variáveis categóricas e teste T para variáveis quantitativas pelo software Statistix 10.0. As diferenças nos valores médios foram consideradas significativas quando  $p < 0,05$ , superiores a 100 mg/dL ( $181 \pm 168,2$  mg/dL vs  $81,3 \pm 111,24$  mg/dL: MSQ), indicando comprometimento metabólico. Ambos os grupos mostraram níveis de creatinina elevados (FB:  $3,57 \pm 2,17$  mg/dL; MSQ:  $2,33 \pm 1,12$  mg/dL), indicando comprometimento da função placentária. Houve predominância de fêmeas em ambos os grupos (FB: 13 fêmeas e 1 macho; MSQ: 15 fêmeas). Os resultados corroboram estudos anteriores que associam a origem celular aos desfechos neonatais em clones equinos, sugerindo que as células mesenquimais, por suas características de maior plasticidade e potencial regenerativo, proporcionam melhor reprogramação nuclear e consequentemente melhores resultados perinatais. Conclui-se que potros clonados a partir de MSQ tiveram menor taxa de mortalidade e menor relação pesos de placenta e potros em comparação com aqueles clonados a partir de FB.

**Palavras-chave:** Clonagem equina. Marcadores perinatais. Viabilidade neonatal.

**Agradecimentos:** Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS) e Hospital Equino Kawell.

**Comissão de Ética:** CEUA/UFPe nº 8245-2020.

## Influência de diferentes crioprotetores e suas associações sobre os índices de congelabilidade do sêmen de garanhões

Luiza Padovani Zanlorenzi-Silva (1), Camila Moreira Trinque (1), Mariana Silva Frasson (1), Vinicius G. de Araújo (1), Amanda Carvalho Silva (1), Beatriz Lippe de Camillo (1), Lucas Troncarelli Rodrigues (1), Thaís Mendes Sanches Cavaleiro (1), Bruna Merci de Zutter (1), Leonardo de Mendonça Siqueira (2), Marina Lucena Fredou (1), Camila Freitas Dell Aqua (1), Gabriel Augusto Monteiro (1), Frederico Ozanan Papa (1)

(1) Universidade Estadual Paulista (Unesp), (2) Universidade de São Paulo (USP)

O uso de sêmen congelado de garanhões é uma ferramenta importante para a troca global de material genético, facilitando o transporte e ampliando a acessibilidade a reprodutores. Contudo a criopreservação do sêmen apresenta desafios, especialmente em garanhões com baixa capacidade de congelamento, sendo a principal dificuldade a minimização dos efeitos tóxicos e osmóticos durante o processo. O objetivo deste estudo foi avaliar novos crioprotetores e suas combinações para melhorar a viabilidade da criopreservação em garanhões com baixa capacidade de congelamento. Para tanto, foram utilizados três ejaculados de quatro garanhões. As amostras foram mensuradas quanto ao volume, concentração espermática e motilidade por meio da cinética (CASA). Em seguida, os ejaculados foram diluídos com o diluente Botu-Sêmen Gold® e centrifugados. Os *pellets* resultantes foram ressuspensos em diluentes à base de gema de ovo contendo diferentes combinações de crioprotetores: etilenoglicol + metilformamida (EGMF), etilenoglicol + dimetilformamida (EGDF), etilenoglicol + dimetilacetamida (EGDA), propilenoglicol + metilformamida (PROPMF) e glicerol + metilformamida (GMF), nas proporções de 1% de etilenoglicol e 4% do segundo crioprotetor de cada combinação. Esses tratamentos foram comparados a um diluente comercial de referência (BotuCrio®), utilizado como controle. As amostras foram envasadas em palhetas de 0,5 ml, submetidas ao processo de criopreservação e, posteriormente, descongeladas para avaliação da motilidade espermática e integridade da membrana citoplasmática pela epifluorescência. Os resultados indicaram que não houve diferenças estatísticas significativas quanto à motilidade total e espermatozoides rápidos entre os diferentes crioprotetores testados e o controle (BotuCrio®). No entanto, quando comparados quanto à motilidade progressiva, o EGMF (41,63a) foi semelhante ao BC (39,33abc) e EGDF (37,04abc) e superior aos demais grupos (PROPMF: 39,71b; GMF: 39,79bc; EGDA: 34,71c). Além disso, quanto ao teste de integridade de membrana, o grupo BC (52a) é superior ao EGDA (43b) e semelhante aos demais. Esses achados são consistentes com os observados por Medeiros (2003), que relatou melhores desempenhos dos crioprotetores metilformamida e dimetilformamida em comparação com o glicerol, embora sem testar as combinações de crioprotetores realizados neste experimento. Baseado nos resultados observados, pode-se afirmar que o grupo EGMF apresentou melhor desempenho em motilidade progressiva. Com relação

à integridade da membrana citoplasmática, o grupo controle BC apresentou resultados semelhantes aos demais grupos testados, com exceção do grupo EGDA, evidenciando que testes de fertilidade devem ser realizados para que se confirme a hipótese de que alguma dessas associações de crioprotetores possam resultar em taxas de fertilidade semelhantes, ou até mesmo superiores, ao diluente Botucrio, que é utilizado em nível mundial e com resultados de fertilidade já comprovados. A continuidade de estudos nesta área é fundamental para o aprimoramento das técnicas de criopreservação, contribuindo para a melhoria das práticas reprodutivas em equinos.

**Palavras-chave:** Sêmen. Equino. Crioprotetores. Congelação. Garanhões.

**Agradecimentos:** Botupharma e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP 2022/09223-1).

## Lipidomic profile of equine seminal plasma

Natalia Martins Bustamante Sa (1), Verônica La Cruz Bueno (1), Adriana Pires Neves (2), Henrique Boll de Araujo Bastos (1), Sandra Mara da Encarnação Fiala (1)

(1) Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), (3) Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA)

Stallions' infertility represents a serious concern in equine reproduction. Traditional semen analysis alone may not provide a sufficient data to diagnose male infertility. Advances in omics technologies represents a valuable tool for the diagnostic of different diseases and disorders. Seminal plasma (SP) is rich in different components, playing an essential role in reproduction. Among these components, lipids participate in important cells events, where most of these molecules found in seminal plasma are phospholipids, stabilizing sperm membrane against osmotic shock. The present study aimed to investigate the lipidomics of stallion SP. Twenty-four Criollo stallions with a known reproductive history and  $\geq 30$  inseminated mares were once collected during the breeding season. Pregnancy rates (day 16 after artificial insemination) ranged from 20.2 to 95.6%. Two groups were formed: high pregnancy (HP; pregnancy rate per cycle  $\geq 60\%$ ), and low pregnancy (LP; pregnancy rate of  $\leq 40\%$ ). Microscopic semen analysis was performed using a computer-assisted sperm analysis system. Ultra-performance liquid chromatography coupled to a mass spectrometer was performed in all samples followed by lipid molecules identification, using Data Analysis 4.2 software (Bruker Daltonics, Germany). Statistical analysis data were analyzed using parametric methods one-way ANOVA followed by Turkey's t-test, and variables that did not follow a normal distribution were evaluated using the non-parametric Mann Whitney test. Differences with  $p \leq 0.05$  were considered significant. Some of the molecules identified were DG (18:0\_20:0), PC (2:0/0:0) and Cer (d18:2/18:2), those belonging to different categories, such as Glycerolipids, Glycerophospholipids and Sphingolipids. Some lipids analyzed in this study showed variations between the two groups, especially Ceramide Cer (d18:2/18:2) ( $p = 0.007$ ), with higher abundance in LP group than HP group. Ceramide is a multitasking lipid that induces physiological ultra-structural changes in the acrosome and triggers an exocytosis-signaling cascade, affecting the integrity of the spermatozoa, playing a central role in fertilization. In conclusion, our data suggest that SP lipids molecules play critical roles in sperm function and they have a potential to become biomarkers for diagnosis and interventions to overcome stallions infertility.

