

Número de submissão 1552

Alterações da nutrição materna no início da gestação de vacas Nelore modifica o transcriptoma ovariano fetal
 Heni Falcão da Costa¹; Maria Carolina Villani Miguel²; Alexandre Mendonça Pedrosa³; Flavia Lombardi Lopes²; Juliana Regina Peiró²; Guilherme Paula Nogueira²

1.Laboratório Biovet, Vargem Grande Paulista, SP, Brasil; 2.FMV-UNESP, Araçatuba, SP, Brasil; 3.Cargil Nutrição Animal, Piracicaba, SP, Brasil.

Influências ambientais como a restrição nutricional durante o início da gestação de vacas podem impactar no desenvolvimento fetal e comprometer funções na vida adulta. Durante o primeiro trimestre da gestação ocorre a formação das gônadas, sendo este um período crítico no desenvolvimento ovariano, como a diferenciação de oócitos, que precisam escapar de processos degenerativos para permanecerem nos ovários. Hipotetizamos que a restrição ou o excesso de nutrientes ingeridos por vacas durante os primeiros dias de gestação interfere no peso corporal, ovariano e transcriptoma dos fetos. Vinte e uma vacas Nelore (PC = 488±24 kg, ECC = 3,1±0,1) foram submetidas à IATF com sêmen sexado (fêmea) de um único touro e individualmente alocadas em diferentes dietas. A dieta do grupo controle (C) atendeu aos requerimentos de manutenção, e os grupos de alta (A) e baixa (B) a 180% ou 60% da manutenção, respectivamente. O peso corporal e o ECC foram mensurados semanalmente, a fim de ajustar a dieta dos animais individualmente. Aos 60 dias de gestação, oito fetos foram removidos por colpotomia (acesso via vaginal), pesados, tiveram seus ovários dissecados e pesados. Um ovário fetal (de cada par) foi sequenciado (pair-end reads – TrueSeq RNA Sample PrepGuide, HiScan 500 – Illumina, Inc., San Diego, CA, EUA). As amostras foram mapeadas contra o genoma *Bos taurus* (UMD3.1, masked version). O efeito do tratamento no peso ovariano e corporal fetal foi comparado por ANOVA (SAS 9.3, proc GLM). O peso ovariano fetal (média dos dois) foi menor no grupo B ($p < 0,04$, $0,007 \pm 0,001$ g) que em ambos os grupos A ($0,02 \pm 0,04$ g) e C ($0,013 \pm 0,007$ g) que não diferiram entre si ($p > 0,08$). O peso fetal no grupo B foi menor ($p < 0,006$; $12,8 \pm 1,14$ g) que nos grupos A ($20,56 \pm 2,2$ g) e C ($20,03 \pm 0,8$ g). O status de nutrição materna durante os primeiros 60 dias de gestação modificou o transcriptoma ovariano fetal. Houve diferença no padrão de expressão gênica entre os grupos controle, alta e baixa ingestão. Um total de 79 genes de 20.657 foram diferencialmente expressos entre os tratamentos (FDR 0,05), sendo alguns relacionados ao desenvolvimento embrionário e ovariano. Assim, concluímos que alterações da nutrição materna durante os primeiros 60 dias de gestação poderão modificar o perfil transcriptômico ovariano fetal. A subnutrição materna pode prejudicar o peso e transcriptoma ovariano, sugerindo impacto na população folicular ovariana. Logo, o comprometimento do desenvolvimento no início da meiose pode reduzir o número de oócitos nas fêmeas.

Agradecimentos: FAPESP 2011/50839-1; CNPq 487036/2013-3, CAPES.

Palavras-chave: Nutrição; ovário; oócito

SBTE 190 Embriologia, biologia do desenvolvimento e fisiologia da reprodução

Número de submissão 1557

Efeitos do uso de moduladores de AMPC durante a pré-maturação *in vitro* de oócitos bovinos sobre as junções comunicantes e o potencial de desenvolvimento embrionário

Naiara Zoccal Saraiva¹; Clara Slade Oliveira²; Maite Del Collado³; Marina Ragagnin Lima⁴; Simone Cristina Méo⁵; Marivaldo Rodrigues Figueiró¹; Roberta Vantini⁴; Joaquim Mansano Garcia⁴

1.EMBRAPA Amazônia Oriental, Belém, PA, Brasil; 2.EMBRAPA Gado de Leite, Valença, RJ, Brasil; 3.FZEA – USP, Pirassununga, SP, Brasil; 4.FCAV - UNESP, Jaboticabal, SP, Brasil; 5.EMBRAPA Pecuária Sudeste, São Carlos, SP, Brasil.

