

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

JAYNE KELLY SANTOS

**RELAÇÃO DO ESCORE DE CONDIÇÃO CORPORAL COM FATORES
REPRODUTIVOS EM VACAS SEM RAÇA DEFINIDA DO BREJO PARAIBANO**

AREIA

2021

JAYNE KELLY SANTOS

**RELAÇÃO DO ESCORE DE CONDIÇÃO CORPORAL COM FATORES
REPRODUTIVOS EM VACAS SEM RAÇA DEFINIDA DO BREJO PARAIBANO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal da Paraíba, como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Ciência Animal.
Orientador: Prof. Dr. Ricardo Romão Guerra

AREIA

2021

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

S237r Santos, Jayne Kelly.

Relação do escore de condição corporal com fatores reprodutivos em vacas sem raça definida do Brejo paraibano / Jayne Kelly Santos. - Areia:UFPB/CCA, 2021. 44 f. : il.

Orientação: Ricardo Romão Guerra.
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCA.

1. Ciência Animal. 2. Bovinos. 3. Nutrição. 4. Reprodução. I. Guerra, Ricardo Romão. II. Título.

UFPB/CCA-AREIA

CDU 636.09(043.3)

JAYNE KELLY SANTOS

**RELAÇÃO DA CONDIÇÃO DE ESCORE CORPORAL COM FATORES
REPRODUTIVOS EM VACAS SEM RAÇA DEFINIDA DO BREJO PARAIBANO.**

Dissertação apresentada ao Programa de PósGraduação em Ciência Animal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal. Área de Concentração Saúde Animal no Brejo Paraibano.

APROVADA EM 30/03/2021

BANCA EXAMINADORA



Dr. RICARDO ROMÃO GUERRA

UFPB

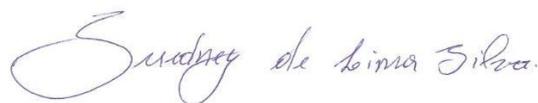
Orientador



Dra. SILDIVANE VALCÁCIA SILVA

UFPB

Examinadora



Dr. SUEDNEY DE LIMA SILVA

UFPB

Examinador

RESUMO

A condição física do animal tem uma significativa influência na fisiologia reprodutiva, sendo assim, pode-se afirmar que a nutrição está diretamente ligada à reprodução. Uma forma de avaliar a condição física de bovinos é através do método de escore de condição corporal (ECC). Sendo assim, objetivou-se demonstrar a interação entre os parâmetros ECC, qualidade de ovócito, diâmetro ovariano e folicular, quantidade de folículos terciários e integridade de membrana de ovócitos de qualidade grau I, em vacas sem raça definida. Foram utilizadas 50 vacas mestiças, classificadas de acordo com seu ECC (1-5), coletados seus respectivos ovários, que foram analisados quanto ao número de folículos, e o diâmetro do ovariano e dos folículos. Na sequência, classificou-se o ovócito quanto à qualidade (quantificação de células do *cumulus oophorus*; I-IV) e à viabilidade celular (integridade de membrana, por iodeto de propídio). Obteve-se resultado não significativo entre os escores corporais no desempenho reprodutivo, contudo, animais com ECC 4 apresentaram maior diâmetro folicular dominante, e ECC2 obtiveram maior quantidade de oócitos classificados com grau IV, considerando a necessidade de novos estudos com animais que apresentem a mesma idade e mesma fase estral. Ao avaliar a integridade membranar, 58% dos ovócitos classificados como grau I possuíam lesão de membrana, concluindo que apenas a avaliação estereoscópica não é suficiente para garantir a total viabilidade para utilização de biotécnicas reprodutivas.

Palavras-chave: bovinos; ECC; nutrição; reprodução.

ABSTRACT

The physical condition of the animal has a significant influence on reproductive physiology, so it can be said that nutrition is directly linked to reproduction. One way to assess the physical condition of cattle is through the method of body condition score (ECC). Thus, the objective was to demonstrate the interaction between ECC parameters, oocyte quality, ovarian and follicular diameter, quantity of tertiary follicles and integrity of grade I quality oocyte membrane, in mixed breed cows. Fifty crossbred cows were used, classified according to their ECC (1-5), their respective ovaries were collected, which were analyzed for the number of follicles, and the diameter of the ovarian and follicles. Then, the oocyte was classified according to quality (quantification of cumulus oophorus cells; I-IV) and cell viability (membrane integrity, by propidium iodide). Non-significant results were obtained between body scores in reproductive performance, however, animals with ECC 4 had a greater dominant follicular diameter, and ECC2 obtained a greater amount of oocytes classified as grade IV, considering the need for further studies with animals that present the same age and same estrous phase. When assessing membrane integrity, 58% of oocytes classified as grade I had a membrane lesion, concluding that stereoscopic evaluation alone is not enough to guarantee total viability for the use of reproductive biotechniques.

Keywords: bovine; ECC; nutrition; reproduction.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	7
2 REFERENCIAL TEÓRICO	8
2.1 Características do Ciclo Estral em Vacas.....	8
2.2 O Sistema de Escore de Condição Corporal.....	10
2.3 Relação do ECC e o Desenvolvimento Reprodutivo.....	14
2.4 Relação do Balanço Energético Negativo na Atividade Ovariana.....	15
2.5 Uso de Iodeto de Propídio para Integridade de Membrana Celular.....	16
3 MATERIAIS E MÉTODOS	17
4 RESULTADO E DISCUSSÃO	18
5 CONCLUSÃO	22
6 BIBLIOGRAFIA	23

1 INTRODUÇÃO

É de suma importância para o produtor o desempenho reprodutivo do seu rebanho, onde, nos rebanhos de cria, a produtividade está diretamente relacionada à eficiência reprodutiva das fêmeas, constituindo assim grande importância o acompanhamento da anatomia e fisiologia dos animais (BERTAN et al., 2006).

Nesse sentido, os ovários possuem tanto função exócrina (liberação de oócitos), quanto endócrina (produção dos hormônios esteroides, estradiol e progesterona, e dos hormônios proteicos, relaxina, inibina, ativina e folistatina). Com relação à biometria, apresentam em bovinos muita variabilidade, possuindo geralmente formato de amêndoas, peso ao redor de 15 a 20 gramas, 4 cm de comprimento e 2,5 cm de largura (PANSANI; BELTRAN, 2009). Os oócitos liberados pelos ovários são qualificados como bons de acordo com a sua capacidade de desenvolver um embrião. Estudiosos vêm tentando entender o sistema reprodutivo de fêmeas através da manipulação do desenvolvimento folicular, na esperança de produzir mais oócitos competentes para a fecundação (BLONDIN; SIRARD, 1995).

Devido a essa variação da função ovariana, a condição física do animal tem uma significativa influência nessa fisiologia. Uma forma de avaliar as reservas corporais é utilizando o escore de condição corporal (ECC) que se baseia na inspeção (observação visual) e palpação de algumas regiões do corpo do animal, para verificação do conteúdo de massa muscular e gordura subcutânea (MACHADO, et al. 2008). O acompanhamento das mudanças no ECC e no peso vivo de forma geral, fornece informações sobre o potencial reprodutivo das vacas (DUNN; MOSS, 1992).

A influência do ECC no desempenho reprodutivo de vacas leiteiras em relação às parições existe, sendo necessário para se obter uma boa parição, vacas parindo com ECC variando de 3 a 3,5 (escala de 1 a 5) (BENEDETTI; SILVA, 1997). Sabe-se ainda, que vacas holandesas com ECC próximo a 3,5 apresentam melhores condições de uma maior produção leiteira, bem como de seus componentes (RENNÓ et al., 2006).

Relacionado a morfologia reprodutiva, o principal motivo dos avanços tecnológicos na inseminação artificial é em grande parte devido a estudos relacionados ao diâmetro folicular. Uma vez que a presença de um folículo de maior diâmetro no momento da inseminação é um indicador de melhor resposta ovariana e maior taxa de concepção de fêmeas *Bos taurus indicus* submetidas a programas de inseminação artificial em tempo fixo (GONÇALVES et al., 2014).

A quantidade de embriões produzidos de ovócitos maturados *in vitro* ainda é inferior quando comparados aos produzidos *in vivo*, e uma das causas está relacionada à qualidade do

ovócito. Segundo Caixeta e Dode (2010), apenas ovócitos competentes são capazes de sofrer a fecundação, ter desenvolvimento embrionário normal e resultar em gestação. Em vista disso, o sucesso de um embrião depende de ovócitos competentes advindos de mecanismos de aquisições eficientes.

Partindo dos pressupostos supracitados o propósito do presente estudo é abordar a relação do ECC com a qualidade de ovócito, quantidade de folículos terciários e tamanho de diâmetro folicular e ovariano, assim como, a viabilidade da membrana de ovócitos considerados de boa qualidade, em vacas sem raça definida, para avaliar se existe influência do valor de ECC no desempenho reprodutivo em vacas SRD e se os ovócitos obtidos por aspiração folicular encontra-se em viabilidade para utilização em biotécnicas reprodutivas, podendo então auxiliar no sucesso da escolha para ovócitos de boa qualidade para biotécnicas como FIV (Fertilização *in vitro*) e PIVE (Produção *in vitro* de embriões).

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Características do Ciclo Estral em Vacas

Diversos fatores podem interferir no ciclo estral das vacas. Dentre eles, podemos destacar o manejo nutricional, manejo sanitário, a genética e também questões fisiológicas e fatores ambientais, como a eficiência na detecção de estro, idade e lactação, condição corporal, problemas de parto e doenças metabólicas (SANTOS et al., 2010).

O sistema de criação de gado no Brasil, principalmente a forma extensiva, é diretamente influenciada pelo clima, resultando em índices reprodutivos inferiores. McManaus et al. (2002) relatam que devido às condições naturais, o rebanho brasileiro apresenta o que se chama de tolerância ao ambiente tropical, numa adaptação durante a qual se perdeu qualidade produtiva. Este aspecto pode ser comprovado ao se observar a baixa taxa de desfrute do rebanho brasileiro, que se deve aos baixos índices produtivos e reprodutivos de nossa pecuária.