**Keywords:** Stallion infertility. Seminal plasma. Lipidomics. Biomarkers. Ceramides.

## Luteinizing hormone receptors and IL-10 in the endometrium of mares with different degrees of fibrosis

Luiz Augusto Machado Centeno (1), Isabele Colla Lazzari Royes (1), Verônica La Cruz Bueno (1), Janislene M Trentin (2), Thomas Baumbach Gomes (1), Mariani Farias Fiorenza (3), Welden Panziera (1), Gustavo Henrique Zimmermann Winter (1), Sandra Mara da Encarnação Fiala (1), Rodrigo Costa Mattos (1), Mara Iolanda Batistella Rubin (1), Henrique Boll de Araujo Bastos (1)

(1) Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), (2) Universidade Federal do Paraná (UFPR), (3) Universidade Federal de Santa Maria (UFSM)

Endometrial fibrosis in mares is a determining factor for reproductive performance. Although the exact pathogenesis of endometrial fibrosis remains unclear, studies indicate that fibrotic tissue remodeling occurs through the action of multiple cytokines and chemokines. Luteinizing hormone receptors (LHR) may be present in extragonadal tissue, particularly in the female reproductive tract. This study aimed to evaluate the gene expression of LHR and interleukin-10 (IL-10) in the endometrium of mares with different degrees of fibrosis. Thirty-four cyclic mares ( $14 \pm 6.4$  years old) underwent uterine biopsy during diestrus (D5-D10). Endometrial samples were classified according to the uterine fibrosis grading system (Kenney, 1978): Category I ( $n = 12$ ), Category II ( $n = 12$ ), and Category III ( $n = 10$ ). Samples were stored in RNeasy<sup>®</sup>, transported under refrigeration, and then frozen at  $-80^{\circ}\text{C}$ . Gene expression of LHR and IL-10 was analyzed by qPCR. Relative quantification was performed, and the mRNA levels of the target genes were normalized against  $\beta$ -Actin mRNA levels. Data were analyzed with Kruskal-Wallis test. The results demonstrated higher LHR gene expression in Category II compared to Category III, with no significant difference observed in Category I. The same results were founded in gene expression of IL-10, with a higher expression in the Category II than Category III and no significant difference was found for Category I. Previous studies have confirmed the presence of LHR in non-gonadal tissues of the reproductive tract. The findings of this study demonstrated that LHR may be involved in severe endometrial fibrosis, with difference of gene expression between categories, but the precise role for this receptor in the reproductive tract still needs further investigation. The IL-10 is an anti-inflammatory cytokine and its lower expression in Category III may be due to a reduced capacity to control uterine inflammation in this group. The differences in gene expression of LHR and IL-10 across the samples could indicate that these factors may be involved in the endometrial fibrosis in mares. In conclusion, the lower expression levels of both LHR and IL-10 in category III suggest their potential role in the pathophysiology of equine endometrial fibrosis. The findings of this study reinforce the association between these molecular changes and the fibrotic condition, contributing to a better understanding of its underlying mechanisms.

**Keywords:** Fibrosis. LHR, IL-10. Mares.

## Mensuração da junção uteroplacentária como estimativa da idade gestacional de éguas Crioulas através de uma função cúbica

Clarissa Fernandes Fonseca (1), Isadora Paz Oliveira dos Santos (1), Luiza Gheno (1), Aline de Souza Muniz (1), Regis Sperotto de Quadros (1), Tatiane Leite Almeida (1), Carlos Eduardo Wayne Nogueira (2), Bruna da Rosa Curcio (1)

(1) Universidade Federal de Pelotas (UFPel), (2) Universidade Federal de Santa Maria (UFSM)

A avaliação da junção uteroplacentária (JUP) permite o diagnóstico de alterações gestacionais. A realização das medidas da JUP mensura objetivamente alterações significativas entre avaliações, permite acompanhamento obstétrico mais detalhado e ainda estima a idade gestacional, sendo uma medida rápida e prática para ser realizada na rotina de campo. Métodos que permitem identificar o período gestacional tornam-se ferramentas essenciais do acompanhamento obstétrico de éguas cujas datas de cobertura e ovulação são desconhecidas. Assim, o objetivo deste estudo foi associar a medida da JUP aos meses de gestação, utilizando um modelo cúbico para estimar o tempo gestacional em éguas Crioulas. Realizou-se o exame obstétrico de 11 éguas híbridas da raça Crioula, entre 4 e 11 anos, com datas de cobertura e ovulação conhecidas, do 5º ao 11º mês de gestação, totalizando 115 avaliações. Mensalmente as éguas eram submetidas à palpação transretal e avaliação ultrassonográfica com o transdutor linear transretal, na frequência 7,5 MHz, a fim de monitorar o desenvolvimento da placenta e do potro. Após a identificação das estruturas do trato reprodutivo, mensurava-se a espessura da JUP, na região do pólo caudal da placenta. Para isso, utilizava-se como ponto de referência o meio do ramo da artéria uterina e o fluido alantóico, realizando a medida entre essas estruturas, correspondendo à JUP. A função cúbica encontrada nos dados experimentais, via método dos mínimos quadrados, foi  $f(x) = 0,001x^3 - 0,024x^2 + 0,175 - 0,129$ . Para análise de confiança da função cúbica para os dados experimentais, foram utilizados o desvio-médio absoluto (DMA), o desvio-padrão (DP) e o coeficiente de determinação ( $R^2$ ). Valores referentes à espessura da JUP, dada em centímetros (cm), com sua respectiva idade gestacional, foram expressos em média  $\pm$  DP, com o auxílio do software Statistix 10. Os resultados encontrados para esta função foram: DMA = 0,004; DP = 0,005;  $R^2 = 0,996$ . As medidas da espessura da JUP de acordo com o mês foram: 5º mês:  $0,32 \pm 0,11$  cm; 6º mês:  $0,37 \pm 0,09$  cm; 7º mês:  $0,37 \pm 0,08$  cm; 8º mês:  $0,37 \pm 0,12$  cm; 9º mês:  $0,44 \pm 0,11$  cm; 10º mês:  $0,51 \pm 0,07$  cm; e 11º mês:  $0,75 \pm 0,07$  cm. No presente estudo, identificou-se que a função cúbica apresentou um valor de  $R^2$  muito próximo da unidade (1), garantindo uma alta segurança em prever o correto tempo gestacional com a utilização da espessura da JUP, considerando a variação de desenvolvimento na comparação entre os indivíduos da população. Observou-se que a função cúbica possui a curva de crescimento progressiva quando positiva, do mesmo modo que os resultados experimentais demonstram esse crescimento da espessura da JUP de uma maneira adequada. Conclui-se que o ajuste cúbico descreve de forma satisfatória os

dados reais observados, podendo ser utilizado para estimar o tempo gestacional em éguas, oferecendo maior precisão na previsão do desenvolvimento fetal.

**Palavras-chave:** Avaliação. Obstetrícia. Ultrassonografia.

**Agradecimentos:** Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS).

**Comissão de Ética:** Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEA) nº 8245-2015.

## Misoprostol no tratamento da infertilidade idiopática em éguas: percepção e uso entre veterinários de campo

Gilvannya Gonçalves de Sobral, Gustavo Ferrer Carneiro

Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE)

