

Efeitos da antecipação do desmame na programação fetal de características do desenvolvimento gonadal em fêmeas Nelore

Leonardo Soares Locoselli, Thiago Kan Nishimura, Alessandra Bridi

Guilherme Pugliesi

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da universidade de São Paulo, Departamento de Reprodução Animal.

leonardo.locoselli@usp.br

Objetivos

Este experimento objetivou avaliar os efeitos da desmama antecipada (150 dias) em relação a desmama convencional (240 dias) na programação fetal de características associadas ao desenvolvimento gonadal de fêmeas Nelore. Assim, teve-se como objetivos específicos avaliar a Contagem de Folículos Antrais (CFA), determinar a quantidade e qualidade de Complexos *Cúmulus* Oócito (COC's) recuperados, estruturas clivadas e embriões produzidos após os procedimentos da produção *in vitro* de embriões (PIVE).

Métodos e Procedimentos

A pesquisa ocorreu no campus Fernando Costa da Universidade de São Paulo, situado na cidade de Pirassununga e todos os procedimentos foram realizados de acordo com as condutas e normas do Comitê de Ética em uso de animais, como previamente aprovado (CEUA Nº 2884250620). Foram utilizadas 55 novilhas Nelore que passaram pela programação fetal, quando estavam sendo gestadas por vacas Nelore primíparas (PRI) ou pluríparas (PLU), por diferentes momentos do desmame dos seus bezerros lactentes: antecipada (ANT) (n=25; 150 dias) ou convencional (CON) (n=30; 240 dias). Por volta de 14-15 meses foram avaliadas via ultrassonografia transretal para a realização da CFA e da indução a puberdade com aplicação

de 150 mg de Progesterona injetável de longa-ação (Sincrogest injetável, Ourofino Saúde Animal). Após 20 dias da indução, um grupo de 23 novilhas (11 púberes e 12 não púberes) foram submetidas a aspiração folicular e a PIVE (n=6 filhas de PLU com ANT; n=6 filhas de PLU com CON; n=4 filhas de PRI com CON; n=7 filhas de PRI com ANT).

Os dados obtidos foram primeiramente avaliados em um esquema fatorial 2x2 (Dois manejos de desmama e duas categorias animais) e separadamente de acordo com a resposta a indução de puberdade. Foi realizada análise dos dados por split-plot ANOVA utilizando o procedimento MIXED do SAS.

Resultados

Para CFA, não foi observada interação entre o tipo de manejo de desmama e a ordem de parto da mãe (média total: 24.5 ± 1.4 ; $P=0.60$), assim como não foram observadas diferenças entre o manejo de desmama antecipado (23.08 ± 1.87) e convencional (24.83 ± 2.15 ; $P=0.15$) e entre novilhas filhas de vacas primíparas (23.96 ± 2.23) e multíparas (24.93 ± 1.90 ; $P=0.23$). Para as variáveis avaliadas na PIVE, não foi observado interação entre o manejo de desmama e ordem de parto da mãe o total de COC's recuperados (Média total: 42.9 ± 4.4 ; $P=0.65$), total de COC's viáveis obtidos (Média total: 23.1 ± 2.6 ; $P=0.68$), COC's não viáveis (Média total: 19.7 ± 2.3 ; $P=0.41$), taxa de clivagem (Média total: 70.6 ± 0.04 ; $P=0.66$),

blastocistos produzidos grau 1 e grau 2 (Média total: $7,8 \pm 1,9$; $P=0,84$), total de blastocistos (Média total: $9,0 \pm 2,1$; $P=0,90$) e total de blastocistos eclodidos (Média total: $8,96 \pm 2,15$; $P=0,57$). Contudo, observou-se interação na taxa (%) de eclosão ($P=0,01$), já que novilhas filhas de PRI com ANT possuíam maiores taxas ($94,4 \pm 3,3$) quando comparadas as novilhas filhas de PLU com CON ($77,6 \pm 15,8$), filhas de PRI com CON ($61,9 \pm 12,8$) e filhas de PLU com ANT ($49,4 \pm 17,3$).

Quanto a análise do efeito principal do tipo de desmama, não foram observadas diferenças quanto ao total de COC's recuperados ($P=0,77$), total de COC's viáveis obtidos ($P=0,97$), COC's não viáveis ($P=0,41$), taxa de clivagem ($P=0,53$), blastocistos produzidos grau 1 e grau 2 ($P=0,84$), total de blastocistos produzidos ($P=0,75$).

Quanto a ordem de parto das mães, também não foram observados efeitos significativos no total de COC's viáveis obtidos ($P=0,29$), taxa de clivagem ($P=0,40$), blastocistos produzidos grau 1 e grau 2 ($P=0,38$), total de blastocistos ($P=0,58$) e total de blastocistos eclodidos ($P=0,59$). Porém, novilhas filhas de vacas múltiparas tenderam a ter um maior número de COC's recuperados que filhas de primíparas ($50,5 \pm 5,9$ vs. $34,5 \pm 5,7$, respectivamente; $P=0,08$). Ao mesmo tempo que filhas de vacas primíparas possuíam uma menor quantidade de COC's não viáveis que filhas de pluríparas ($14,5 \pm 2,7$ vs. $24,6 \pm 3,3$, respectivamente; $P=0,03$).

