

MELHORIA NA EFICIÊNCIA DA UTILIZAÇÃO DE RECEPTORAS DE EMBRIÃO COM PROTOCOLOS DE RESSINCRONIZAÇÃO

Renato M. FERNANDES¹; Alexandre V. de SOUZA²; Douglas G. PEREIRA³; Carlos A. C. FERNANDES⁴; José Antônio D. GARCIA⁵

RESUMO

O estudo foi desenvolvido em duas etapas: **Exp1:** Objetivou avaliar a eficiência de 1mg de benzoato de estradiol (BE) na sincronização do desenvolvimento folicular. Utilizou-se 40 fêmeas divididas em dois grupos. **G1** - 1mg de BE; e **G2** - 1 ml de soro fisiológico. Alterações foliculares foram acompanhadas por ultrassonografia (US). A Aplicação de 1mg de BE se mostrou eficiente (95%) na sincronização folicular. **Exp2** objetivou-se avaliar a eficiência de um protocolo de ressinchronização em receptoras. Foram utilizados 368 embriões produzidos *in vitro* (PIV), a preparação das receptoras foi feita por protocolo de transferência de embriões em tempo fixo (TETF). Conclui-se que o protocolo de ressinchronização utilizado não interfere na manutenção da gestação e pode oferecer alternativa para reduzir o período entre inovulações.

Palavras-chave: Biotecnologia; Reprodução; Sincronização; Inovulação.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o líder na Produção In Vitro de Embriões (PIVE) em todo o mundo, respondendo por quase um terço da produção mundial. Só em 2012 foram produzidos e transferidos no Brasil, mais de 350 mil embriões PIVE. A PIVE permite obter os melhores resultados e em um curto período. Embora experimentando apreciável crescimento, a utilização da tecnologia é pequena, ao considerar-se que o Brasil possui o maior rebanho comercial de bovinos do mundo.

Diferentes protocolos de ressinchronização tem sido propostos para gado de leite (Green et al., 2010) e corte (Sa Filho et al., 2014). Todos, porém visam a melhoria da eficiência de programadas de IA. Como os protocolos para IA e TE tem semelhanças, metodologias semelhantes poderiam ser utilizadas para receptoras de embrião.

¹ Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – Campus Machado. Machado/MG - E-mail: renatomattos.rmf@hotmail.com

² Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – Campus Machado. Machado/MG. E-mail: alexanddremb@hotmail.com

³ Universidade José do Rosário Vellano – Campus Alfenas. Alfenas/ MG. E-mail: douglasmedvet@outlook.com

⁴ Universidade José do Rosário Vellano – Campus Alfenas. Alfenas/ MG. E-mail: carlos@biotran.com.

⁵ Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – Campus Machado. Machado/MG - E-mail: jose.garcia@ifsuldeminas.edu.br

Para evitar perdas, foram propostas alternativas, visando o uso racional das fêmeas que recebem os embriões. Protocolos de ressincronização, embora em pequena escala, já usado para aumentar a taxa de animais servidos em programas de inseminação artificial (IA) também pode ser aplicada em um programa de transferência de embriões (TE). O objetivo neste estudo foi desenvolver um protocolo hormonal de ressincronização visando viabilidade econômica no setor de transferência de embriões, com uma proposta de obter redução do tempo em que as fêmeas não gestantes não permanecem servidas.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi dividido em duas etapas ou experimentos. Inicialmente (exp. 1) determinou a eficiência da utilização de 1mg de benzoato de estradiol (BE) para sincronização da onda de desenvolvimento folicular. No Exp. 2 avaliou o efeito de um protocolo de ressincronização, em fêmeas, receptoras de embrião, com situação de gestação desconhecida, ou seja, iniciado antes do diagnóstico de gestação. Em ambos os experimentos foram utilizadas fêmeas bovinas mestiças, sem raça definida, manejadas em pastagem de *Brachiária brizanta*, suplementadas com mistura mineral comercial e água *ad libitum*.

Etapa/Exp1: Neste experimento foram utilizadas 40 fêmeas, sendo 20 vacas e 20 novilhas. Utilizou-se apenas fêmeas ciclando, caracterizadas pela presença de um corpo lúteo. Os animais tiveram o diâmetro do maior folículo mensurado por ultrassonografia no início do estudo, quando foram divididas de acordo com esta mensuração em dois grupos homogêneos, em que o grupo BE (N=20): receberam implante de progesterona e 1mg de benzoato de estradiol intramuscular, e o grupo SF (N=20): implante de progesterona e 1ml de soro fisiológico. Para avaliar a ocorrência de atresia, o diâmetro do maior folículo foi novamente mensurado nos dias 2 e 3 após os tratamentos. Outras avaliações ultrassonográficas ocorreram nos dias 4 e 5, visando detectar a emergência de uma nova onda de desenvolvimento folicular. Considerou-se à onda sincronizada quando houve redução do diâmetro do folículo dominante entre D0 e D3 e presença de um folículo com diâmetro superior a 4mm em desenvolvimento entre D4 e D5. Todas as avaliações foram realizadas com um equipamento de ultrassonografia portátil e transdutor linear transretal de 5,0MHz (Mindray™ – M5).