A infertilidade idiopática em éguas é um obstáculo relevante na medicina reprodutiva equina, comprometendo a eficácia dos programas de reprodução e resultando em prejuízos econômicos para o setor. O misoprostol, um análogo sintético da prostaglandina E1, vem sendo explorado como uma opção terapêutica promissora, especialmente para auxiliar na desobstrução ovidutária e otimizar a receptividade uterina. No entanto, há uma carência de informações sobre seu uso na rotina clínica veterinária. Este estudo teve como objetivo avaliar a percepção dos médicos veterinários sobre a eficácia, protocolos de administração e limitações do misoprostol no manejo da infertilidade idiopática em éguas. Um questionário online, elaborado no Google Forms e composto por 12 questões, foi distribuído a médicos veterinários atuantes na área de reprodução equina em diferentes regiões do Brasil. O objetivo foi coletar informações sobre a indicação, dosagem, via e momento de administração, associação com outros tratamentos, taxa de sucesso e possíveis efeitos colaterais observados. O questionário foi compartilhado em grupos de WhatsApp voltados à reprodução equina e respondido de forma anônima. Ressalta-se que não foi questionado como os profissionais obtêm o misoprostol. Cerca de 200 veterinários tiveram acesso ao formulário. No total, 73 veterinários responderam à pesquisa, sendo 68,5% profissionais com mais de 10 anos de experiência. Os resultados indicaram que maioria dos respondentes utilizou o medicamento para tratamento da infertilidade idiopática, visando a desobstrução de oviduto. Além disso, foram relatadas outras utilizações, como retenção de placenta, indução do parto e relaxamento cervical. O protocolo mais utilizado envolveu a administração intrauterina de doses únicas entre 200 e 400 mcg durante o estro. Cerca de 75% dos profissionais relataram associar o misoprostol a outros procedimentos, como lavagens uterinas, visando potencializar os efeitos do tratamento. Em relação à eficácia, 85% dos veterinários apontaram uma taxa de sucesso superior a 50%, sendo que 64% observaram resultados positivos em mais de 70% dos casos tratados. Apenas uma pequena parcela dos entrevistados relatou falhas terapêuticas. Os efeitos colaterais, embora possíveis, foram raramente mencionados. A reação adversa mais frequentemente relatada foi a inflamação local, considerada leve e sem impacto significativo na saúde geral das éguas. Apesar dos bons resultados obtidos na prática clínica, um dos principais desafios apontados foi a dificuldade de acesso ao medicamento, o que pode restringir sua ampla adoção e disseminação da técnica. Conclui-se que os veterinários de campo têm incorporado cada vez mais o misoprostol em seus protocolos reprodutivos, relatando eficácia significativa e baixa incidência de efeitos adversos. A ampliação do acesso ao medicamento poderia contribuir para a disseminação da técnica e otimização da fertilidade em éguas com infertilidade idiopática.



**Palavras-chave:** Bloqueio oviduto. Prostaglandina E1. Reprodução equina.

## O fluido da blastocle como um promissor genético na sexagem de embriões *in vivo*

Giovana Siqueira Camargo (1), Fernanda Saules Ignácio (1), Heloísa de Siqueira Canesin (2), Cezinande de Meira (1), Cristiana Raach Bromberger (1), Jose Paes de Oliveira Filho (1)

(1) Universidade Estadual Paulista (Unesp), (2) Laboratório de Embriologia - Central CH Reprodução Equina

O fluido da blastocle (FB) foi elucidado na reprodução humana com o potencial em ser um material genético alternativo para o diagnóstico genético pré-implantacional, sem a necessidade de extração de blastômeros através da biopsia embrionária. Logo, a amplificação do DNA através da aspiração em embriões equinos *in vitro* também foi eficaz. O objetivo da pesquisa com método colapso manual foi validar o extravasamento do FB para a sexagem de embriões equinos produzidos *in vivo*. As 19 amostras de FB foram recuperadas de blastocistos expandidos com oito dias de desenvolvimento através do colapso manual com uma agulha hipodérmica 26G. Os genes de identificação do sexo foram TSPY, referente ao cromossomo Y, com 280 pb, e AMEL, referente ao cromossomo X, com 184 bp, e ao cromossomo Y, com 160 a 240pb. As amostras foram submetidas ao PCR convencional e as reações foram preparadas individualmente para cada *primer*: 12,5 µL de Go Taq® Green Master Mix (Promega™), 6,5µL de H<sub>2</sub>O ultrapura estéril, 0,5 µL de *primer forward*, 0,5 µL de *primer reverse* e 5 µL de amostra de DNA. Como controle positivo foram utilizadas amostras de sangue de equídeos macho e fêmea, e como controle negativo utilizou-se a H<sub>2</sub>O ultrapura estéril. As amplificações seguiram as seguintes etapas de termociclagem: 95 °C por 10 minutos, 45 ciclos de 95 °C por 30 segundos, 58 °C por 1 minuto, 72 °C por 1 minuto e 72 °C por 7 minutos. Os produtos finais da amplificação foram submetidos à eletroforese em gel agarose 1,5% para leitura das bandas. Foram diagnosticados 57,90% (11/19) dos FB com o sexo masculino através do gene TSPY, 31,57% (6/19) sugestíveis a fêmea, e apenas 10,52% (2/19) apresentaram uma amplificação inconclusiva devido a bandas inespecíficas. A maior porcentagem na identificação do sexo masculino nos direciona à especificidade do *primer*, visto que os resultados para o TSPY são mais facilmente detectados por ser um gene presente em múltiplas cópias no genoma equino. AMEL, por outro lado, é um gene de cópia única e não é detectado de forma tão eficiente em amostras com pequenas quantidades de DNA ou fragmentadas, como o FB. Em outro estudo, relatou-se que a taxa de desenvolvimento do embrião humano tem correlação positiva com o sexo genético embrionário. Relatou-se que 72% (41/57) dos blastocistos com desenvolvimento mais avançados eram do sexo masculino e apenas 28% (16/57) eram do sexo feminino. Ainda, 60% dos embriões classificados com o desenvolvimento mais lento foram diagnosticados como sendo do sexo feminino e 40% para o sexo masculino. Conclui-se que o método de extravasamento do FB com o colapso manual possui quantidade suficiente para a identificação do sexo de embriões produzidos *in vivo* através do PCR convencional. Todavia os estudos de nossa equipe se mantêm contínuos nesta linha de pesquisa, a fim de otimizar essa biotecnologia para a obtenção de dados promissores.

**Palavras-chave:** DNA Embrião equino. PCR convencional. Colapso.

**Comissão de Ética:** CEUA/Unesp nº 185/2020.

## O perigeu e o apogeu lunar não influenciam a determinação do sexo de equinos

Letícia Machado Vicenzi (1), Mayara Cardoso da Silva (1), Ellen Lara Miguel (2), Emanuelle de Liz Ribeiro (1), Gianluca Simão Nadal Ribeiro (1), Joandes Henrique Fontequê (1), Marco Antônio Alvarenga (3)

(1) Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), (2) Universidade de São Paulo (USP), (3) Associação Brasileira dos Médicos Veterinários de Equídeos (ABRAVEQ)

A determinação do sexo de potros para favorecer o nascimento de fêmeas ou machos constitui uma alternativa interessante dentro dos sistemas de criação equina, oferecendo maior produtividade e ganho econômico. Com o objetivo de avaliar a influência do perigeu e apogeu lunar na determinação do sexo de potros, 66 éguas foram divididas em quatro grupos: cobertura controlada (Apogeu C) ou inseminação artificial (Apogeu IA) realizadas durante o apogeu lunar, e cobertura controlada (Perigeu C) ou inseminação artificial (Perigeu IA) realizadas durante o perigeu lunar. A sincronização do estro foi realizada administrando-se 6,71 mg de dinoprost trometamina no D0 e D7, com um dispositivo intravaginal de progesterona de 1g por 7 dias, 11 dias antes das datas de perigeu e apogeu. A indução da ovulação foi realizada utilizando 250 µg de acetato de histrelina e 1500 UI de gonadotrofina coriônica humana com folículo  $\geq 35$ mm e edema endometrial de grau  $> 2$ . As éguas que responderam dentro de cinco dias após o apogeu ou perigeu foram cobertas ou inseminadas 24 horas após a indução da ovulação. O diagnóstico de gestação foi realizado via ultrassonografia e o sexo do potro foi confirmado ao nascimento. O teste Z foi utilizado para analisar a proporção de machos e fêmeas em cada grupo. O teste qui-quadrado verificou se essa proporção depende do ritmo anômalo ( $p < 0,05$ ) e da técnica reprodutiva utilizada (acasalamento controlado ou inseminação artificial) durante os períodos de apogeu e perigeu ( $p < 0,05$ ). Um total de 71% (47/66) das éguas responderam à sincronização do estro, com uma taxa de gestação de 70% (46/66). Os nascimentos por grupo foram: Apogeu C, nove potros (quatro machos; cinco fêmeas); Apogeu IA, 5 potros (um macho; quatro fêmeas); Perigeu C, oito potros (quatro machos; quatro fêmeas); e grupo Perigeu IA, nove potros (cinco machos; quatro fêmeas). Não houve diferença na proporção de sexo nos quatro grupos. Conclui-se que apogeu e perigeu não influenciam o sexo do potro, independente da monta natural ou inseminação artificial.

**Palavras-chave:** Reprodução. Equinos. Lua. Ritmo anomalístico.

**Agradecimentos:** Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) - Código de Financiamento 001 e Programa de Monitoria de Pós-Graduação (PROMOP) - UDESC.