Segundo Pansani; Beltran (2009), as fêmeas bovinas possuem ovários que tem função exócrina, liberando ovócitos, e endócrina, na produção de hormônios; ovidutos, na qual ocorre a fecundação; útero, que tem função de abrigar o embrião e posteriormente o feto, fornecendo proteção e nutrição adequada para seu desenvolvimento, além do transporte de espermatozoide e participação na regulação da função do corpo lúteo; cérvix, que realiza a seleção e o reservatório de espermatozoides viáveis, além de conferir proteção para o ambiente uterino

durante a gestação; vagina, que é o órgão copulatório; vestíbulo e vulva, que realiza o fechamento da genitália externa.

De acordo com Valle (1991), podemos dividir o ciclo das vacas em duas grandes fases, a fase folicular e a fase luteínica. A fase folicular pode ser subdividida em proestro e estro, a fase luteínica pode ser subdividida em metaestro e diestro.

O período de proestro, ou fase estrogênica (PANSANI; BELTRAN, 2009) tem duração de dois à três dias, e ocorre o declínio de progesterona, devido a luteólise e aumento dos níveis de estradiol no sangue, devido o desenvolvimento folicular. Nessa fase, a liberação do GnRH pelo hipotálamo estimula a secreção de FSH e LH da glândula pituitária. Os elevados níveis de FSH no sangue induzem o desenvolvimento dos folículos e, em sinergismo com o LH, estimulam a sua maturação. À medida que o folículo se desenvolve, aumenta a produção de estradiol pelos folículos, e após uma determinada concentração, o estradiol estimula a manifestação do cio e a liberação massiva do LH, dando início à segunda fase (VALLE, 1991). No período de estro, que também constitui uma fase estrogênica (PANSANI; BELTRAN, 2009), a ocorrência de elevados níveis de estradiol, além de induzirem a manifestação do cio, são também responsáveis pela dilatação da cérvix, síntese e secreção do muco vaginal e o transporte dos espermatozoides no trato reprodutivo feminino. Durante o período de manifestação do cio, a vaca ou novilha fica inquieta, monta e deixa-se montar por outras vacas, reduz o apetite, diminui a produção de leite e apresenta corrimento muco vaginal claro e viscoso. A vulva e a vagina apresentam-se intumescidas e avermelhadas devido à elevada irrigação sanguínea. No entanto, o melhor sinal de manifestação do cio é quando se deixa montar por outra vaca, touro ou rufião (VALLE, 1991).

No metaestro, fase progesterônica (PANSANI; BELTRAN, 2009), a fêmea já não aceita a monta, porém, é nesse período que ocorre a ovulação nos bovinos (AZEVEDO, 2006). Essa fase tem duração de dois a três dias, tendo como característica principal a ovulação, que é a liberação do ovócito pelo folículo. Em bovinos, a ovulação ocorre geralmente de 12 a 16 horas após o término do cio. Após a ruptura do folículo, o óvulo é transportado para o local de fertilização, que é a porção média do oviduto, e as células da parede interna do folículo que restaram no ovário se multiplicam dando origem a uma nova estrutura, denominada corpo lúteo ou corpo amarelo (VALLE, 1991). Após o metaestro, a fêmea entra em inatividade sexual ou diestro, fase progesterônica (PANSANI; BELTRAN, 2009). Segundo Valle (1991), esse é o período em que o corpo lúteo passa a ser funcional, representado pela síntese e liberação de elevados níveis de progesterona, além disso, é o de maior duração, aproximadamente 15 dias. No final dessa fase, caso não haja gestação, o ovário começa a sofrer influência hormonal,

ocorrendo a regressão do corpo lúteo, e dando início a novo ciclo estral. Caso tenha ocorrido fertilização, a fêmea torna-se gestante (EMBRAPA, 2006).

2.2 O Sistema de Escore de Condição Corporal

A criação de grandes ruminantes, de uma forma geral, seja ela intensiva ou extensiva, acarretou a necessidade de uma avaliação das carcaças geradas pelos animais com intuito de averiguar se o manejo encontra-se adequado. Sendo assim, resolveu-se esta problemática de forma prática e barata. Segundo Machado et al. (2008), o índice de escore de condição corporal (ECC) nada mais é do que uma estimativa do estado nutricional dos animais por meio de avaliação tátil e/ou visual em função da cobertura muscular e da massa de gordura.

O ECC é o resultado do balanço energético, ou seja, a diferença entre o consumo e o gasto de energia. Diversos fatores podem afetar o ECC, tais como, a intensidade e frequência de trabalho, problemas parasitários e dentários, disponibilidade de água e manejo nutricional (RODRIGUES, 2009).

O peso corporal do animal é o melhor indicador do estado fisiológico e de todos os sistemas orgânicos, mostrando assim a grande importância de uma boa avaliação da condição corporal. Essa avaliação é uma medida que se atribui valores numéricos de acordo com a quantidade de gordura e músculos em determinadas regiões do corpo associadas à protuberâncias ósseas sendo elas: costelas, processos espinhosos da coluna vertebral, processos transversos da coluna vertebral, vazão, ponta de íleo, base da cauda, sacro e vértebras lombares (MACHADO et al., 2008).

As escalas numéricas são divididas em bovinos de corte e bovinos de leite; em bovino de corte são utilizadas duas escalas, uma que vai de 1 à 5 (Quadro 1) e outra de 1 à 9 (Quadro 2).

Quadro 1. Escores de condição corporal em bovinos de corte (escala de 1 a 5) segundo Machado et al. (2008)

Escore	Avaliação
1 Caquético ou emaciado	Os processos transversos e os processos espinhosos estão proeminentes e visíveis. Há total visibilidade das costelas, a cauda está totalmente inclusa dentro do coxal e os íleos e os ísquios mostram-se expostos. Há atrofia muscular pronunciada e é como se houvesse a visão direta do esqueleto do animal (aparência de "pele e osso").
2 Magro	Os ossos estão bastante salientes, com certa proeminência dos processos dorsais e dos íleos e dos ísquios. As costelas têm pouca cobertura, os processos transversos permanecem visíveis e a cauda está menos inclusa nos coxais (aparência mais alta). A pele está firmemente aderida no corpo (pele esticada).
3 Médio ou ideal	Há suave cobertura muscular com grupos de músculos à vista. Os processos dorsais estão pouco visíveis; as costelas, quase cobertas; e os processos transversos, pouco aparentes. Ainda não há camadas de gordura; a superfície do corpo está macia e a pele está flexível (pode ser levantada com facilidade).
4 Gordo	Há boa cobertura muscular, com alguma deposição de gordura na inserção da cauda. As costelas e os processos transversos estão completamente cobertos. As regiões individuais do corpo ainda são bem definidas, embora as partes angulares do esqueleto pareçam menos identificáveis.
5 Obeso	Todos os ângulos do corpo estão cobertos, incluindo as partes salientes do esqueleto, onde aparecem camadas de gordura (base da cauda e maçã do peito). As partes individuais do corpo ficam mais difíceis de ser distinguidas e o animal tem aparência arredondada. Este estado só é aceitável para animais terminados, prontos para o abate.

Quadro 2. Escores de condição corporal em bovinos de corte (escala de 1 a 9) segundo Spitzer et al. (1986).

Escore	Avaliação
1 Debilitada	A vaca está extremamente magra, sem nenhuma gordura detectável sobre os processos vertebrais espinhosos e os processos transversos, e sobre os ossos da bacia e as costelas. A inserção da cauda e as costelas estão bastante proeminentes.
2 Pobre	A vaca ainda está muito magra, mas a inserção da cauda e as costelas estão menos projetadas. Os processos espinhosos continuam proeminentes, mas nota-se alguma cobertura de tecido sobre a coluna vertebral.
3 Magra	As costelas ainda estão individualmente perceptíveis, mas não tão agudas ao toque. Existe gordura palpável sobre a espinha, sobre a inserção da cauda e alguma cobertura sobre os ossos da bacia.
4 Limite	A individualização das costelas é menos óbvia. Os processos espinhosos podem ser identificados com o toque, mas percebe-se que estão mais arredondados. Existe um pouco de gordura sobre as costelas, sobre os processos transversos e sobre os ossos da bacia.
5 Moderada	O animal possui boa aparência geral. A gordura sobre as costelas parece esponjosa à palpação e as áreas nos dois lados da inserção da cauda apresentam gordura palpável.
6 Moderada boa	É preciso aplicar pressão firme sobre a espinha para sentir os processos espinhosos. Há bastante gordura palpável sobre as costelas e ao redor da inserção da cauda.
7 Boa	A vaca tem aparência gorda e claramente carrega grande quantidade de gordura. Sobre as costelas sente-se uma cobertura esponjosa evidente e também ao redor da inserção da cauda. Começam a aparecer "cintos" e "bolas" de gordura. Nota-se alguma gordura ao redor da vulva e na virilha.
8 Gorda	A vaca está muito gorda. É quase impossível palpar os processos espinhosos. O animal possui grandes depósitos de gordura sobre as costelas, na inserção de cauda e abaixo da vulva. Os "cintos" e as "bolas" de gordura são evidentes.

9 Extremamente gorda	A vaca está nitidamente obesa, com a aparência de um bloco. Os "cintos" e as "bolas" de gordura estão projetados. A estrutura óssea não está
	muito aparente e é difícil de senti-la. A mobilidade do animal está comprometida pelo excesso de gordura.

Em bovinos de leite a escala varia de 1 à 5, na qual 1 caracteriza vacas muito magras e 5 para vacas muito gordas. (Quadro 3).

Quadro 3. Escores de condição corporal em bovinos de leite (escala de 1 a 5).

Escore	Avaliação
1 Muito magra	Caracterizado por cavidade profunda na região de inserção da cauda, costelas e ossos da pélvis (bacia) pronunciados e facilmente palpáveis, ausência de tecido gorduroso na pélvis ou na área do lombo e profunda depressão na região do lombo.
2 Magra	Caracterizado por cavidade rasa ao redor da inserção da cauda, pélvis facilmente palpável, extremidades das costelas mais posteriores arredondadas e superfícies sentidas com ligeira pressão, e depressão visível na área do lombo.
3 Intermediário	Caracterizado por ausência de cavidade, mas presença de gordura na inserção da cauda, pélvis palpável com ligeira pressão, camada de tecido sobre a parte superior das costelas, sentidas sob pressão, e ligeira depressão no lombo.
4 Gordas	Caracterizado por pregas de gordura visíveis na inserção da cauda e pequenas porções de gordura sobre os ísquios, pélvis sentida somente com pressão firme, costelas mais posteriores não palpáveis e ausência de depressão no lombo.
5 Muito gorda	Caracterizado por inserção da cauda imersa em camada espessa de tecido adiposo, ossos pélvicos não mais palpáveis, nem mesmo com pressão firme, e costelas posteriores cobertas por espessa camada de tecido gorduroso.