Comparando as novilhas pré-púberes e púberes, não foram observados efeitos da puberdade quanto ao total de COC's recuperados ($42,25 \pm 6,15$ vs. $43,55 \pm 6,51$, respectivamente; $P=0,89$), total de COC's viáveis obtidos ($21,3 \pm 3,5$ vs. $25,2 \pm 4,1$, respectivamente; $P=0,47$), COC's não viáveis ($21,00 \pm 3,58$ vs. $18,36 \pm 3,09$, respectivamente; $P=0,59$), taxa de clivagem ($69,2 \pm 3,8$ vs. $72,0 \pm 6,9\%$, respectivamente; $P=0,39$), blastocistos produzidos grau 1 e grau 2 ($8,0 \pm 2,7$ vs. $7,6 \pm 2,8$, respectivamente; $P=0,70$), total de blastocistos ($9,1 \pm 3,1$ vs. $8,7 \pm 3,0$, respectivamente; $P=0,81$) e no total de blastocistos eclodidos ($6,8 \pm 1,9$ vs. $7,0 \pm 2,6$, respectivamente; $P=0,79$).

Conclusões

A antecipação do desmame visando a programação fetal ou a ordem de paridade da mãe não afeta a CFA nem a eficiência na PIVE de novilhas Nelore. Além do mais, independente da resposta a indução a puberdade as novilhas apresentaram satisfatória eficiência na PIVE.

Agradecimentos

FAPESP (2017/18937-0; 2022/13791-5), ABS-Invitro e Biogenesis Bagó.

Referências

- BARUSELLI, P.S., CATUSSI, B.L.C., ABREU, L.A., ELLIFF, F.M., SILDA, L.G., BATISTA, E.O.S., Challenges to increase the AI and TE markets in Brazil. *Animal Reproduction* 2019; 16; 364-375
- DOS SANTOS, Gustavo Martins Gomes et al. High numbers of antral follicles are positively associated with in vitro embryo production but not the conception rate for FTAI in Nelore cattle. *Animal Reproduction Science*, v. 165, p. 17-21, 2016.
- DU, M.; TONG, J.; ZHAO, J.; UNDERWOOD, K. R.; ZHU, M.; FORD, S. P.; NATHANIELSZ, P. W. Fetal programming of skeletal muscle development in ruminant animals. *Journal of animal science*, v. 88, n. 13 Suppl, 2010.[
- GONÇALVES PBD, BARRETA MH, SANDRI LR, FERREIRA R, ANTONIAZZI AQ. Produção in vitro de embriões bovinos: o estado da arte. *Rev Bras Reprod Anim*, v.31, p.212-217, 2007.

Effects of early weaning on fetal programming of gonadal development characteristics in Nelore females

Leonardo Soares Locoselli, Thiago Kan Nishimura, Alessandra Bridi

Guilherme Pugliesi

College of Veterinary Medicine and Zootechny, University of São Paulo,
Department of Animal Reproduction.

leonardo.locoselli@usp.br

Objectives

We aimed to evaluate the effects of early weaning (150 days) compared to conventional weaning (240 days) on the fetal programming of characteristics associated with gonadal development in Nelore females. The specific objectives were to evaluate the Antral Follicle Count (AFC), determine the quantity and quality of Oocyte Cumulus Complexes (COC's) recovered, cleaved structures and embryos produced after the *in vitro* embryos production.

Materials and Methods

This experiment was executed in the Fernando Costa campus of the University of São Paulo, situated in Pirassununga and all procedures were carried out in accordance with the conduct and norms of the Ethics Committee on the use of animals, as previously approved (CEUA N° 2884250620). 55 Nelore heifers used in this experiment passed by fetal programming when they were in the uterus of primiparous (PRI) or pluriparous (PLU) Nelore cows through two weaning moments of their suckling calves: early (EW) (n=25) or conventional (CW) (n=30) weaning. At 14-15 months of age, heifers were evaluated by ultrasonography for the evaluated AFC and were treated with 150 mg of long-acting progesterone (Sincrogest injetável, Ourofino Saúde Animal) to induce puberty. Twenty days after puberty induction, a

subgroup of 23 heifers (11 pubertal and 12 prepubertal) were submitted to an ovum pick-up procedure for *in vitro* embryo production (n=6 daughters of EW PLU cows; n=6 of CW PLU cows; n=4 of EW PRI cows; n=7 of CW PRI cows). Data were first analyzed as a 2 x 2 factorial (weaning strategy and dam's parity) and then separated according to pubertal status. A split-plot ANOVA was performed using the MIXED procedure of SAS.