**Comissão de Ética:** CEUA/UDESC nº 3519120820.

## Perfil metabólico do plasma seminal equino

Verônica La Cruz Bueno, Henrique Boll de Araujo Bastos, Frederico Schmitt, Luiz Augusto Machado Centeno, Rodrigo Costa Mattos, Sandra Mara da Encarnação Fiala

Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFGRS)

O sêmen é composto por duas frações distintas, os espermatozoides, que compõem menos que 1% do volume total, e o plasma seminal (PS). O PS é um fluido com papel essencial para as funções espermáticas, desde a ejaculação até a fecundação. Nosso objetivo foi investigar a metabolômica do PS do garanhão e sua relação com a cinética espermática e fertilidade. Vinte e quatro garanhões Crioulos com histórico reprodutivo conhecido ( $\geq 30$  éguas inseminadas) foram coletados uma vez durante a estação reprodutiva. As taxas de fertilidade (16º dia após a inseminação artificial) variaram de 20,2 a 95,6%. Os garanhões foram divididos em dois grupos: alta fertilidade (AF), com taxa de fertilidade por ciclo de  $\geq 60\%$ , e baixa fertilidade (BF), com taxa de fertilidade de  $\leq 40\%$ . A concentração espermática foi avaliada através da câmara de Neubauer. A análise de cinética do espermatozoide foi realizada através do sistema computadorizado CASA (*Computer Assisted Sperm Analysis*, Tiefenbach, Alemanha, AndroVision®, Minitube). A integridade física da membrana foi avaliada por sondas fluorescentes e o teste hiposmótico analisou a integridade funcional da membrana. Após centrifugação a 400 xg por 10min, o plasma do PS foi transferido para um tubo criogênico de 2 ml e centrifugado novamente (10.000 xg, 60 min, 4 °C). O sobrenadante foi homogeneizado 1:1 com água deionizada após filtração com filtros de 0,45µm para remover o sedimento celular. Cada amostra foi novamente filtrada através de um filtro de seringa de 0,22 µm antes da aquisição do perfil. O perfil metabólico foi adquirido usando cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa de tempo de voo. Um total de 18 metabólitos foram identificados após a análise. Os metabólitos foram: triptofano, ácido láctico, ornitina, ácido esteárico, ácido oleico, ácido palmítico, melatonina, acetilcarnitina, carnitina, fenilalanina, isoleucina, isovaleril, ácido cítrico, ácido hipúrico, 1,3-dioxan-5-ol, taurina, ácido fosfórico e frutose. A correlação de Pearson foi realizada com um nível de significância de  $p < 0,05$ . Quatro metabólitos (ácido oleico, isoleucina, taurina e ácido fosfórico) apresentaram diferença ( $p < 0,05$ ) entre os grupos AF e BF. O ácido oleico e a isoleucina foram maiores no grupo BF, enquanto a taurina e o ácido fosfórico foram maiores nos garanhões do grupo AF. O ácido fosfórico apresentou uma correlação negativa relevante com espermatozoides imóveis ( $r = -0,7206$ ) e uma correlação positiva com integridade funcional ( $r = 0,6162$ ), integridade física ( $r = 0,6306$ ), fertilidade ( $r = 0,6471$ ), motilidade progressiva ( $r = 0,5145$ ), motilidade total ( $r = 0,7157$ ), velocidade curvilínea ( $r = 0,6034$ ), velocidade linear progressiva ( $r = 0,5491$ ), velocidade média do trajeto ( $r = 0,5629$ ), batimento flagelar ( $r = 0,7055$ ), amplitude de deslocamento lateral da cabeça ( $r = 0,5945$ ), volume total do ejaculado ( $r = 0,5941$ ) e proteína total/ejaculado ( $r = 0,5182$ ). Os metabólitos mais relevantes observados na correlação de Pearson do PS de garanhões foram ácido fosfórico e 1,3-dioxano-5-ol. Em

conclusão, esses metabólitos podem ser usados como marcadores de fertilidade em garanhões.

**Palavras-chave:** Sêmen. Metabolômica. Fertilidade. Garanhões.

**Agradecimentos:** Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS).

**Comissão de Ética:** CEUA/UFRGS nº 38666.

## Pharmacological-assisted embryo reduction in twin pregnancies

Odilon Marquez de Oliveira (1), Gabrielle Bueno de Almeida Gonçalves Amorim (1), Maurício Batista Mendes (2), Steve D Burns (2), Geovana Medeiros Carneiro (3), Rodrigo Arruda de Oliveira (3)

(1) Universidade Estadual Paulista (Unesp), (2) Burns Ranch INC., (3) Universidade de Brasília (UnB)

The presence of twin pregnancy has been recognized as one of the most important causes of embryonic loss in mares. The twin pregnancy rate is approximately 10% in Quarter Horse mares. Ultrasonographic examination is of fundamental importance for the correct diagnosis of twin pregnancy and should therefore be performed as early as possible during the breeding season. Despite the existence of different reproductive management options after the fixation of embryonic vesicles, the elimination of one of the vesicles during the embryonic mobility phase is crucial to maintaining the viability of the conceptus throughout gestation. A total of 45 Quarter Horse mares located on a private ranch in Southern California, USA, were diagnosed with twin pregnancy between 2021 and 2024. An Aloka 500 ultrasound device with a 5 MHz linear rectal probe was used. The mares were between 4 and 21 ( $12 \pm 4.44$ ) years old, with pregnancies between 14 and 19 ( $15.17 \pm 1.11$ ) days. The technique for reducing twin pregnancy was the manual crushing of the smaller vesicle. Fresh semen was used in 36 animals, while frozen-thawed semen was used in 9 mares. To facilitate transrectal uterine manipulation, reduce uterine contractions, and minimize the release of prostaglandin F<sub>2α</sub>, an intravenous pharmacological protocol was administered five minutes before the procedure. This protocol included xylazine (0.3 mg/kg), acepromazine (0.02 mg/kg), N-butylscopolamine bromide (0.3 mg/kg), and flunixin meglumine (1 mg/kg). The manual crushing of the smaller vesicle was successfully performed in 41 mares without compromising the remaining vesicle, resulting in a success rate of 91.11%. The procedure was conducted in 13 mares with 16 or more days of gestation. The failure rate, in which both vesicles were lost, occurred in mares with a gestational age between 15 and 18 days (mean of  $16.5 \pm 1.12$ ), whereas in successful cases, gestation ranged between 14 and 19 days (mean of  $15 \pm 1.02$ ). The results obtained are consistent with the success rate described in the literature, which exceeds 90% when the procedure is performed before the formation of endometrial cups.

**Keywords:** Embryo reduction. Pharmaceuticals. Twin pregnancy.

## **Pre-ovulatory follicles and the surrounding ovarian stroma are cooler than non-dominant antral follicles and ovarian stroma on the contralateral ovary in the mare**

Maarten Hoogewijs (1), Pedro Paulo Guimaraes Bussade (1), Ann Ismer (1), Agustina Grippo (1), Bárbara Santana (2), Sandra Wilsher (1)