Deve-se ter cuidado na hora da avaliação com fatores como: a raça, mês de gestação e treinamento do observador. Importante frisar que o ECC é mais importante que o próprio peso do animal, já que indica o status nutricional e pode auxiliar nas tomadas de decisão para

melhoria da condição nutricional individual ou do rebanho, como consequência auxiliando no manejo reprodutivo (NOGUEIRA et al., 2015).

2.3 Relação do ECC e o Desenvolvimento Reprodutivo

O escore de condição corporal é um sistema que vem auxiliando nos estudos quando se diz respeito à reprodução. Pryce et al. (2001) relataram que deve-se antes determinar um ECC para que se possa obter bons resultados e um maior controle de desempenho reprodutivo.

Segundo Benedetti; Silva (1997), uma vaca de produção menor pode ser mais eficiente do que uma de produção maior, quando a de produção menor tem uma parição regular e quando a de produção maior não tem um bom desempenho reprodutivo. Sendo assim, podemos concluir que uma boa nutrição influenciará diretamente na reprodução, e por isso deve-se obter bons resultados quando se diz respeito ao balanço energético tentando balancear ao máximo com boas reservas corporais devido seu efeito direto no retorno da atividade reprodutiva.

De acordo com Sartori; Guadieiro (2010), diversos estudos sobre a associação da nutrição com a fertilidade vêm mostrando alternativas para uma melhor suplementação à base de gordura com efeito na função reprodutiva de fêmeas de corte e leite. Fuston (2004) complementa que essa suplementação afeta positivamente a função reprodutiva em vários tecidos importantes da função reprodutiva como hipotálamo, pituitária, ovários e útero, representando uma forma comum de aumentar a densidade energética da dieta.

Dentre os inúmeros fatores envolvidos com a queda de fertilidade ou redução na qualidade embrionária em bovinos submetidos à alta ingestão alimentar, há dois que se destacam: o primeiro é animais com elevado ECC e o segundo é a decorrência da redução nas concentrações circulantes de hormônios esteroides (SARTORI; GUADIEIRO, 2010). O elevado ECC refere-se ao consumo de dietas ricas em energia que provoca redução da sensibilidade à insulina, que se caracteriza pela diminuição da entrada de glicose na célula, e a redução dos hormônios esteroides, são principalmente a progesterona e o estradiol que alteram na qualidade ovocitária, crescimento folicular e viabilidade embrionária (WESCHENFELDER, 2013).

2.4 Relação do Balanço Energético Negativo na Atividade Ovariana

Dentro dos componentes determinantes do *status* nutricional no gado em pastejo é importante avaliar a qualidade e quantidade dos compostos consumidos. No entanto, esta avaliação torna-se, às vezes, complexa por incluir parâmetros como digestibilidade, palatabilidade e conteúdo de nutrientes, entre outros, que podem variar em função das condições climáticas, que apresenta efeito direto sobre a vegetação e seus compostos (GONZÁLEZ et al., 2000).

O manejo nutricional correto de gado de corte ainda é bastante questionado Segundo Nogueira et al. (2015), o manejo nutricional está diretamente ligado aos fatores reprodutivos, desta forma, uma dieta adequada abrange diversos nutrientes como proteína, energia, vitaminas e minerais, os mesmos podem interferir no desempenho reprodutivo pelo seu excesso ou escassez.

O balanço energético é determinado pela diferença na ingestão de energia (determinada pela ingestão de alimento e densidade energética da dieta) e consumo de energia (necessárias para manutenção corporal, lactação, crescimento, gestação e atividade física) (FUCK et al., 2000). A energia é o nutriente de maior exigência pelos bovinos adultos e, portanto, o inadequado suprimento de energia tem um efeito negativo sobre a atividade reprodutiva da fêmea bovina. Vacas sob balanço energético negativo têm baixa glicose plasmática, insulina e IGF-1, frequências de pulso de LH reduzida, baixa progesterona plasmática e atividades ovarianas irregulares (FUCK et al., 2000).

Logo após uma parição, o animal demanda de processos metabólicos e endócrinos que resultam em distúrbios reprodutivos, pois o animal exige do organismo, como prioridade, a lactação para o neonato. Segundo Butler et al. (2003), no início da lactação, o animal passa por um período extenso de balanço energético negativo e durante esse período o consumo de energia chega a ser inferior às exigências energéticas.

Uma dieta não balanceada acarreta uma restrição energética e isso leva a perda de condição corporal. De acordo com Vieira (2012), essa restrição e perda associadas com aumento de concentrações de ácidos graxos não estratificados, glicose e insulina podem resultar em diminuições das concentrações de P4 (progesterona), diminuindo o desempenho reprodutivo.

Os mecanismos pelos quais as mudanças do balanço energético afetam a função reprodutiva não são consequências diretas do suprimento inadequado de nutrientes, mas ocorrem devido a ação de sinais metabólicos que regulam a função hipofisária e ovariana (FUCK et al, 2000).

Como o balanço energético negativo compromete a atividade ovariana, interferindo diretamente na qualidade do ovócito e na competência do folículo, vem sendo estudado como alternativa, a implantação de uma dieta rica em gordura, que tem como objetivo principal elevar a densidade de energia da dieta e melhorar os índices reprodutivos. Isto ocorre independentemente do fornecimento de energia por si só, pois tem efeito mesmo não alterando o estado corporal dos animais por modificações nos parâmetros fisiológicos ligados à reprodução (NOGUEIRA et al., 2015).

Como exemplos de altos liberadores de energia, maiores que os carboidratos como referência, podemos citar os óleos de soja e algodão. Segundo Nogueira et al. (2015), o lipídeo adicional aumenta a capacidade funcional do ovário, a vida útil do corpo lúteo e a concentração de progesterona, além da concentração de colesterol, que é precursor da progesterona, e promove maior crescimento folicular.

2.5 Uso do Iodeto de Propídio para Avaliação da Integridade de Membrana Celular

A membrana celular é a fronteira biológica que delimita o perímetro da célula, separando o meio intracelular do extracelular (MOREIRA, 2014). A sua integridade estrutural se deve às propriedades dos lipídeos constituintes, às proteínas, que são as principais responsáveis pela ocorrência da maioria dos processos dinâmicos, e aos carboidratos, esses desempenham importante papel nas interações entre células (STRYER et al., 2004).

Os lipídeos das membranas celulares desempenham funções biológicas, como moléculas alimentares, depósitos de energia altamente concentrados, e promovem a sua integridade estrutural (NELSON et al., 2009). As proteínas de membrana desempenham muitas funções, dentre elas: transportam nutrientes, metabólitos ou íons através da bicamada lipídica; atuam como receptores que detectam sinais químicos no meio ambiente da célula e os transmitem ao seu interior; e, ainda, catalisam reações específicas por meio de enzimas (STRYER et al., 2004). Os carboidratos, localizados no lado extracelular por meio de ligações com as proteínas e lipídeos de membrana, formam glicoproteínas e glicolipídeos, respectivamente, constituindo uma cobertura glicídica denominada de glicocálice. Dessa forma, ajudam a proteger a superfície celular contra lesões mecânicas e químicas, além de participarem da interação entre células (ALBERTS et al., 1998).

A integridade membranar é de extrema importância para sobrevivência celular, logo, para certificação de que a mesma encontra-se íntegra, pode-se testar através de corantes. Corantes fluorescentes são indicadores mais confiáveis da viabilidade celular do que os corantes mais tradicionais, sabe-se que os corantes brometo de etídio e iodeto de propídio passam apenas

pelas membranas das células mortas.(JONES & SENFT, 1985).O iodeto de propídio cora DNA e RNA dentro de células mortas ou com membranas danificadas reversivelmente, como o PI só pode entrar nas células com membranas comprometidas ligamse ao DNA e RNA emitindo um sinal fluorescente vermelho (ROSENBERG et al., 2019).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizadas 50 fêmeas bovinas sem raça definida do Matadouro Municipal da cidade de Esperança, as quais foram analisadas antes do abate para a classificação de escore de condição corporal (ECC) utilizando a metodologia de Machado et al. (2008) que atribui uma escala de 1 a 5, sendo escore 1 para vacas muito magras e 5 para vacas muito gordas.

Fêmeas com escore 1 e 5 não foram encontradas no matadouro devido a de escore 1 serem reprovadas para o abate e de ECC 5 serem encontrados apenas em machos castrados.

Após a classificação, as vacas foram encaminhadas para o abate, no qual os ovários foram imediatamente coletados diretamente da carcaça e logo identificados como direito e esquerdo, e armazenados em garrafa térmica com solução salina NaCl 0,9% estéril e aquecida a 37°C (AGOSTINHO,2009), sendo logo em seguida encaminhados para o Laboratório de Reprodução Animal da Universidade Federal da Paraíba, em tempo máximo de duas horas pós-morte. Como foram obtidos de fêmeas de matadouro, as mesmas possuíram fase do ciclo estral aleatória.

No laboratório os ovários foram lavados com solução salina NaCl 0,9% estéril, aquecida à 37°C e mantidos em banho-maria de 35°C à 37°C (AGOSTINHO,2009). Os tamanhos dos ovários foram mensurados com paquímetro eletrônico digital, assim como, foram observados os folículos visíveis, que foram quantificados e mensurados. Posteriormente, os folículos foram aspirados com agulha 40x12 mm acoplada em seringa de 10 mL (FERREIRA, 2008), e os oócitos obtidos foram transferidos para uma placa de Petri, com solução de NaCl a 0,9%.

Os ovócitos foram observados com lupa estereomicroscópica para classificação da qualidade de acordo com complexo cumulus-oócito (COC), que varia do Grau I ao IV, sendo Grau 1: *cumulus* compacto, sem alterações microscópicas visíveis e com mais de três camadas de células do *cumulus* envolvendo totalmente a zona pelúcida; Grau 2: constituído de até três camadas de células do *cumulus* envolvendo totalmente a zona pelúcida; Grau 3: ovócitos possuindo áreas da zona pelúcida totalmente desprovidas de células; e Grau 4: ovócitos desnudos, ou seja, desprovidos de células do *cumulus* (LEIBFRIED; FIRST, 1979).