Etapa/Exp2: 368 fêmeas mestiças, cíclicas, tiveram a ovulação sincronizada pelo seguinte protocolo de transferência de embriões em tempo fixo (TETF): D0 – colocação de implante vaginal de progesterona e aplicação de 1mg de BE; D8 – retirada do implante,

aplicação de 0,15mg de D-cloprostenol e 0,5mg de Cipionato de estradiol. Onze dias após o final do protocolo, os animais foram avaliados por ultrassonografia e aqueles com corpo lúteo foram inovulados com embriões produzidos *in vitro* (PIVE), originados de doadoras da raça Gir e sêmen sexado de touros holandeses (HPB). Catorze dias após a inovulação (D31) em relação ao início do estudo estas receptoras foram aleatoriamente divididas em dois grupos: RES (N=184), receberam outro implante vaginal de progesterona e aplicação de 1mg de BE. Já o grupo CONT (N=184) nenhum tratamento. Todas as fêmeas foram submetidas a diagnóstico de gestação 22 dias após inovulação (D39). As fêmeas do grupo RES diagnosticadas gestantes terão o implante removido. Aquelas diagnosticadas não gestantes, além do implante retirado, aplicou-se 0,75mg de D-cloprostenol e 0,5mg de Cipionato de estradiol. Foram reavaliadas, 10 dias mais tarde (D49).

Os dados referentes á atresia folicular no experimento 1 avaliou-se quanto a normalidade e aqueles com esta característica serão comparados por Anova. A eficiência na sincronização do desenvolvimento folicular foi comparada pelo Teste Exato de Fisher. No experimento 2, a taxa de gestação entre os grupos após a 1ª e 2ª inovulações foram comparadas pelo Teste Exato de Fisher. Considerando a significativa probabilidade menor de 5%. Utilizou nas análises o programa SAS (2002).

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

A taxa de prenhez da 1ª TE não diferiu ($P > 0,05$ - 52,2 vs. 48,9% para G1 e G2, respectivamente). O resultado confirma que a ressincronização não interfere na manutenção da gestação. Também não houve diferença na taxa de prenhez após a segunda TE ($P > 0,05$ - 47,9 vs 48,8% para G1 e G2, respectivamente). Isto mostra que a ressincronização não interfere na fertilidade da receptora. Os resultados assemelham aos obtidos por Santos (2014), porem com inseminação artificial ao invés TE.

Em protocolos de transferência de embriões o sucesso é variável, entretanto os resultados foram satisfatórios quando comparados aos obtidos por SPEGIORIN et al (2010) que alcançou taxa de prenhez de 43% com n=34 mil transferências e por LOIOLA (2014) que teve 43,8 %.

A técnica de ressincronização para transferência de embrião apesar de ser uma biotecnica já utilizada em IATF, ainda é pouco estudada em TETF. Por isso, possui poucos

resultados no meio científico. Contudo nossa pesquisa ajudara próximas investigações no assunto, por ser uma das primeiras no Brasil.

5. CONCLUSÕES

Conclui-se que o protocolo de ressincronização utilizado não interfere na manutenção da gestação e pode oferecer alternativa para reduzir o período entre inovulações.

6-AGRADECIMENTOS

À empresa Biotran pela parceria com o Instituto Federal do Sul de Minas Gerais-Campus Machado, que proporcionou a realização desta pesquisa e as instituições de fomento FAPEMIG e CNPq, as quais ofereceram condições para execução do projeto.

REFERÊNCIAS

GREEN J.C., OKAMURA C.S., MATHEW D.J., NEWSOM E.M., LUCY M.C. Hot topic: successful fixed-time insemination within 21 d after first insemination by combining chemical pregnancy diagnosis on d 18 with a rapid resynchronization program. **J Dairy Sci** 2010;93:5668–72.

LOIOLA, M.V.G. et al. Taxa de gestação de receptoras de embriões bovinos tratadas com um análogo do GnRH no momento da inovulação. **Rev. Bras. Saúde Prod. Anim.**, Salvador, v.15, n.3, p.782-789 jul./set., 2014

SÁ FILHO, M.F., MARQUES, M.O. GIROTTI B. R., SANTOS F.A. SALA, R.V., BARBUIO J.P., BARUSELLI, P.S. Resynchronization with unknown pregnancy status using progestin based timed artificial insemination protocol in beef cattle. **Theriogenology**.2013; 81: 284-290.

SANTOS J.S. A somatotropina bovina recombinante sobre a eficiência reprodutiva de vacas Nelore submetidas à ressincronização e inseminadas em tempo fixo. 2014. 45p. Tese de doutorado- Universidade Federal do Tocantins, campus Araguaína. Araguaína 25/02/2014.

SPEGIORIN et al., 2010. **Avaliação das taxas de gestação após transferência de embriões bovinos produzidos *in vitro* e vitrificados, em diferentes raças e em escala comercial**. Disponível em: <http://www.sbte.org.br/>. Acessado no dia 20 de agosto de 2016

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM - SAS. User's guide. Cary: **SAS Institute**, 2002. 525p.