A maturação *in vitro* oocitária é fundamentalmente limitada pela qualidade do oócito, ou seja, pela competência de desenvolvimento intrínseca dessa estrutura. O presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos provocados pela adição de moduladores de AMPC durante a MIV de oócitos bovinos no chamado sistema SPOM (*simulated physiological oocyte maturation*), verificando o “status” de comunicação entre os oócitos e células do *cumulus* por meio das junções comunicantes tipo “gap” (JCG), e o desenvolvimento embrionário inicial a partir de estruturas submetidas a esses moduladores, buscando reflexos positivos desse sistema sobre a competência oocitária. Oócitos foram maturados *in vitro* em meio TCM 199 suplementado com 10% de SFB, sendo submetidos nos grupos tratados a 100 μ M ou 150 μ M de forskolina e 750 μ M de IBMX nas primeiras 2 h de cultivo. Posteriormente, os oócitos foram transferidos para meio base suplementado com 20 μ M de cilostamide. Para avaliar o nível de conexão entre o oócito e as células do *cumulus*, foi medida a transferência do corante calceína AM pelas JCG, de acordo com protocolo descrito por Thomas et al. (Biol. Reprod., 70, 548-556). A emissão de fluorescência intra-oocitária foi medida com auxílio de microscópio de fluorescência, sendo as imagens capturadas por câmera fotográfica e analisadas no programa ImageJ. Oócitos advindos dos mesmos tratamentos também foram submetidos aos procedimentos de FIV em meio TALP e de CIV em meio SOFaa com 6 mg/mL de BSA e 2,5% de SFB, avaliando-se o desenvolvimento embrionário inicial. As análises foram realizadas no programa GraphPad InStat 6.01, sendo os resultados de fluorescência submetidos à ANOVA e as médias comparadas pelo teste de Tukey, e as proporções de embriões clivados e de blastocistos avaliadas pelo teste Qui-Quadrado (χ^2). O processo de MIV provocou aumento significativo ($p < 0,05$) na intensidade de fluorescência das JCG em todos os grupos, sendo as médias superiores nos grupos tratados com moduladores de AMPC. Não houve diferença entre os grupos 100/750 e 150/750. Quanto ao desenvolvimento pré-implantacional, constatamos que os tratamentos influenciaram negativamente nas taxas de clivagem

(controle - 585/677 (86,4)^a; 100/750 - 542/663 (81,7)^b; 150/750 - 558/688 (81,1)^b). Quando a proporção de blastocistos (D8) foi calculada pelo número total de oócitos, não verificamos diferenças significativas entre os grupos (35,2 a 37,9%). Porém, quando as proporções foram calculadas a partir dos embriões clivados, verificamos superioridade dos grupos 100/750 (53,3)^a e 150/750 (48,8%)^a em comparação ao grupo controle (38,9%)^b. Assim, concluímos que o uso de moduladores de AMPc durante a MIV provoca efeitos inibitórios ou retardantes sobre as primeiras clivagens, porém, estimulatórios nas estruturas que conseguem ultrapassar a fase de bloqueio inicial. Ainda, os moduladores de AMPc provocaram aumento considerável das JCG durante a MIV.

Apoio financeiro: FAPESP 2010/20744-6 e 2011/12983-3

Palavras-chave: Pré-maturação; moduladores de AMPc; competência oocitária

SBTE 191 Embriologia, biologia do desenvolvimento e fisiologia da reprodução
Número de submissão 1560

Histologia e morfometria de cornos uterinos de cadelas nulíparas e múltíparas

Mariana Paganini Lourencini¹; Jose Leonardo Gualberto Ramos²; Jacymara Dutra Santos¹; Larissa Marchiori Sena¹; Leticia Leal Oliveira¹; Carla Braga Martins¹

1. Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, ES, Brasil; 2. Universidade Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos, RJ, Brasil.