(1) Sharjah Equine Hospital, (2) Self-employed veterinarian

Reports in rabbits, women, pigs and cows have demonstrated that pre-ovulatory follicles (POFs) are cooler than neighbouring ovarian tissue, with the cooling of POFs considered important for oocyte maturation. A failure for cooling to occur has been related to sub-fertility. This study aimed to measure the temperature of POFs, contralateral non-dominant follicles (NDFs), and the ovarian stroma to see if cooling of POFs occurred in the mare as reported in other species. Fourteen oestrous cycles in 11 mares were monitored. When a follicle > 38mm was present on a single ovary in combination with uterine oedema, 1.5 mg deslorelin was administered IM to induce ovulation. Thirty hours later each mare was sedated with a combination of detomidine hydrochloride (10 mg/mL; Equidor, Vetcare OY, Finland) and butorphanol (10 mg/mL; Butorgesic, Troy Laboratories, Australia) followed by administration of butylscopolamine bromide (4 mg/mL) with metamizole (500 mg/mL; Buscopan Compositum, Boehringer Ingelheim, Germany). A PTFE wire thermocouple probe (Electronic Temperature Instruments Ltd, UK) with an accuracy of  $\pm 0.05^{\circ}\text{C}$  was inserted into a 12G x 25 cm needle to within 5 mm of the needle tip. The needle was placed within the needle holder of a transvaginal probe, as used for oocyte collection procedures. The probe was then passed into the cranial vagina ipsilateral to the POF and the needle advanced into the centre of the follicle where it remained for a minimum of 5 mins. Twenty temperature recordings (1 per 15 seconds) were made, with the final 15 used for the analysis. Similar temperature recordings were done in a NDF ( $\leq 25\text{mm}$ ) on the contralateral ovary. In eight cycles temperature recordings were also taken of the ovarian stroma in both ovaries. Temperature of the POF, NDF, and stromal tissue on each ovary were analysed using a paired T-test. For all 14 cycles the POF was significantly cooler than the contralateral NDF ( $p < 0.001$ ;  $37.6 \pm 0.24$  vs.  $37.9 \pm 0.18^{\circ}\text{C}$ , difference  $0.28 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$ ). In the 8 mares in which follicle and ovarian stromal readings were recorded, the POF was significantly cooler than the contralateral NDF ( $37.6 \pm 0.23$  vs.  $37.9 \pm 0.16$ ;  $p = 0.026$ ). Likewise, stroma surrounding the POF was cooler than stroma surrounding the NDF ( $37.4 \pm 0.32$  vs.  $37.8 \pm 0.22$ ;  $p = 0.02$ ). Although both stroma and follicle in the ovary with the POF were cooler compared to the other ovary, the POF was warmer than the stroma surrounding it ( $p = 0.007$ ), whereas the NDF and its surrounding stroma were statistically equivalent in temperature ( $p = 0.243$ ). Hence, in the mare pre-ovulatory cooling does occur but, in contrast to other species studied to date, the whole ovary is involved with greater cooling seen in the stroma surrounding the POF compared to the POF itself. Further work is needed to elucidate how this cooling is achieved and if the variation in cooling between ovarian



compartments compared to other species relates to the unusual structure of the equine ovary.

**Keywords:** Follicle temperature. Pre-ovulatory. Stroma. Ovary.

## Prevalência bacteriana e suscetibilidade antimicrobiana em infecções uterinas de éguas no estado do Rio Grande do Sul

Letícia Bisso Paz, Natália Almeida Martins, Ricardo Pozzobon, Flavio Desessards De La Côte, Roberta Carneiro da Fontoura Pereira

Universidade Federal de Santa Maria (UFSM)

Um dos maiores obstáculos da reprodução equina é a presença de éguas subférteis no plantel, as quais reduzem os índices de prenhez durante a estação reprodutiva e resultam em perdas econômicas significativas. A realização de um exame bacteriológico, através da coleta de *swab* endometrial, é um método seguro para investigar ou diagnosticar as infecções uterinas como causa de subfertilidade em éguas. Ademais, o uso de antimicrobianos de forma sistêmica ou via infusão uterina está entre as alternativas de tratamento mais comumente utilizadas para combater as endometrites bacterianas. O objetivo deste trabalho, portanto, foi avaliar a prevalência bacteriana e a suscetibilidade antimicrobiana em amostras uterinas de éguas subférteis do estado do Rio Grande do Sul. Neste estudo retrospectivo foram examinadas 42 amostras de *swabs* uterinos de éguas com histórico de falhas na concepção ou abortamentos, da região noroeste e central do Rio Grande do Sul, durante o período de 2016 a 2019. Além do histórico de subfertilidade, as éguas apresentavam sinais clínicos e ultrassonográficos sugestivos de infecção uterina. Após preparação asséptica da região perineal, as amostras foram coletadas utilizando um *swab* uterino duplamente protegido e foram transportadas imediatamente para um laboratório de referência da região. A cultura microbiológica foi realizada nos meios de aerobiose e microaerobiose, incubados a 37 °C por até 72 horas. Após crescimento bacteriano, realizaram-se os testes de suscetibilidade antimicrobiana utilizando o método de disco-difusão. Dentre as 42 amostras enviadas, 30 foram positivas para a presença de microrganismos causadores de endometrites. Os microrganismos mais identificados foram *Escherichia coli* (45,94%), seguido de *Staphylococcus coagulase negativa* (18,92%), *Klebsiella aerogenes* (10,81%), *Corynebacterium* sp. (5,41%) e *Streptococcus* sp. (5,41%). Os antibiogramas revelaram que a ciprofloxacina, enrofloxacin e norfloxacina foram os antibióticos de maior ação *in vitro* contra os microrganismos isolados. A partir destes resultados, o teste estatístico de Fisher foi utilizado para avaliar a relação entre o índice de resistência e a classificação Gram das bactérias, não sendo encontrada correlação entre as variáveis ( $p = 0,239$ ); logo, as bactérias Gram positivas e negativas não demonstraram maior resistência quando comparadas entre si. Alguns fatores predisponentes como idade avançada, conformação vulvar inadequada ou resposta imune uterina deficiente podem contribuir para que ocorra a contaminação uterina a partir da cobertura ou inseminação artificial. No entanto, os resultados deste estudo demonstram o perfil bacteriológico de éguas da região noroeste e central do Rio Grande do Sul, sugerindo que o monitoramento de éguas predispostas à endometrite, com a identificação do agente infeccioso e do

antimicrobiano de eleição, podem melhorar a sua eficiência reprodutiva, aumentando as taxas de prenhez.

**Palavras-chave:** Antibiógrama. Equino. Endometrite.

## Prevalência bacteriana em éguas com endometrite na região do Planalto Catarinense

Melissa Caroline Risso, Maurício Seminotti Zanette, Jordane Bunn Felimberti, Mariana Zanini Tortato, Geovana Speck da Cunha, Camila Machado Ferrari, Ricardo Antonio Pilegi Sfaciote, David Germano Gonçalves Schwarz, Aimé de Medeiros Friso, Sandra Maria Ferraz, Verônica Flores da Cunha Scheeren

Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC)

A endometrite é um processo inflamatório e/ou infeccioso que acomete o endométrio das éguas, sendo uma das principais causas de infertilidade e acarretando grave impacto econômico sobre a criação de equinos. O objetivo deste trabalho foi avaliar a prevalência bacteriana em éguas com endometrite na região do Planalto Catarinense. Foram realizadas coletas de 10 fêmeas da raça Crioula, provenientes da estação de monta 2024/2025, com idade entre 3 e 15 anos. Os animais selecionados apresentaram histórico de subfertilidade e endometrite clínica, diagnosticada pela presença de conteúdo intrauterino e citologia uterina positiva. Para a realização das coletas, as fêmeas encontravam-se em estro, com edema uterino  $\leq 3$  e folículo  $\leq 35$  milímetros de diâmetro, identificados através de palpação e ultrassonografia transretal. A coleta das amostras foi realizada utilizando coletor de swab uterino estéril. O swab colhido foi acondicionado em meio Stuart, mantido em temperatura ambiente e encaminhado ao Centro de Diagnóstico Microbiológico Animal para cultura e isolamento. As amostras foram cultivadas em meio ágar com 5% de sangue ovino e incubadas a 37 °C por 48h. Após isoladas, foram coradas com coloração de Gram para identificações morfotintoriais. Na sequência, foram utilizadas provas bioquímicas para identificação das espécies bacteriana isoladas, como catalase, oxidase, fermentação de carboidratos e prova do citrato. Quarenta por cento das éguas (4/10) foram diagnosticadas com cultura positiva até então e quatro bactérias foram isoladas, sendo elas *Streptococcus intermedius*, *S. equisimilis*, *S. dysgalactiae* e *Staphylococcus fleuretti*. Portanto, apesar do número limitado, observou-se uma alta prevalência bacteriana em éguas com endometrite na região do Planalto Catarinense. Salienta-se que estes são dados preliminares e que o estudo segue em andamento.

**Palavras-chave:** Bactéria. Diagnóstico. Equino. Inflamação. Útero.

**Agradecimentos:** UDESC, pelo incentivo e fornecimento da bolsa na modalidade de iniciação científica através do programa PROBIC.