Os ovócitos considerados grau I foram analisados por fluorescência para avaliação de integridade de membrana. Para tanto foi utilizado o iodeto de propídio (IP), que cora DNA e RNA dentro de células mortas ou com membranas danificadas reversivelmente. Como o PI só pode entrar nas células com membranas comprometidas ligam-se ao DNA e RNA emitindo um sinal fluorescente vermelho (ROSENBERG et al., 2019).

Para tanto, foi adicionado 10 µL de iodeto de propídio^a, (100 ug/mL) e os oócitos acrescidos a essa gota. A gota foi coberta com uma lamínula com cola de silicone nos quatro cantos para fixar o material à lâmina. As lâminas foram preparadas em ambiente escuro e a leitura foi realizada em microscópio de fluorescência^e (PONCHIROLI, 2006).

Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias em relação aos escores de condição corporal foram comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Os resultados foram expressos por média \pm desvio padrão. As análises foram realizadas com auxílio do software estatístico R[®] (CORE TEAM, 2018).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As fêmeas com ECC 2 totalizaram 14 animais, com ECC 3 totalizaram 24 animais e com ECC 4 12 fêmeas. Animais com ECC 1 e 5 não foram visualizados, pois animais com ECC1 são descartados para o abate e apenas machos castrados foram classificados com ECC 5. Tal ausência de dados não resultou em prejuízos na pesquisa, pois segundo Pryce et al. (2001), para um controle reprodutivo se deve antes determinar um ECC de boa qualidade e assim se obtém bons resultados, por isso animais com ECC1 (caquéticos) e ECC 5 (obesos) não tem participação significativa na reprodução.

Diante dos resultados obtidos considera-se que na região, a maioria dos animais abatidos é pertencente ao grupo ECC3, chamado de médio ou ideal, que se caracteriza pela suave cobertura muscular com grupos de músculos à vista, porém ainda sem camadas de gordura; a superfície do corpo é macia e a pele está flexível podendo ser levantada com facilidade (MACHADO, 2008).

Os resultados obtidos pela avaliação dos ovários, não demonstrou significância estatística, os valores obtidos foram próximos dentre dos diferentes ECC encontrados (Tabelas 1 e 2).

Tabela 1. Indicadores de qualidade dos ovários direito e esquerdo de vacas sem raça definida em função do escore de condição corporal (ECC), no abatedouro de Esperança, Paraíba

Variáveis	ECC2	ECC3	ECC4	Média geral±DP
<i>Ovário direito</i>				
Diâmetro do ovário (cm)	2,94 a	2,93 a	3,20 a	2,99±0,68
Número de folículos	6,64 a	7,75 a	7,42 a	7,36±6,33
Número de folículos com diâmetro <0,5 cm	6,50 a	7,08 a	6,50 a	6,78±6,55
Número de folículos com diâmetro ≥0,5 e <1 cm	0,14 a	0,54 a	0,92 a	0,52±0,91
Número de folículos com diâmetro > 1 cm	0,00 a	0,13 a	0,00 a	0,06±0,24
Diâmetro do folículo dominante (cm)	0,41 b	0,43 b	0,66 a	0,48±0,25
<i>Ovário esquerdo</i>				
Diâmetro do ovário (cm)	2,39 a	2,64 a	2,85 a	2,62±0,51
Número de folículos	6,36 a	6,79 a	6,50 a	6,60±2,88
Número de folículos com diâmetro <0,5 cm	5,71 a	5,83 a	6,17 a	5,88±3,07
Número de folículos com diâmetro ≥0,5 e <1 cm	0,50 a	0,83 a	0,33 a	0,62±0,75
Número de folículos com diâmetro > 1 cm	0,14 a	0,13 a	0,00 a	0,10±0,30
Diâmetro do folículo dominante (cm)	0,53 a	0,60 a	0,40 a	0,53±0,25

Valores são médias aritméticas. DP = desvio padrão. Médias seguidas de mesma letra, na linha, não diferem entre si de acordo com o teste de Tukey em até 5% de probabilidade.

Tabela 2. Classificação dos ovócitos de acordo com complexo *cumulus*-oócito, dos ovários direito e esquerdo de vacas sem raça definida, em função do escore de condição corporal (ECC) no abatedouro de Esperança, Paraíba

Classes	ECC2	ECC3	ECC4	Média geral±DP
<i>Ovário direito</i> Grau				
I	1,07 a	3,79 a	3,42 a	2,94±3,65
Grau II	1,43 a	3,04 a	2,08 a	2,36±2,17
Grau III	1,43 a	0,75 a	1,25 a	1,06±1,54
Grau IV	1,21 a	0,25 b	0,67 ab	0,62±0,92
<i>Ovário esquerdo</i>				
Grau I	1,29 b	3,46 a	2,75 ab	2,68±2,37
Grau II	0,93 a	2,00 a	1,25 a	1,52±1,49
Grau III	1,00 a	0,88 a	1,25 a	1,00±1,29
Grau IV	1,71 a	0,38 b	0,75 ab	0,84±1,43

Valores são médias aritméticas do número de ovócitos. DP = desvio padrão. Médias seguidas de mesma letra, na linha, não diferem entre si de acordo com o teste de Tukey em até 5% de probabilidade. Grau I: *cumulus* compacto, sem alterações microscópicas visíveis e com mais de três camadas de células do *cumulus* envolvendo totalmente a zona pelúcida; Grau II: constituído de até três camadas de células do *cumulus* envolvendo totalmente a zona pelúcida; Grau III: ovócitos possuindo áreas da zona pelúcida totalmente desprovida de células; e Grau IV: ovócitos desnudos, ou seja, desprovidos de células do *cumulus*.

Animais com ECC 4 apresentaram maior diâmetro folicular dominante, sendo esses mais indicados como escolha para concepção. Segundo JANINI (2020), a alta concentração de

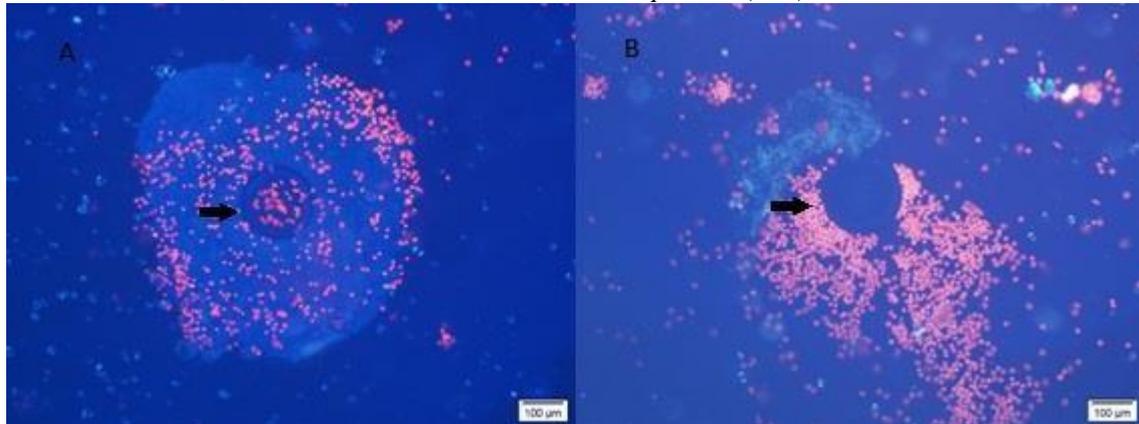
estradiol na fase pré-ovulatória devido ao maior diâmetro folicular favorece a concepção, ou seja, quanto maior o diâmetro do folículo ovulatório, maior será o tamanho do corpo lúteo e, conseqüentemente, maior será a taxa de concepção. O ECC2 apresentou, em ovário esquerdo e direito, maior número de ovócitos grau IV, ou seja, ovócitos desnudos, desprovidos de células do *cumulus* (LEIBFRIED & FIRST, 1979), quando comparados com ECC3; o ECC4 obteve quantidade equivalente ao ECC2 e 3. Nas biotécnicas, os ovócitos classificados com grau de qualidade III e IV são destinados para atividades didáticas (MULLER et al., 2015), pois são considerados como não viáveis (DEUS et al., 2017). Ao observar os resultados, é possível conferir as afirmações de Marques (2018), ou seja, a nutrição da fêmea pode não só afetar o sincronismo do ciclo estral como também a qualidade de ovócito ovulado e a saúde uterina, e por isso, animais com escore corporal inferior apresentaram maior quantidade de ovócitos não viáveis.

Obteve-se resultado satisfatório em relação à obtenção dos ovários, transporte e manipulação dos mesmos. Segundo Melo Júnior (2017), durante o transporte, o suprimento sanguíneo dos ovários é cortado e assim os ovócitos inclusos nos folículos poderiam entrar em condição isquêmica alterando a morfologia do mesmo. No presente estudo, a metodologia do transporte e armazenamento foi satisfatória mantendo-os com o mesmo aspecto morfológico de sua obtenção da carcaça.

Não houve alteração significativa no diâmetro ovariano dentre os escores corporais, isso se justifica por terem sido obtidos de animais de abatedouro e apresentarem fase estral não identificada, interferindo no diâmetro do mesmo e logo não sendo um resultado fidedigno. Segundo McEntee (1990), o tamanho dos ovários sofre influência, também, do período do ciclo estral, estágio de prenhez, idade e condições gerais do animal. Desta forma, reforça-se a necessidade de novos estudos com animais de mesma fase estral, apresentando apenas ECC variados, e assim confirmar se ocorre variação em diâmetro ovariano.

Quanto à integridade de membrana dos ovócitos, foram selecionados 100 ovócitos classificados como de grau I, pois apenas ovócitos grau I e II são de interesse para a produção *in vitro* (MULLER et al., 2015). Deus et al. (2017) também classificam a qualidade do ovócito de acordo com a morfologia, e consideram grau I e II como viáveis. Mediante a coloração com Iodeto de Propídio (PI), 42% dos ovócitos apresentaram membrana íntegra, não apresentando, dessa forma, fluorescência nuclear, e 58% apresentaram fluorescência nuclear com coloração vermelho brilhante, indicativo de lesão de membrana (Figura 1).

Figura 1- Fotomicrografias de oócitos de vacas sem raça definida do abatedouro Municipal de Esperança corados com Iodeto de propídio para avaliação de integridade de membrana. Imagem A: Núcleo com fluorescência vermelho brilhante apresentando lesão em membrana, em sua volta células do *cumulus oophorus* (seta). Imagem B: Núcleo não corado com iodeto de propídio (não fluorescente) permanecendo azul, em sua volta células do *cumulus oophorus* (seta).