Diversos são os estudos sobre as características histológicas encontradas nas diferentes fases do ciclo estral na espécie canina, entretanto, existem poucas publicações sobre as mudanças no sistema reprodutor feminino relacionadas à involução uterina pós gestacional, seus mecanismos e se há uma resposta eficiente, principalmente uterina, quanto ao seu formato, tamanho, volume e reepitelização. Sabe-se que o útero é composto por três camadas principais: o endométrio, miométrio e perimétrio e todas essas camadas sofrem alterações durante a gestação para permitir o crescimento e desenvolvimento fetal. Devido a sucessivas gestações, muitas patologias uterinas ocorrem principalmente por mudanças nessas camadas, como relaxamento miometrial, hiperplasia glandular, endométrio irregular e esclerose de vasos uterinos (AUGSBURGER; KURZI, 2004; MONTEIRO et al., 2009). Com base na escassez de informações e pesquisas sobre as possíveis alterações encontradas em cornos uterinos de cadelas nulíparas e múltíparas, o presente estudo objetivou avaliar a presença de variações histológicas e morfométricas que podem ocorrer nesse órgão entre os grupos citados. Avaliou-se os cornos uterinos direito e esquerdo de 13 cadelas, de raças e idades variadas, sendo 7 nulíparas e 6 múltíparas. Após ovariosalpingohisterectomia (OSH), foram colhidos fragmentos individualizados na porção cranial, medial e caudal em relação ao ovário de cada corno uterino com, aproximadamente, 0,5 cm de comprimento para avaliação histológica e histomorfométrica da espessura total da parede uterina (μm), endométrio total (μm), diâmetro das glândulas endometriais (μm) e altura do epitélio glandular (μm), espessura total do miométrio (μm), miométrio interno, externo e estrato vascular (μm). De acordo com a avaliação dos cortes histológicos de ovários e úteros, foi possível estimar a fase do ciclo reprodutivo em que os animais se encontravam por meio da visualização das estruturas presentes nos ovários, espessura e características dos cornos uterinos, em adição ao histórico reprodutivo descrito pelos proprietários. Dessa forma, observou-se que nove animais estavam em diestro, dois em estro e dois em proestro. As médias entre os dois grupos foram comparadas pelo teste t de Student a nível de 5% significância. As estruturas mensuradas não apresentaram diferenças significativas, exceto em miométrio interno nos segmentos medial esquerdo e caudal direito. Essa diferença pode ser explicada pela interferência dos hormônios reprodutivos do ciclo estral sobre o miométrio, o qual se altera de acordo com cada fase. Diante dos resultados obtidos no presente trabalho pode-se concluir que os cornos uterinos de cadelas nulíparas e múltíparas são similares histologicamente e histomorfometricamente. A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética para Uso de Animais em Experimentação (CEUA), da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), campus Alegre, protocolo número 052/2014.

Palavras-chave: Caninos; histomorfometria; útero

SBTE 192 Embriologia, biologia do desenvolvimento e fisiologia da reprodução
Número de submissão 1566

Efeito de diferentes doses de ácido fólico no cultivo *in vitro* de embriões bovinos

Ana Luiza Silva Guimarães¹; Margot Alves Nunes Dode²

1. Universidade de Brasília, Brasília, DF, Brasil; 2. EMBRAPA Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF, Brasil.

Espécies reativas de oxigênio (ROS) são acumuladas durante o desenvolvimento embrionário em resposta ao estresse oxidativo que ocorre durante o cultivo *in vitro*. A presença de ROS intracelular pode induzir o mecanismo de apoptose e, como consequência, comprometer o desenvolvimento do embrião. Estudos tem demonstrado que a suplementação de antioxidantes no meio de cultivo pode diminuir o processo de estresse ao qual o embrião é submetido (Kim et al., Mol. Rep. Dev. 76: 120-125. 2009; Koyama et al., Rep. Dom. Anim. 47:921-927. 2012). Considerando que o ácido fólico está presente no ambiente folicular e uterino em mamíferos e possui propriedades que protegem a célula contra o estresse oxidativo, levantou-se a hipótese de que o mesmo tem efeito positivo no embrião e pode melhorar os resultados da PIV. O presente estudo objetivou avaliar a suplementação de diferentes doses de ácido fólico no cultivo *in vitro* de embriões bovinos e seu