**Comissão de Ética:** CEUA/UDESC nº 6845271124.

## Prevalência de bactérias e fungos em sêmen de garanhões no estado do Rio de Janeiro

Paula Junqueira Ferraz (1), Larissa Bastos Mello Rosa (2), Marcella Taina Resende Ribeiro (2), João Felipe Halfeld Carraca (3), Vitor Souza de Freitas (3), Daniel Cantini Lopes (4), Ana Carolina de Oliveira de Andrade (4), Vitória Caroline Abdalla de Mendonça Siqueira (5), Vera Lucia Teixeira de Jesus (2), Julio Cesar Ferraz Jacob (2)

(1) Jacob Academy, (2) Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), (3) Universidade de Vassouras, (4) Universidade Estácio de Sá, (5) Universidade Federal de Uberlândia (UFU)

O sêmen de garanhão contém uma alta prevalência de bactérias contaminantes originadas da genitália externa durante a coleta. Essas bactérias podem induzir endometrite em éguas com predisposição a infecções após a inseminação e podem ter um efeito deletério na qualidade do esperma preservado, afetando sua viabilidade e fertilidade. Além disso, há relatos que demonstraram os efeitos prejudiciais de algumas bactérias, como *Pseudomonas aeruginosa* ou *Streptococcus equisimilis*, na motilidade e integridade da membrana dos espermatozoides equinos. O objetivo desse estudo foi levantar a prevalência bacteriana e fúngica em sêmen de garanhões da raça Mangalarga Marchador. Foram avaliados 21 garanhões ao acaso, em diferentes haras na Baixada Fluminense/RJ. Após higienização do pênis com água, o sêmen foi coletado com uma vagina artificial modelo Hannover. Em seguida, um swab foi submerso no sêmen e colocado em meio de transporte Stuart, refrigerado e enviado imediatamente ao laboratório do Jacob Academy. Após incubação de 24h na estufa bacteriológica a 37 °C, realizou-se plaqueamento bacteriano em ágar sangue, Mackoney e Cromor, bem como plaqueamento fúngico em meio Saboroud. Após 24 horas do plaqueamento, realizou-se a identificação pela morfologia e prova tintorial com gram. De 21 garanhões avaliados, 16 (76,2%) apresentaram presença de bactéria no sêmen, 9 (43%) apresentaram fungo e 4 (19%) não possuíam crescimento bacteriano e/ou fúngico. Dos 16 garanhões com presença de bactéria no sêmen, em 8 (50%) havia apenas bactérias e em 8 (50%) havia presença de bactérias e fungos. Já nos 9 garanhões com presença de fungos, apenas em um (11,1%) cresceu somente fungo e em 8 (88,8%) cresceram bactérias e fungos. As bactérias encontradas foram *Streptococcus* sp. (8/16; 50%), *Escherichia coli* (7/16; 43,8%), *Staphylococcus* sp. (7/16; 43,8%), *Klebsiella* sp. (5/16; 31,3%) e *Pseudomonas* (2/16; 12,5%). Já entre os fungos, *Candida* sp. foi o mais encontrado (7/9; 77,8%), seguido de *Aspergillus* sp. (2/9; 22,5%) e *Rodothorula* (1/9; 11,1%). A prevalência de bactéria no sêmen foi elevada, assim como em um estudo realizado na Suécia (Al-Kass et al., 2019), com prevalência bacteriana de 59%, sendo 53% *Klebsiella pneumoniae*, 80% *Streptococcus beta haemolytic* e 43% *Pseudomonas aeruginosa*. Conclui-se que deve ser realizada rotineiramente a investigação da presença bacteriana e/ou fúngica no sêmen de garanhões antes de serem utilizados em monta natural ou inseminação a fresco, sem diluidor de sêmen, na estação de monta, visando reduzir a contaminação de éguas.

**Palavras-chave:** Cultura. Infertilidade. Equino. Pênis.

**Agradecimentos:** Jacob Academy.

## Prevalência e diversidade bacteriana no óstio uretral de garanhões Crioulos no Meio-Oeste Catarinense

Tiago Troncarelli, João Pedro Bernardes, César Rodrigo de Souza Surian

Instituto Federal Catarinense (IFC)

A microbiota uretral desempenha um papel fundamental na saúde reprodutiva de equinos. No entanto, poucos estudos investigam as características bacterianas no óstio uretral de garanhões da raça Crioula. O objetivo do presente estudo foi avaliar a prevalência e diversidade bacteriana no óstio uretral de 15 garanhões desta raça, clinicamente saudáveis, em repouso reprodutivo, com idade entre 5 e 12 anos, oriundos de haras localizados na região Meio-Oeste de Santa Catarina. As amostras foram coletadas por meio de *swabs* estéreis, assepticamente, e acondicionadas em meio Stuart, sendo então transportadas ao Laboratório de Microbiologia Veterinária (LMV) do Instituto Federal Catarinense em até quatro horas após a coleta, para o processamento microbiológico. As culturas bacterianas foram realizadas em ágar sangue bovino a 5% e ágar MacConkey, com incubação a 37 °C em aerobiose por 72 horas e leituras a cada 24 horas. A identificação dos isolados foi realizada segundo suas características morfotintoriais e bioquímicas, segundo a rotina diagnóstica do LMV. Linhagens de *Staphylococcus* coagulase negativa foram isoladas a partir de todas as amostras avaliadas. *Staphylococcus* coagulase positiva não *aureus* representaram 66,7% dos isolamentos, seguidos de enterobactérias (33,3%), incluindo *Escherichia coli* e *Proteus vulgaris*, além de *Staphylococcus aureus*, com 53,3% de frequência e *Streptococcus dysgalactiae*, com 6,7% dos isolamentos. Embora os estafilococos normalmente componham a microbiota regular da pele e das mucosas de animais, a elevada prevalência deste gênero bacteriano e de cepas potencialmente patogênicas nas amostras avaliadas pode representar um risco à saúde reprodutiva de garanhões da raça Crioula, especialmente em caso de imunossupressão. Ademais, a presença de microrganismos na uretra de garanhões pode alterar a microbiota do trato reprodutivo de éguas em programas de reprodução, havendo risco de infecções e, consequentemente, impactando nas taxas de fertilidade e prenhez. Com efeito, os resultados obtidos na presente pesquisa reforçam a necessidade da realização de protocolos sanitários com ênfase na higiene reprodutiva dos animais, associados ao monitoramento microbiológico regular, de forma a garantir a saúde reprodutiva de garanhões da raça Crioula e, consequentemente, a qualidade genética destes animais.

**Palavras-chave:** Saúde reprodutiva. Garanhões Crioulos. Bacteriologia.

## Sexagem fetal através de ultrassonografia transabdominal em equinos

Rafaela de Fatima Soares, Paula Cristina Cepeda Perez, Daniele Branco Marques

Equicenter Reprodução

Entre as modalidades disponíveis no campo, a ultrassonografia transabdominal oferece uma janela diagnóstica mais ampla para a sexagem fetal em diferentes estágios gestacionais. Esta técnica, ao permitir a visualização das gônadas fetais, oferece uma alternativa valiosa à ultrassonografia transretal, que é limitada por uma janela temporal diagnóstica mais reduzida. Desta forma, o estudo centrou-se na sexagem fetal em equinos por meio da ultrassonografia transabdominal. Compararam-se duas técnicas: transretal e transabdominal, com foco especial na ultrassonografia transabdominal devido à sua maior amplitude diagnóstica em estágios avançados da gestação. O objetivo foi avaliar a eficácia dessa técnica para a identificação do sexo através das gônadas fetais. Foram selecionadas 17 éguas receptoras sem raça definida, gestantes de embriões provenientes de transferência convencional ( $n = 8$ ) e de injeção intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI) ( $n = 9$ ), com idades gestacionais de 110 a 275 dias. Utilizou-se um equipamento de ultrassonografia Sonoscape, modelo E2, acoplado a um transdutor convexo modelo 3C-A. As 17 éguas sexadas foram diagnosticadas com sucesso. Em 10 éguas, com idades gestacionais que variaram de 110 a 154 dias, foi possível realizar a sexagem por meio da ultrassonografia transretal e transabdominal. Nas éguas restantes, com idades gestacionais entre 153 e 275 dias, o diagnóstico foi realizado apenas por ultrassonografia transabdominal. Destaca-se a importância e as vantagens da combinação de ambas as técnicas, sendo a transabdominal mais útil em estágios avançados da gestação. Fatores como o temperamento das éguas e sua condição corporal influenciam a qualidade das imagens. A experiência do veterinário e a qualidade do equipamento são fundamentais para um diagnóstico preciso. A ultrassonografia transabdominal destaca-se como uma técnica essencial para a sexagem fetal em equinos, especialmente nos estágios mais avançados da gestação. A combinação da ultrassonografia transabdominal com a transretal oferece uma abordagem mais completa e eficaz, garantindo um diagnóstico de sexagem preciso.