A utilização de ovócitos tem grande valia para biotécnicas reprodutivas, que aumentam a capacidade de reprodução animal. A crescente necessidade de incremento produtivo na pecuária leva ao desenvolvimento de várias biotécnicas, principalmente em relação à espécie bovina, que tem um baixo número de descendentes e um período longo de gestação. Um exemplo é a PIVE (produção *in vitro* de embriões), que é precedida pela obtenção dos ovócitos, seguida por um processo formado por três etapas: a maturação *in vitro* de ovócitos, a fertilização *in vitro* e o cultivo *in vitro* de embriões (SILVA, 2018).

Para que ocorra essas três etapas é de extrema importância a qualidade desses ovócitos obtidos, partindo desse mesmo princípio, ovócitos após classificados são diretamente encaminhados para maturação. Dentro do processo da PIVE, a MIV compreende uma das etapas mais críticas, já que é nessa fase que o ovócito adquire capacidade para ser fecundado e então sustentar os estágios subsequentes de desenvolvimento. Desta forma, condições ideais empregadas nesta etapa determinarão o sucesso na etapa de FIV e o subseqüente desenvolvimento embrionário (SOMFAI et al., 2011).

Sendo assim, esses ovócitos são classificados apenas pelas células do *cumulus oophorus*, no presente estudo pode-se observar que ovócitos classificados como grau I apresentaram sob a coloração com PI lesões em sua membrana, as quais coloriram seu núcleo com vermelho brilhante em quantidade superior a 50%, logo se demonstra que apenas a avaliação pela lupa estereoscópica pode não ser o suficiente, e o insucesso da fertilização pode estar relacionado ao fato de os ovócitos não estarem capacitados suficientemente.

CONCLUSÃO

O escore de condição corporal em vacas sem raça definida - não foi suficiente como parâmetro de escolha para diferenciação de alterações significativas ovarianas, foliculares e oocitárias. Pode-se concluir ainda que apenas a avaliação estereoscópica, também não é suficiente para classificar a qualidade de ovócitos obtidos por aspiração folicular.

REFERÊNCIAS

- ALBERTS, B.; BRAY, D.; JOHNSON, A.; LEWIS, L.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WALTER, P. **Estrutura da membrana**. In: Alberts B et al. Fundamentos da biologia celular. Artmed, p.354-377, Porto Alegre, 1998.
- AGOSTINHO, J.M.A; LÉGA, E. Índice de Recuperação de Oócitos Bovinos obtidos de ovários adquiridos em abatedouro como contribuição para os estudos de fecundação e produção de embriões in vitro. **Nucleus Animalium**, v.1, n.1, 2009.
- AZEVÊDO, D.M.M.R. Ciclo Estral em Fêmeas Bovinas. **Embrapa**. Piauí.2016.
- BENEDETTI, E.; SILVA, H. S. Influência da condição corporal em vacas de leite, consumo e desempenho reprodutivo em vacas leiteiras. **Veterinária Notícias**, v.3, n.1, p.157-183, Uberlândia, 1997.
- BERTAN, C.M.; BINELLI, M.; MADUREIRA, E.H. Caracterização do estro de novilhas cruzadas (*Bos taurus indicus x Bos taurus taurus*) por radiotelemetria. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.43, n.6, p.816-823, 2006.
- BLONDIN, P.; SIRARD, M. D. Oocyte and follicular morphology as determining characteristics for developmental in bovine oocytes. **Molecular Reproduction and Development**, New York, v.41, p.54-62, 1995.
- BUTLER, S. T. et al. **Insulin restores GH responsiveness during lactation-induced negative energy balance in dairy cattle: effects on expression of IGF-I and GH receptor 1A**. Journal of Endocrinology, v.176, p.205–217, 2003.
- CAIXETA, E.S.; DODE M.A.N. **Avaliações Da Competência Ovocitária em Bovinos**. Veterinária e Zootecnia. 2010; 17:8-18.
- CORE TEAM, R. R: **A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2018.
- DEUS, A.R.S.; SILVA. M. B.; SANTOS, M.V.O.; QUEIROZ NETA, L.B.; BORGES, A.A.; PEREIRA, A.F.; **Influência dos meios de estocagem durante o transporte de ovários bovinos a 4°C sobre a recuperação e qualidade oocitária**. ARS Veterinária, v.33, n.2, p.44-50, Jaboticabal, São Paulo, 2017.

DUNN, T. G.; MOSS, G. E. **Effects of nutrient deficiencies and excesses on reproductive efficiency of livestock.** Journal of Animal Science, v. 70, p. 1580-1593, 1992.

FERREIRA, R.M. **Efeito da adição de antioxidante (trolox ®) ao meio de manutenção de embriões bovinos produzidos in vivo e ao meio de transporte de oócitos bovinos aspirados de ovários provenientes de abatedouro.** Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2008.

FUCK, E.J., MORAES, G.V., SANTOS, G.T. Fatores nutricionais na reprodução das vacas leiteiras. I. Energia e proteína. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, 24: 147-161, 2000.

FUNSTON, N. R. **Fat Supplementation and Reproduction in Beef Females.** University of Nebraska – Lincoln, 2004.

GONÇALVES, E.A; CAVALIERI, F.L.B; SANTOS, J.M.G; COLOMBO, A.H.B;
MARTINS, A.T.S; BAEZA, PEDRO. Efeito do tamanho do folículo dominante no momento da inseminação artificial em tempo fixo na taxa de gestação em vacas nelores. **VII Mostra Interna de Trabalhos de Iniciação Científica.** Unicesumar. Centro Universitário de Maringá. Paraná. 2014.

GONZÁLEZ, F.H.D.; CONCEIÇÃO, T.R.; SIQUEIRA, A.J.S.; ROSA, V.L. LA. Variações sanguíneas de uréia, creatinina, albumina e fósforo em bovinos de corte no rio grande do sul. **A Hora Veterinária**, v.20, p.59 - 62, 2000.

JANINI, L.C.Z.; BERNARDO, J.O.; TIRONI, S.M.T; JUNIOR, E.R.S.; CIPRIANO,R.S.;
Relationship between follicular diameter, commercial estrus breeding indicator and pregnancy rate in beef cattle. **Pub vet**, v.14, n.3, a592, p.1-6, Jun., 2020.

JONES, K.H; & SENFT, J.A. Na improved method to determine cell viability by simultaneous staining with fluorescein diacetate-propidium iodide. **The Journal of Histochemistry and Cytochemistry.** V33, p77-79. 1985.

JÚNIOR, JAIRO DE MELO.; **Efeito do tempo e da temperatura sobre a viabilidade de tecido ovariano de fetos bovinos.** Universidade Federal de Uberlândia, Faculdade de Medicina Veterinária, Uberlândia, Minas Gerais, 2017.

LANNA, M.F. **Estudo morfométrico do desenvolvimento folicular ovariano de caudongas albino suíço.** Dissertação (Mestrado em biologia celular e estrutural)- Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 50p., 2009.

LEIBFRIED, L.; FIRST, N.L. Characterization of bovine follicular oocytes and their ability to mature in vitro. *J. Anim. Sci.*, v.48, p.76-86, 1979.

MACHADO, R.; CORRÊA, R. F.; BARBOSA, R. T.; BERGAMASCHI, M. A. C. M. **Escore da condição corporal e sua aplicação no manejo reprodutivo de ruminantes.** Circular Técnica n. 57, Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, 2008.

MARQUES, J.C.S.; **Aplicação de PGF2 α no momento da inseminação artificial em tempo fixo em vacas mestiças de corte.** Universidade Federal de Uberlândia. Faculdade de Medicina Veterinária. Uberlândia, 2018.

MCEENTEE, K. **Reproductive pathology of domestic mammals.** San Diego: Academic, 401p. 1990.

MCMANAU, C.; SAUERESSIG, M. G.; FALCÃO, R. A.; SERRANO, G.; MARCELINO, K. R. A.; PALUDO, G. R. Componentes Reprodutivos e Produtivos no Rebanho de Corte da Embrapa Cerrados. *R. Bras. Zootec.*, v.31, n.2, p.648-657, 2002.

MCGEE, E. A.; HSUEH, A. J. W. Initial and cyclic recruitment of ovarian follicles. *Endocrines Review*, Baltimore, v.21, n.2, p.200-204, Apr, 2000.

MOREIRA , C. Membrana celular. *Revista de Ciência Elementar*. V2. 2014.

MULLER,D.B.; SUDANO, M.J.; BRANDOLFF, A.G.; MESQUITA, F.S.; TEXEIRA, M, V, T.; BITTENCOURT, D.C.; Implementação da classificação de oócitos para produção de embriões in vitro no laboratório de genética. **Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão.** v 7, n 2. Salão de pesquisa. 2015.

NELSON, K.Y.; LEHNINGER A. L.; COX, M. M.; **Princípios de bioquímica.** Sarvier. 4.ed. p1202, São Paulo, 2009.

NOGUEIRA,E.; OLIVEIRA. L. O. F.; NICACIO. A. C.; GOMES. R. D. C.; MEDEIROS. S. R. **Nutrição de bovinos de corte: fundamentos e aplicações.** Embrapa, Brasília, DF, 2015.

PANSANI, Marcelo Augusto.; BELTRAN, Maria Paula. Anatomia e Fisiologia do Aparelho Reprodutor de Fêmeas Bovinas. **Revista Científica eletrônica de Medicina Veterinária**, A. VII. n. 12 , 2009.

PRYCE, J. E.; COFFEY, M. P.; SIMM, G. The relationship between body condition score and reproductive performance. **Journal of Dairy Science**, v. 84, n. 6, p.1508-1515, 2001.

PONCHIROLI, Carla Bianchini.; **Desenvolvimento de embriões bovinos in vitro na presença de IGF-1, GH e Insulina nos meios de maturação de ovócitos e cultivo embrionário**. Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2006.

ROSENBERG, M.; AZEVEDO, F. M.; IVASK, A. Propidium iodide staining underestimates viability of adherent bacterial cells. **Scientific Reports**, 2019.

RENNÓ, F.P.; PEREIRA, J.C.; SANTOS, A.D.F.; ALVES, N.G.; TORRES, C.A.A.; RENNO, L.N.; BALBINOT, P.Z. Efeito da condição corporal ao parto sobre a produção e composição do leite, a curva de lactação e a mobilização de reservas corporais em vacas da raça Holandesa. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** vol.58 no.2. Belo Horizonte, 2006.