Results

For AFC, there was no interaction between the type of weaning management and the dam's parity (total mean: 24.5 ± 1.4 , $P=0.60$). Also, no differences were detected between early weaning (23.08 ± 1.87) and conventional weaning (24.83 ± 2.15 ; $P=0.15$) and between heifers from primiparous (23.96 ± 2.23) and multiparous cows (24.93 ± 1.90 ; $P=0.23$).

The total number of COC's recovered (Total mean: 42.9 ± 4.4 ; $P=0.65$), the number of viable COC's recovered (Total mean: 23.1 ± 2.6 , $P=0.68$), cleavage rate (Total mean: $70.6 \pm 3.8\%$, $P=0.66$), number of blastocysts (Total mean: 9.0 ± 2.1 , $P=0.90$), number of grade 1 and grade 2 blastocysts (Total mean: 7.8 ± 1.9 , $P=0.88$) and hatched blastocysts on day 9 after *in vitro* fertilization (Total mean: 6.9 ± 1.6 , $P=0.57$) were not affected by the weaning time by dam's parity interaction. An interaction in the

rate of hatched blastocysts (%) was observed ($P=0.01$), heifers daughters of PRI cows had higher rates when compared to the daughters of PLU when they were submitted to EW (94.4 ± 3.3 vs. 49.4 ± 17.3); whereas, for heifers submitted to CW, no difference was observed between daughters of PLU cows (77.6 ± 15.8), and PRI cows (61.9 ± 12.8).

No effect of the dam's parity was detected for the total viable COC's recovered ($P=0.29$), cleavage rate ($P=0.40$), grade 1 and grade 2 blastocysts ($P=0.38$), total blastocysts ($P=0.58$), and total hatched blastocysts ($P=0.59$). However, the total number of COC's tended to be greater ($P=0.08$) in heifers from PLU cows (50.5 ± 5.9) than in PRIM cows (34.5 ± 5.7). At the same time the number of non-viable COC's was lower ($P=0.03$) in heifers from PRIM cows (14.5 ± 2.7) than in PLU cows (24.6 ± 3.3).

Also, a significant effect of the weaning time was observed for total COC's recovered ($P=0.77$), total viable COC's ($P=0.97$), non-viable COC's ($P=0.41$), cleavage rate ($P=0.53$), grade 1 and grade 2 blastocysts produced ($P=0.84$), total blastocysts produced ($P=0.75$) and total blastocysts obtained ($P=0.68$).

Comparing prepubertal and pubertal heifers, no differences were observed in total COC's recovered (42.25 ± 6.15 vs. 43.55 ± 6.51 , respectively; $P=0.89$), number of viable COC's recovered (21.3 ± 3.5 vs. 25.2 ± 4.1 , respectively; $P=0.47$), number of non-viable COC's (21.00 ± 3.58 vs. 18.36 ± 3.09 , respectively; $P=0.59$), cleavage rate (69.2 ± 3.8 vs. $72.0\pm6.9\%$, respectively; $P=0.39$), total blastocysts (9.1 ± 3.1 vs. 8.7 ± 3.0 , respectively; $P=0.81$), grade 1 and grade 2 blastocysts (8.0 ± 2.7 vs. 7.6 ± 2.8 , respectively; $P=0.70$) and hatched blastocysts (6.8 ± 1.9 vs. 7.0 ± 2.6 , respectively; $P=0.79$).

Conclusions

The anticipation of weaning during fetal programming or the dam's parity order does not impact on the antral follicle count and effectiveness of *in vitro* embryo production of Nelore heifers. In addition, Nelore heifers have

reasonable *in vitro* embryo production, regardless of their response to puberty induction

Acknowledgements

FAPESP (2017/18937-0; 2022/13791-5); ABS-Invitro; and Biogenesis Bagó.

References

- BARUSELLI, P.S., CATUSSI, B.L.C., ABREU, L.A., ELLIFF, F.M., SILDA, L.G., BATISTA, E.O.S., Challenges to increase the AI and TE markets in Brazil. *Animal Reproduction* 2019; 16; 364-375
- DOS SANTOS, Gustavo Martins Gomes et al. High numbers of antral follicles are positively associated with *in vitro* embryo production but not the conception rate for FTAI in Nelore cattle. *Animal Reproduction Science*, v. 165, p. 17-21, 2016.
- DU, M.; TONG, J.; ZHAO, J.; UNDERWOOD, K. R.; ZHU, M.; FORD, S. P.; NATHANIELSZ, P. W. Fetal programming of skeletal muscle development in ruminant animals. *Journal of animal science*, v. 88, n. 13 Suppl, 2010.
- GONÇALVES PBD, BARRETA MH, SANDRI LR, FERREIRA R, ANTONIAZZI AQ. Produção *in vitro* de embriões bovinos: o estado da arte. *Rev Bras Reprod Anim*, v.31, p.212-217, 2007.