**Palavras-chave:** Sexagem. Gônadas. Ultrassonografia transabdominal.



## Uso de Doppler colorido e termógrafo para diagnosticar prótese testicular em garanhão da raça Mangalarga Marchador

Moacyr Barbosa Soares Neto, Paula Junqueira Ferraz (1), Larissa Bastos Mello Rosa (2), João Felipe Halfeld Carraca (3), Daniel Cantini Lopes (4), Vitor Souza de Freitas (3), Vitória Caroline Abdalla de Mendonça Siqueira (5), Thomas Miliou (5), Vera Lucia Teixeira de Jesus (5), Julio Cesar Ferraz Jacob (2)

(1) Jacob Academy, (2) Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), (3) Universidade de Vassouras, (4) Universidade Estácio de Sá, (5) Universidade Federal de Uberlândia (UFU)

A avaliação reprodutiva de garanhões é fundamental para determinar a fertilidade e a capacidade reprodutiva. O exame andrológico inclui a análise física dos órgãos reprodutivos e a avaliação do sêmen. Relata-se o caso de um garanhão da raça Mangalarga Marchador que, durante a avaliação reprodutiva, foi identificado com uma prótese no testículo esquerdo, prática não permitida para fins de registro pela Associação Brasileira do Cavalo Mangalarga Marchador. Durante a avaliação reprodutiva, realizou-se o exame andrológico completo, que incluiu a palpação e ultrassonografia modo B dos testículos. Observou-se que havia uma assimetria testicular, sendo o esquerdo um pouco menor, apresentando características atípicas como textura mais firme e imagem hipoeecogênica ao ultrassom, com uma região hiperecogênica na base do saco escrotal, sugerindo fibrose tecidual. Não foi possível palpar a cauda do epidídimo e o funículo espermático, pois não os tinham. Posteriormente realizou-se avaliação por meio de ultrassonografia Doppler colorido (Sonoescape E1 Pro) e verificou-se que não havia irrigação no testículo esquerdo, diferentemente do direito, que estava bem irrigado. Fez-se também a avaliação qualitativa com o termógrafo (Flir modelo E500). A área escrotal deveria estar simétrica, com uma diferença  $\Delta t$  mínima de 0,3 °C. A temperatura média da área onde se encontra o testículo esquerdo apresentou valor de 31,6 °C e a área contralateral, 33,8 °C, com uma  $\Delta t$  2,2°C, uma diferença extremamente alta de assimetria térmica. Fez-se a mensuração testicular com paquímetro, obtendo-se as seguintes medidas: testículo esquerdo: 7 x 5 x 7 cm de comprimento, largura, altura, respectivamente; testículo direito: 9 x 7 x 8 cm. O sêmen foi coletado com vagina artificial: volume 14 ml, motilidade 80%, vigor 4, concentração  $938 \times 10^6$  spz total, integridade de membrana 91%; cor: branco opalescente; patologias espermáticas: 34% de defeitos totais. Após essas avaliações, suspeitou-se que o testículo menor era uma prótese. Sendo assim, nova avaliação ultrassonográfica foi realizada no canal inguinal esquerdo e identificou-se o testículo atrofiado, medindo 20 mm. A realização do exame andrológico detalhado é crucial na avaliação de garanhões, especialmente em situações de compra e venda. Esse exame permite a detecção de anomalias, como hipoplasia, criptorquidismo, degeneração, tumores, outras anormalidades testiculares e próteses como implantes de silicone, que podem comprometer a fertilidade e a integridade genética do animal. A identificação de uma prótese de silicone no testículo esquerdo sugere uma tentativa de mascarar o criptorquidismo. Essa conduta não é

permitida pela maioria das associações de criadores de cavalo, mas ultimamente tem sido bastante utilizada por alguns criadores com o intuito de burlar o regulamento e, assim, conseguir registrar o animal. Esses animais, porém, devem ser identificados e penalizados pelas associações. Além disso, a termografia se mostrou uma ferramenta prática e rápida para o diagnóstico dessa prática.

**Palavras-chave:** Equino. Subfertilidade. Silicone. Sêmen.

**Agradecimentos:** Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) e Poliscan Brazil Comércio e Serviço de Equipamentos Médicos Ltda.

## Uso de extrato proteico rico em eFSH na estimulação folicular ovariana de éguas cíclicas

Isabella Lima Ferreira da Costa (1), Larissa Araújo da Silva (1), Anna Beatriz Carvalho de Oliveira (1), Vitória Gonçalves Moreira (1), Livia Rocha Rocca (1), Luana Lopes Ferreira (1), Beatriz Valadares Rodrigues Feliciano (1), Vanessa de Jesus dos Santos (1), Carla Regina Nunes Santos (1), Giullia Almeida Borges (1), Cristina Aparecida Souza Duarte (1), Mariana Nogueira Borges (1), Ana Milena Ribeiro dos Santos (1), Dorine Millane Vaz Martins (1), Rochelle Stefanny Maurante Soares (2), Daniela Oliveira Brandão (3), Adalberto Farinasso (3), Fabricio Desconsi Mozzaquatro (2), Rodrigo Arruda de Oliveira (1)

(1) Universidade de Brasília (UnB), (2) Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA), (3) Pars Bio Tecnologia LTDA

O incremento da população folicular é tema relevante da reprodução assistida equina por seu potencial estratégico na otimização de resultados de embriões/aspirações. Objetivou-se, portanto, avaliar um novo extrato proteico rico em hormônio folículo estimulante equino (eFSH), em protocolo fixo com cinco doses decrescentes. Foram utilizadas éguas mestiças ( $n = 7$ ), cíclicas, entre 5 e 20 anos e peso médio de 406 kg. As fêmeas foram acompanhadas por três ciclos consecutivos a partir do D3 (terceiro dia pós-ovulação), com aplicação de prostaglandina F2 $\alpha$  no D5 (quinto dia pós-ovulação) e indução da ovulação com análogo de GnRH (Histrelina, 250  $\mu$ g) quando um ou mais folículos atingiram diâmetro mínimo de 35 mm associado a edema uterino de no mínimo 2 (escala de 0 a 5). No primeiro ciclo (controle) nenhum tratamento com eFSH foi executado. No segundo ciclo (tratamento), quando um ou mais folículos atingiram diâmetro mínimo de 18 mm, iniciou-se o protocolo com eFSH (32 mg no total) dividido em doses decrescentes consecutivas (9,6; 8; 6,4; 4,8; e 3,2 mg), aplicadas uma vez ao dia, por via subcutânea. O terceiro ciclo (residual) não teve tratamento com eFSH. A análise dos dados incluiu ANOVA *one-way*, testes Kolmogorov-Smirnov e Shapiro-Wilk, além de procedimentos de *bootstrapping*. O número de folículos pré-ovulatórios ( $\geq 35$ mm) no ciclo tratamento ( $3,14 \pm 0,34$ ) foi maior ( $p < 0,05$ ) do que nos ciclos controle ( $1,00 \pm 0,34$ ) e residual ( $1,28 \pm 0,18$ ). Já o número de folículos emergentes na onda foi maior ( $p < 0,05$ ) no ciclo residual ( $22,85 \pm 1,56$ ) do que no controle ( $12,42 \pm 0,64$ ), não havendo diferença dos mesmos para o ciclo tratamento ( $17,28 \pm 1,91$ ). O número de ovulações no ciclo tratamento ( $2,42 \pm 0,52$ ) foi maior ( $p < 0,05$ ) do que nos ciclos controle ( $1,00 \pm 0,00$ ) e residual ( $1,28 \pm 0,18$ ), e no ciclo residual foi maior ( $p < 0,05$ ) do que o ciclo controle. O tratamento com eFSH não gerou casos de reação às injeções ou desconforto abdominal, nem anormalidades de folículo ou de fossa ovulatória foram observadas na ultrassonografia transretal. Em conclusão, o novo extrato proteico rico em eFSH foi efetivo no incremento da população folicular, com um protocolo prático (dose única diária), abrindo caminhos para mais estudos e otimização de resultados nas variadas biotécnicas de produção *in vivo* ou *in vitro* de embriões.