RODRIGUES, Paula Gomes. **Comparação de Escore de Condição Corporal de Gordura Subcutânea e sua Relação com a Eficiência Reprodutiva de Éguas Doadoras Mangalarga Machador**. Lavras, MG, 2009.

SARTORI, Roberto.; GUARDIEIRO, Monique Mendes. Fatores nutricionais associados à reprodução da fêmea bovina. **R. Bras. Zootec.**, v.39, p.422-432, 2010 (supl. especial).

SILVA, L.M. **Produção de embriões Bovinos in vitro associada á maturação em sistema de tridimensional de cultivo**. Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia. 2018.

SOMFAI, T. et. al. The effect of ovary storage and in vitro maturation on mRNA levels in bovine oocytes; a possible impact of maternal ATP1A1 on blastocyst development in slaughterhouse-derived oocytes. **Journal of Reproduction and Development**, v.57, p.723–730, 2011.

STRYER, L.; J.L. Tymoczko.; J.M. Berg.; **Bioquímica**. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 5.ed, p 1059, 2004.

SPITZER, J. C.; M.W. Richards.; M. B. Warner. **Effect of varying levels of postpartum nutrition and body condition at calving on subsequent reproductive performance in beef cattle**. Clemson University. Clemson, 1986.

VALLE, Ezequel Rodrigues do. **O ciclo estral de bovinos e métodos de controle.** Embrapa, Campo Grande, MS, 1991.

VIEIRA, Fernanda Victor Rodrigues. **Infusão intravenosa de glicose e balanço energético na expressão de enzimas hepáticas responsáveis pelo catabolismo de progesterona em bovinos.** Botucatu, SP, 2012.

WESCHENFELDER, Marina Menoncin. **Metabolismo energético, resistência a insulina e produção de leite durante o parto de vacas leiteiras com diferentes concentrações de Bpl.** Pelotas, 2013.

**2 CAPÍTULO I: A RELAÇÃO DO ESCORE DE CONDIÇÃO CORPORAL COM
FATORES REPRODUTIVOS EM VACAS SRD DO BREJO PARAIBANO.**

Manuscrito a ser submetido à Revista Ciência Rural

(ISSN:1678-4596) Santa Maria/RS, Qualis B1.

**Relação do escore de condição corporal com fatores reprodutivos em vacas sem raça
definida do brejo paraibano**

**Relationship between body condition score and reproductive factors in mongrel cows
from the Paraíba swamp**

Jayne Kelly Santos^{1*}, Ricardo Romão Guerra²

ABSTRACT

The physical condition of the animal has a significant influence on reproductive physiology, so it can be said that nutrition is directly linked to reproduction. One way to assess the physical condition of cattle is through the method of body condition score (ECC). Thus, the objective was to demonstrate the interaction between ECC parameters, oocyte quality, ovarian and follicular diameter, quantity of tertiary follicles and integrity of grade I quality oocyte membrane, in mixed breed cows. Fifty crossbred cows were used, classified according to their ECC (1-5), their respective ovaries were collected, which were analyzed for the number of follicles, and the diameter of the ovarian and follicles. Then, the oocyte was classified according to quality (quantification of cumulus oophorus cells; I-IV) and cell viability (membrane integrity, by propidium iodide). Non-significant results were obtained between body scores in reproductive performance, however, animals with ECC 4 had a greater dominant follicular diameter, and ECC2 obtained a greater amount of oocytes classified as grade IV, considering the need for further studies with animals that present the same age and same estrous phase. When assessing membrane integrity, 58% of oocytes classified as grade I had a membrane lesion, concluding that stereoscopic evaluation alone is not enough to guarantee total viability for the use of reproductive biotechniques.

KEYWORDS: bovine, ECC, nutrition, reproduction.

1 Médica Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal (PPGCAN), Universidade Federal da Paraíba (UFPB), Areia, PB, Brasil. E-mail: jayneveterinaria@gmail.com. Autora para correspondência. 2 Professor Associado, Departamento de Ciências Veterinárias, PPGCAN, UFPB, Areia, PB, Brasil.

RESUMO

A condição física do animal tem uma significativa influência na fisiologia reprodutiva, sendo assim, pode-se afirmar que a nutrição está diretamente ligada à reprodução. Uma forma de avaliar a condição física de bovinos é através do método de escore de condição corporal (ECC). Sendo assim, objetivou-se demonstrar a interação entre os parâmetros ECC, qualidade de ovócito, diâmetro ovariano e folicular, quantidade de folículos terciários e integridade de membrana de ovócitos de qualidade grau I, em vacas sem raça definida. Foram utilizadas 50 vacas mestiças, classificadas de acordo com seu ECC (1-5), coletados seus respectivos ovários, que foram analisados quanto ao número de folículos, e o diâmetro do ovariano e dos folículos. Na sequência, classificou-se o ovócito quanto à qualidade (quantificação de células do *cumulus oophorus*; I-IV) e à viabilidade celular (integridade de membrana, por iodeto de propídio). Obteve-se resultado não significativo entre os escores corporais no desempenho reprodutivo, contudo, animais com ECC 4 apresentaram maior diâmetro folicular dominante, e ECC2 obtiveram maior quantidade de oócitos classificados com grau IV, considerando a necessidade de novos estudos com animais que apresentem a mesma idade e mesma fase estral. Ao avaliar a integridade membranar, 58% dos ovócitos classificados como grau I possuíam lesão de membrana, concluindo que apenas a avaliação estereoscópica não é suficiente para garantir a total viabilidade para utilização de biotécnicas reprodutivas.

PALAVRAS-CHAVES: bovinos, ECC, nutrição, reprodução.

INTRODUÇÃO

É de suma importância para o produtor o desempenho reprodutivo do seu rebanho, onde, nos rebanhos de cria, a produtividade está diretamente relacionada à eficiência reprodutiva das fêmeas, constituindo assim grande importância o acompanhamento da anatomia e fisiologia dos animais (BERTAN et al., 2006).

Nesse sentido, os ovários possuem tanto função exócrina (liberação de oócitos), quanto endócrina (produção dos hormônios esteroides, estradiol e progesterona, e dos hormônios proteicos, relaxina, inibina, ativina e folistatina). Com relação à biometria, apresentam em bovinos muita variabilidade, possuindo geralmente formato de amêndoas, peso ao redor de 15 a 20 gramas, 4 cm de comprimento e 2,5 cm de largura (PANSANI; BELTRAN, 2009). Os oócitos liberados pelos ovários são qualificados como bons de acordo com a sua capacidade de desenvolver um embrião. Estudiosos vêm tentando entender o sistema reprodutivo de fêmeas através da manipulação do desenvolvimento folicular, na esperança de produzir mais oócitos competentes para a fecundação (BLONDIN; SIRARD, 1995).

Devido a essa variação da função ovariana, a condição física do animal tem uma significativa influência nessa fisiologia. Uma forma de avaliar as reservas corporais é utilizando o escore de condição corporal (ECC) que se baseia na inspeção (observação visual) e palpação de algumas regiões do corpo do animal, para verificação do conteúdo de massa muscular e gordura subcutânea (MACHADO, et al. 2008). O acompanhamento das mudanças no ECC e no peso vivo de forma geral, fornece informações sobre o potencial reprodutivo das vacas (DUNN; MOSS, 1992).

A influência do ECC no desempenho reprodutivo de vacas leiteiras em relação às parições existe, sendo necessário para se obter uma boa parição, vacas parindo com ECC variando de 3 a 3,5 (escala de 1 a 5) (BENEDETTI; SILVA, 1997). Sabe-se ainda, que vacas holandesas com ECC próximo a 3,5 apresentam melhores condições de uma maior produção leiteira, bem como de seus componentes (RENNÓ et al., 2006).

Relacionado a morfologia reprodutiva, o principal motivo dos avanços tecnológicos na inseminação artificial é em grande parte devido a estudos relacionados ao diâmetro folicular.

Uma vez que a presença de um folículo de maior diâmetro no momento da inseminação é um indicador de melhor resposta ovariana e maior taxa de concepção de fêmeas *Bos taurus indicus* submetidas a programas de inseminação artificial em tempo fixo (GONÇALVES et al., 2014).

A quantidade de embriões produzidos de ovócitos maturados *in vitro* ainda é inferior quando comparados aos produzidos *in vivo*, e uma das causas está relacionada à qualidade do ovócito. Segundo CAIXETA & DODE (2010), apenas ovócitos competentes são capazes de sofrer a fecundação, ter desenvolvimento embrionário normal e resultar em gestação. Em vista disso, o sucesso de um embrião depende de ovócitos competentes advindos de mecanismos de aquisições eficientes.

Partindo dos pressupostos supracitados o propósito do presente estudo é abordar a relação do ECC com a qualidade de ovócito, quantidade de folículos terciários e tamanho de diâmetro folicular e ovariano, assim como, a viabilidade da membrana de ovócitos considerados de boa qualidade, em vacas sem raça definida, para avaliar se existe influência do valor de ECC no desempenho reprodutivo em vacas SRD e se os ovócitos obtidos por aspiração folicular encontra-se em viabilidade para utilização em biotécnicas reprodutivas, podendo então auxiliar no sucesso da escolha para ovócitos de boa qualidade para biotécnicas como FIV (Fertilização *in vitro*) e PIVE (Produção *in vitro* de embriões).

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 50 fêmeas bovinas sem raça definida do Matadouro Municipal da cidade de Esperança, as quais foram analisadas antes do abate para a classificação de escore de condição corporal (ECC) utilizando a metodologia de MACHADO et al. (2008) que atribui uma escala de 1 a 5, sendo escore 1 para vacas muito magras e 5 para vacas muito gordas.

Fêmeas com escore 1 e 5 não foram encontradas no matadouro devido a de escore 1 serem reprovadas para o abate e de ECC 5 serem encontrados apenas em machos castrados.

Após a classificação, as vacas foram encaminhadas para o abate, no qual os ovários foram imediatamente coletados diretamente da carcaça e logo identificados como direito e esquerdo, e armazenados em garrafa térmica com solução salina NaCl 0,9% estéril e aquecida a 37°C (AGOSTINHO,2009), sendo logo em seguida encaminhados para o Laboratório de Reprodução Animal da Universidade Federal da Paraíba, em tempo máximo de duas horas pós-morte. Como foram obtidos de fêmeas de matadouro, as mesmas possuíram fase do ciclo estral aleatória.

No laboratório os ovários foram lavados com solução salina NaCl 0,9% estéril, aquecida à 37°C e mantidos em banho-maria de 35°C à 37°C (AGOSTINHO,2009). Os tamanhos dos ovários foram mensurados com paquímetro eletrônico digital, assim como, foram observados os folículos visíveis, que foram quantificados e mensurados.

Posteriormente, os folículos foram aspirados com agulha 40x12 mm acoplada em seringa de 10 mL (FERREIRA, 2008), e os oócitos obtidos foram transferidos para uma placa de Petri, com solução de NaCl a 0,9%.

Os ovócitos foram observados com lupa estereomicroscópica para classificação da qualidade de acordo com complexo cumulus-oócito (COC), que varia do Grau I ao IV, sendo Grau 1: *cumulus* compacto, sem alterações microscópicas visíveis e com mais de três camadas de células do *cumulus* envolvendo totalmente a zona pelúcida; Grau 2: constituído de até três camadas de células do *cumulus* envolvendo totalmente a zona pelúcida; Grau 3: ovócitos possuindo áreas da zona pelúcida totalmente desprovidas de células; e Grau 4: ovócitos desnudos, ou seja, desprovidos de células do *cumulus* (LEIBFRIED; FIRST, 1979).

Os ovócitos considerados grau I foram analisados por fluorescência para avaliação de integridade de membrana. Para tanto foi utilizado o iodeto de propídio (IP), que cora DNA e

RNA dentro de células mortas ou com membranas danificadas reversivelmente. Como o PI só pode entrar nas células com membranas comprometidas ligam-se ao DNA e RNA emitindo um sinal fluorescente vermelho (ROSENBERG et al., 2019).

Para tanto, foi adicionado 10 µL de iodeto de propídio^a, (100 µg/mL) e os oócitos acrescidos a essa gota. A gota foi coberta com uma lamínula com cola de silicone nos quatro cantos para fixar o material à lâmina. As lâminas foram preparadas em ambiente escuro e a leitura foi realizada em microscópio de fluorescência^e (PONCHIROLI, 2006).

Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias em relação aos escores de condição corporal foram comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Os resultados foram expressos por média \pm desvio padrão. As análises foram realizadas com auxílio do software estatístico R[®] (CORE TEAM, 2018).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As fêmeas com ECC 2 totalizaram 14 animais, com ECC 3 totalizaram 24 animais e com ECC 4 12 fêmeas. Animais com ECC 1 e 5 não foram visualizados, pois animais com ECC1 são descartados para o abate e apenas machos castrados foram classificados com ECC 5. Tal ausência de dados não resultou em prejuízos na pesquisa, pois segundo PRYCE et al (2001), para um controle reprodutivo se deve antes determinar um ECC de boa qualidade e assim se obtém bons resultados, por isso animais com ECC1 (caquéticos) e ECC 5 (obesos) não tem participação significativa na reprodução.

Diante dos resultados obtidos considera-se que na região, a maioria dos animais abatidos é pertencente ao grupo ECC3, chamado de médio ou ideal, que se caracteriza pela suave cobertura muscular com grupos de músculos à vista, porém ainda sem camadas de gordura; a

superfície do corpo é macia e a pele está flexível podendo ser levantada com facilidade (MACHADO, 2008).

Os resultados obtidos pela avaliação dos ovários, não demonstrou significância estatística, os valores obtidos foram próximos dentre dos diferentes ECC encontrados (Tabelas 1 e 2).

Animais com ECC 4 apresentaram maior diâmetro folicular dominante, sendo esses mais indicados como escolha para concepção. Segundo JANINI (2020) a alta concentração de estradiol na fase pré-ovulatória devido ao maior diâmetro folicular favorece a concepção, ou seja, quanto maior o diâmetro do folículo ovulatório, maior será o tamanho do corpo lúteo e, conseqüentemente, maior será a taxa de concepção. O ECC2 apresentou, em ovário esquerdo e direito, maior número de ovócitos grau IV, ou seja, ovócitos desnudos, desprovidos de células do *cumulus* (LEIBFRIED & FIRST, 1979), quando comparados com ECC3; o ECC4 obteve quantidade equivalente ao ECC2 e 3. Nas biotécnicas, os ovócitos classificados com grau de qualidade III e IV são destinados para atividades didáticas (MULLER et al 2015), pois são considerados como não viáveis (DEUS et al 2017). Corroborando MARQUES (2018) que afirma que a nutrição da fêmea pode não só afetar a o sincronismo do ciclo estral como também a qualidade de ovócito ovulado e a saúde uterina, e por isso animais com escore corporal inferior apresentaram maior quantidade de ovócitos não viáveis.

Obteve-se resultado satisfatório em relação à obtenção dos ovários, transporte e manipulação dos mesmos. Segundo JÚNIOR (2017), durante o transporte, o suprimento sanguíneo dos ovários é cortado e assim os ovócitos inclusos nos folículos poderiam entrar em condição isquêmica alterando a morfologia do mesmo. No presente estudo a metodologia do transporte e armazenamento foi satisfatória mantendo-os com o mesmo aspecto morfológico de sua obtenção da carcaça.

Não houve alteração significativa no diâmetro ovariano dentre os escores corporais, isso se justifica por terem sido obtidos de animais de abatedouro e apresentarem fase estral não identificada, interferindo no diâmetro do mesmo e logo não sendo um resultado fidedigno. Segundo MCENTEE (1990), o tamanho dos ovários sofre influência, também, do período do ciclo estral, estágio de prenhez, idade e condições gerais do animal. Havendo então a necessidade de novos estudos com animais de mesma fase estral, apresentando apenas ECC variados, e assim confirmar se ocorre variação em diâmetro ovariano.

Quanto à integridade de membrana dos ovócitos, foram selecionados 100 ovócitos classificados como de grau I, pois apenas oócitos grau I e II são de interesse para a produção *in vitro* (MULLER et al., 2015). DEUS et al (2017) também classificam a qualidade do ovócito de acordo com a morfologia, e considera grau I e II como viáveis. Mediante a coloração com Iodeto de Propídio (PI), 42% apresentaram membrana íntegra não apresentando, dessa forma, fluorescência nuclear, e 58% apresentaram fluorescência nuclear com coloração vermelho brilhante, indicativo de lesão de membrana (Figura 1).

A utilização de ovócitos tem grande valia para biotécnicas reprodutivas, que aumentam a capacidade de reprodução animal. A crescente necessidade de incremento produtivo na pecuária leva ao desenvolvimento de várias biotécnicas, principalmente em relação à espécie bovina, que tem um baixo número de descendentes e um período longo de gestação. Um exemplo é a PIVE (produção *in vitro* de embriões) que é precedida pela obtenção dos ovócitos, seguida por um processo formado por três etapas: a maturação *in vitro* de ovócitos, a fertilização *in vitro* e o cultivo *in vitro* de embriões (SILVA, 2018).

Para que ocorra essas três etapas é de extrema importância a qualidade desses ovócitos obtidos, partindo desse mesmo princípio, ovócitos após classificados são diretamente encaminhados para maturação. Dentro do processo da PIVE, a MIV compreende uma das etapas mais críticas, já que é nessa fase que o ovócito adquire capacidade para ser fecundado e então

sustentar os estágios subsequentes de desenvolvimento. Desta forma, condições ideais empregadas nesta etapa irão determinar o sucesso na etapa de FIV e o subseqüente desenvolvimento embrionário (SOMFAI et al., 2011).

Sendo assim, esses ovócitos são classificados apenas pelas células do *cumulus oophorus*, no presente estudo pode-se observar que ovócitos classificados como grau I apresentaram sob a coloração com PI lesões em sua membrana, as quais coloriram seu núcleo com vermelho brilhante em quantidade superior a 50%, logo se demonstra que apenas a avaliação pela lupa estereoscópica pode não ser o suficiente, e o insucesso da fertilização pode estar relacionado ao fato de os ovócitos não estarem capacitados suficientemente.

CONCLUSÃO

O escore de condição corporal em vacas sem raça definida na região de Esperança-PB não foi suficiente como parâmetro de escolha para diferenciação de alterações significativas ovarianas, foliculares e oocitárias. Pode-se concluir ainda que apenas a avaliação estereoscópica, também não é suficiente para classificar a qualidade de ovócitos obtidos por aspiração folicular.

AGRADECIMENTOS

A pesquisa foi parcialmente financiada pelos Órgãos Federais Brasileiros: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e pelo “Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico” (CNPq).

DECLARAÇÃO DE CONFLITOS DE INTERESSE

Não temos conflitos de interesse a declarar.

CONTRIBUIÇÕES DOS AUTORES

Todos os autores revisaram criticamente o manuscrito e aprovaram a versão final.

FONTES DE AQUISIÇÃO

^aIodeto de propídio: SIGMA-Aldrich P4170.

^eOlympus bx53- microscópio de luz.

^eOlympus U-RFL-T- sistema fluorescente.

ⁱcalliper paquímetro eletrônico digital.

^oSolução de NaCl 0,9%, Halexstar Indústria Farmacêutica S/A.

COMITÊ DE ÉTICA E BIOSSEGURANÇA

A metodologia foi aprovada pelo Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal da Paraíba, sob o protocolo CEUA/UFPB nº 7389150221

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGOSTINHO, J.M.A; LÉGA, E. Índice de Recuperação de Oócitos Bovinos obtidos de ovários adquiridos em abatedouro como contribuição para os estudos de fecundação e produção de embriões in vitro. **Nucleus Animalium**, v.1, n.1, 2009.

BERTAN, C.M.; BINELLI, M.; MADUREIRA, E.H. Caracterização do estro de novilhas cruzadas (*Bos taurus indicus x Bos taurus taurus*) por radiotelemetria. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 43, n. 6, p.816-823, 2006.

BENEDETTI, Edmundo.; SILVA, Hebert Siqueira. Influência da condição corporal em vacas de leite, consumo e desempenho reprodutivo em vacas leiteiras. **Veterinária Notícias**, v.3, n.1, p.157-183, Uberlândia, 1997.

BLONDIN, P.; SIRARD, M. D. Oocyte and follicular morphology as determining characteristics for developmental in bovine oocytes. **Molecular Reproduction and Development**, New York, v.41, p.54-62, 1995.