**Palavras-chave:** Equino. Biotecnologia. Gonadotrofina. Folículo.

**Agradecimentos:** RHAE-MCTI-CNPq.

**Comissão de Ética:** CEUA/UnB nº 23106.062322/2023-64.

## Utilização de gradiente de densidade coloidal para o aproveitamento e melhoramento de palhetas de sêmen congelado de baixa qualidade de garanhão da raça Crioula

Lorenzo Segabinazzi (1), Natália Amanda Silveira (2), Barbara Manica (3), Fernando Paixão Lisboa (2)

(1) Ross University, (2) Médicas veterinárias autônomas, (3) Universidade de Caxias do Sul (UCS)

As biotecnologias de manipulação de sêmen são realizadas com o intuito de avaliar qualidade e característica seminal, potencialmente agregando dados avaliativos para a fertilidade de garanhões através de técnicas moduladas para cada indivíduo a fim de promover maior qualidade espermática. O gradiente de densidade coloidal proporciona a seleção de espermatozoides de motilidade progressiva, podendo ser utilizado para o melhoramento do sêmen congelado de baixa qualidade, ampliando, assim, as taxas de fertilidade. Esta técnica, quando utilizada previamente ao processo de criopreservação, auxilia no aumento da qualidade espermática de congelamento, em casos de garanhões que não atingem os parâmetros necessários para congelamento de sêmen ou para os que possuem baixa qualidade e quantidade espermática. O objetivo deste trabalho foi avaliar a motilidade espermática e fertilidade através do uso do Equipure® pós-descongelamento de palhetas de sêmen de baixa fertilidade, em um programa comercial de transferência de embriões de equinos da raça Crioula. No experimento 1, foram utilizados 66 ejaculados de três garanhões distintos com idades entre 12 e 22 anos. Os ejaculados foram divididos em grupo controle (n = 32) e grupo tratado (n = 34). Todas as palhetas foram descongeladas a 37 °C por 60 segundos e avaliadas por um mesmo observador. Para o grupo tratado, foram utilizadas 12 palhetas por processamento, sendo as mesmas centrifugadas a 450 g por 35 minutos. Após centrifugação, cada *pellet* foi ressuspensionado em 3 ml de Botucurio® para posterior avaliação por microscopia convencional. No experimento 2, foram utilizados 47 ciclos de 36 éguas, com idade entre 5 e 18 anos, com histórico reprodutivo conhecido. Todas as inseminações foram realizadas após ovulação, na ponta do corno ipsilateral à ovulação, em um período não maior do que 6 horas. Os ciclos foram divididos entre grupo controle (n = 22) e grupo tratado (n = 25). Os dados de motilidade espermática pré e pós-Equipure® foram avaliados através de teste T pareado e os dados de fertilidade pelo teste Fisher, considerando-se  $p < 0,0001$ . Não foram observadas diferenças de motilidade espermática e fertilidade entre garanhões. O grupo tratado apresentou melhor resultado de fertilidade (44%; 11/25) quando comparado ao controle (5%; 1/22) ( $p < 0,05$ ). Conclui-se, portanto, que o uso de Equipure® após a descongelamento de sêmen equino de baixa fertilidade pode melhorar a motilidade espermática assim como a fertilidade em programas comerciais de reprodução equina.

**Palavras-chave:** Garanhão. Criopreservação. Sêmen. Seleccionador. Fertilidade.

## Utilização de índices Doppler para avaliar perfusão uterina em éguas submetidas a diferentes terapias hormonais no terço final da gestação: dados preliminares

Isadora Paz Oliveira dos Santos (1), Bruna da Rosa Curcio (2), Giovanna Helena da Silva Thier (1), Talita Vitória Oliveira Fabossa (1), Tatiane Leite Almeida (1), Camila Gervini Wendt (1), Luiza Gheno (1), Bianca de Fátima Dallo (1), Marcos Eduardo Neto (1), Micael Feliciano Machado Lopes (1), Andre Machado da Silva Junior (1), Paloma Beatriz Joanol Dallmann (1), Hilgarde Ferreira Pessoa (1), Carlos Eduardo Wayne Nogueira (2)

(1) Universidade Federal de Pelotas (UFPel), (2) Universidade Federal de Santa Maria (UFSM)

A avaliação da perfusão uterina (PU) durante a gestação é essencial para compreender as adaptações vasculares que ocorrem no período pré-parto, sendo o Doppler uma ferramenta altamente eficaz para monitorar essas alterações da PU e a viabilidade fetal. Objetivou-se avaliar os efeitos de terapias hormonais sobre os índices Doppler das artérias uterinas de éguas gestantes nas últimas semanas de gestação. Foram utilizadas 20 éguas gestantes híginas, divididas em três grupos: ECP (n = 8), tratadas com Cipionato de estradiol (10 mg/égua, IM a cada 72 horas); ALT (n = 4) tratadas com Altrenogest (0,088 mg/kg, IM a cada 7 dias; e Controle (n = 8). As éguas foram submetidas ao acompanhamento folicular, inseminação artificial e detecção da ovulação (D0). No D20, realizava-se identificação do corno uterino de fixação. O tratamento iniciou-se aos 300 dias gestacionais até o momento do parto, juntamente com a avaliação da PU. Essa, por sua vez, foi realizada através do modo Doppler espectral, avaliando-se os índices de resistividade (RI), pulsatilidade (PI) e diâmetro das artérias uterinas do corno gravídico (CG) e não gravídico (CNG). As avaliações eram realizadas em intervalos de 5 dias e diariamente com a redução do pH da secreção mamária < 7,0 e aparecimento de sinais físicos de proximidade do parto. Com o auxílio do software Statistix 10, os dados foram analisados por meio do teste ANOVA *one-way* para variáveis com distribuição normal e Kruskal-Wallis para aquelas sem distribuição normal quanto ao efeito do momento de avaliação e do grupo sobre os parâmetros analisados no parto, uma e duas semanas antes do parto. Os resultados foram expressos como média  $\pm$  desvio-padrão, com significância estatística fixada em  $p < 0,05$ . Ao total, 56 avaliações foram realizadas. Assim como o esperado, observou-se diferença significativa entre o dia do parto ( $5,7 \pm 0,5$ ) e uma ( $6,9 \pm 0,5$ ) e duas semanas pré-parto ( $7,5 \pm 0,5$ ) para os valores de pH. O momento e o tratamento não tiveram efeito dos índices e no diâmetro das artérias uterinas, identificando-se valores iguais ou muito próximos. Observaram-se valores de RI de  $0,67 \pm 0,1$  (no momento do parto),  $0,68 \pm 0,1$  (uma semana pré-parto) e  $0,66 \pm 0,1$  (duas semanas pré-parto) e valores de PI de  $1,58 \pm 0,4$  (no momento do parto),  $1,59 \pm 0,2$  (uma semana pré-parto) e  $1,58 \pm 0,3$  (duas semanas pré-parto) quando avaliado CG. Já para o CNG, para os mesmos momentos, notou-se RI de  $0,69 \pm 0,1$ ;  $0,69 \pm 0,1$ ; e  $0,66 \pm 0,3$ ; e PI de  $1,64 \pm 0,1$ ;  $1,61 \pm 0,2$ ; e  $1,58 \pm 0,3$ . Ainda, o diâmetro da artéria uterina de CG e CNG também não diferiu entre momentos

e grupos distintos. A constância dos índices de resistividade e pulsatilidade ao longo das avaliações sugere que as adaptações vasculares uterinas próximas ao parto seguem um padrão fisiológico, independentemente da administração hormonal, possivelmente devido a mecanismos compensatórios intrínsecos. A redução do pH mamário reforça sua utilidade como marcador da proximidade do parto, ao contrário das variáveis hemodinâmicas uterinas.

**Palavras-chave:** Índice de resistividade. Secreção mamária. Índice de pulsatilidade. Proximidade do parto.

**Agradecimentos:** Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS), pelo auxílio à pesquisa e concessão de bolsa de mestrado e iniciação científica.

**Comissão de Ética:** CEEA nº 8245-2015.