CAIXETA, E.S.; DODE M.A.N. Avaliações Da Competência Ovocitária em Bovinos. **Veterinária e Zootecnia**. v.17,p8-18, 2010.

CORE TEAM, R. R: **A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2018.

DEUS, A.R.S.; SILVA. M. B.; SANTOS, M.V.O.; QUEIROZ NETA, L.B.; BORGES, A.A.; PEREIRA, A.F.; Influência dos meios de estocagem durante o transporte de ovários bovinos a 4°C sobre a recuperação e qualidade oocitária. **ARS Veterinária**, v.33,n.2, p044-050, Jaboticabal, São Paulo.2017.

DUNN, T. G.; MOSS, G. E. Effects of nutrient deficiencies and excesses on reproductive efficiency of livestock. **Journal of Animal Science**, v. 70, p. 1580-1593, 1992.

FERREIRA, R.M. **Efeito da adição de antioxidante (trolox ®) ao meio de manutenção de embriões bovinos produzidos in vivo e ao meio de transporte de oócitos bovinos aspirados de ovários provenientes de abatedouro**. 2008. Tese de mestrado. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal.

GONÇALVES, E.A; CAVALIERI, F.L.B; SANTOS, J.M.G; COLOMBO, A.H.B;

MARTINS, A.T.S; BAEZA, PEDRO. Efeito do tamanho do folículo dominante no momento da inseminação artificial em tempo fixo na taxa de gestação em vacas nelores. **VII Mostra Interna de Trabalhos de Iniciação Científica**. Unicesumar. Centro Universitário de Maringá. Paraná. 2014.

JANINI, L.C.Z.; BERNARDO,J.O.; TIRONI,S.M.T; JUNIOR,E.R.S.; CIPRIANO,R.S.; Relationship between follicular diameter, commercial estrus breeding indicator and pregnancy rate in beef cattle. **Pub vet**, v.14, n.3, a592, p.1-6, Jun., 2020.

JÚNIOR, JAIRO DE MELO.; **Efeito do tempo e da temperatura sobre a viabilidade de tecido ovariano de fetos bovinos.** Universidade Federal de Uberlândia, Faculdade de Medicina Veterinária, Uberlândia, Minas Gerais, 2017.

LEIBFRIED, L.; FIRST, N.L. Characterization of bovine follicular oocytes and their ability to mature in vitro. **J. Anim. Sci.**, v.48, p.76-86, 1979.

MACHADO, R.; CORRÊA, R. F.; BARBOSA, R. T.; BERGAMASCHI, M. A. C. M. Escore da condição corporal e sua aplicação no manejo reprodutivo de ruminantes. **Circular Técnica.** n. 57, Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, 2008.

MARQUES, J.C.S.; **Aplicação de PGF 2α no momentos da inseminação artificial em tempo fixo em vacas mestiças de corte.** Universidade Federal de Uberlândia. Faculdade de Medicina Veterinária. Uberlândia, 2018.

MCEENTEE, K. **Reproductive pathology of domestic mammals.** San Diego: Academic, p401. 1990.

MULLER, D.B.; SUDANO, M.J.; BRANDOLFF, A.G.; MESQUITA, F.S.; TEXEIRA, M, V, T.; BITTENCOURT, D.C.; Implementação da classificação de oócitos para produção de embriões in vitro no laboratório de genética. **Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão.** v 7, n 2. Salão de pesquisa. 2015.

PANSANI, Marcelo Augusto.; BELTRAN, Maria Paula. Anatomia e Fisiologia do Aparelho Reprodutor de Fêmeas Bovinas. **Revista Científica eletrônica de Medicina Veterinária,** A. VII. n. 12 , 2009.

PONCHIROLLI, Carla Bianchini.; **Desenvolvimento de embriões bovinos in vitro na presença de IGF-1, GH e Insulina nos meios de maturação de ovócitos e cultivo embrionário.** Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2006.

- PRYCE, J. E.; COFFEY, M. P.; SIMM, G. The relationship between body condition score and reproductive performance. **Journal of Dairy Science**, v. 84, n. 6, p.1508-1515, 2001.
- ROSENBERG, M.; AZEVEDO, F. M.; IVASK, A. Propidium iodide staining underestimates viability of adherent bacterial cells. **Scientific Reports**, 2019.
- RENNÓ, F.P.; PEREIRA, J.C.; SANTOS, A.D.F.; ALVES, N.G.; TORRES, C.A.A.; RENNO, L.N.; BALBINOT, P.Z. Efeito da condição corporal ao parto sobre a produção e composição do leite, a curva de lactação e a mobilização de reservas corporais em vacas da raça Holandesa. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** vol.58 no.2. Belo Horizonte, 2006.
- SOMFAI, T. et. al. The effect of ovary storage and in vitro maturation on mRNA levels in bovine oocytes; a possible impact of maternal ATP1A1 on blastocyst development in slaughterhouse-derived oocytes. **Journal of Reproduction and Development**, v.57, p.723–730, 2011.

Tabela 1. Indicadores de qualidade dos ovários direito e esquerdo de vacas sem raça definida em função do escore de condição corporal (ECC), no abatedouro de Esperança, Paraíba.

Variáveis	ECC2	ECC3	ECC4	Média geral±DP
<i>Ovário direito</i>				
Diâmetro do ovário (cm)	2,94 a	2,93 a	3,20 a	2,99±0,68
Número de folículos	6,64 a	7,75 a	7,42 a	7,36±6,33
Número de folículos com diâmetro <0,5 cm	6,50 a	7,08 a	6,50 a	6,78±6,55
Número de folículos com diâmetro ≥0,5 e <1 cm	0,14 a	0,54 a	0,92 a	0,52±0,91
Número de folículos com diâmetro > 1 cm	0,00 a	0,13 a	0,00 a	0,06±0,24
Diâmetro do folículo dominante (cm)	0,41 b	0,43 b	0,66 a	0,48±0,25
<i>Ovário esquerdo</i>				
Diâmetro do ovário (cm)	2,39 a	2,64 a	2,85 a	2,62±0,51
Número de folículos	6,36 a	6,79 a	6,50 a	6,60±2,88
Número de folículos com diâmetro <0,5 cm	5,71 a	5,83 a	6,17 a	5,88±3,07
Número de folículos com diâmetro ≥0,5 e <1 cm	0,50 a	0,83 a	0,33 a	0,62±0,75
Número de folículos com diâmetro > 1 cm	0,14 a	0,13 a	0,00 a	0,10±0,30
Diâmetro do folículo dominante (cm)	0,53 a	0,60 a	0,40 a	0,53±0,25

Valores são médias aritméticas. DP = desvio padrão. Médias seguidas de mesma letra, na linha, não diferem entre si de acordo com o teste de Tukey em até 5% de probabilidade.

Tabela 2. Classificação dos ovócitos de acordo com complexo *cumulus*-oócito, dos ovários direito e esquerdo de vacas sem raça definida, em função do escore de condição corporal (ECC) no abatedouro de Esperança, Paraíba.

Classes	ECC2	ECC3	ECC4	Média geral±DP
<i>Ovário direito</i> Grau				
I	1,07 a	3,79 a	3,42 a	2,94±3,65
Grau II	1,43 a	3,04 a	2,08 a	2,36±2,17
Grau III	1,43 a	0,75 a	1,25 a	1,06±1,54
Grau IV	1,21 a	0,25 b	0,67 ab	0,62±0,92
<i>Ovário esquerdo</i> Grau				
I	1,29 b	3,46 a	2,75 ab	2,68±2,37
Grau II	0,93 a	2,00 a	1,25 a	1,52±1,49
Grau III	1,00 a	0,88 a	1,25 a	1,00±1,29
Grau IV	1,71 a	0,38 b	0,75 ab	0,84±1,43

Valores são médias aritméticas do número de ovócitos. DP = desvio padrão. Médias seguidas de mesma letra, na linha, não diferem entre si de acordo com o teste de Tukey em até 5% de probabilidade. Grau I: *cumulus* compacto, sem alterações microscópicas visíveis e com mais de três camadas de células do *cumulus* envolvendo totalmente a zona pelúcida; Grau II: constituído de até três camadas de células do *cumulus* envolvendo totalmente a zona pelúcida; Grau III: ovócitos possuindo áreas da zona pelúcida totalmente desprovida de células; e Grau IV: ovócitos desnudos, ou seja, desprovidos de células do *cumulus*.

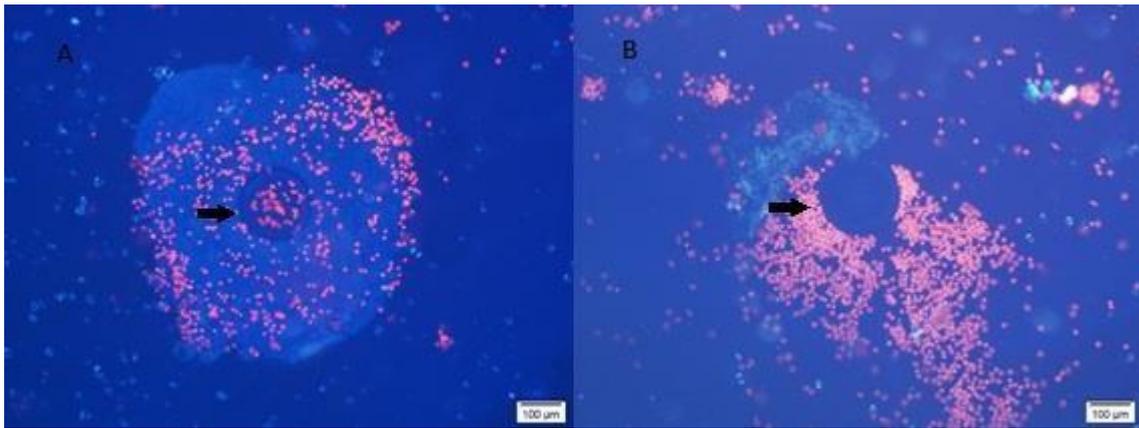


Figura 1- Fotomicrografias de oócitos de vacas sem raça definida do abatedouro Municipal de Esperança corados com Iodeto de propídio para avaliação de integridade de membrana. Imagem A: Núcleo com fluorescência vermelho brilhante apresentando lesão em membrana, em sua volta células do *cúmulus oophorus* (seta). Imagem B: Núcleo não corado com iodeto de propídio (não fluorescente) permanecendo azul, em sua volta células do *cúmulus oophorus* (seta).