

# EFEITO DO PERÍODO E DO NÚMERO DE ANIMAIS NA TAXA DE PREENHIZ DE RECEPTORAS SUBMETIDAS À TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES PROVENIENTES DA PRODUÇÃO *IN VITRO*

Antonio Hugo Bezerra Colombo\*  
Lisiane Zaniboni\*  
Fábio Luiz Bim Cavaliere\*\*  
Luiz Paulo Rigolon\*\*  
Milena Seko\*\*\*  
Victor Azuma\*\*\*  
José Maurício Gonçalves dos Santos\*\*\*\*

**RESUMO:** Neste estudo foram analisados dados de embriões bovinos da raça Nelore (doadoras) submetidos à fertilização *in vitro*, e bovinos sem raça definida (receptoras), que receberam embriões provenientes das doadoras por meio da transferência de embriões. O estudo contou com 762 animais e o objetivo foi verificar o efeito do período e do grupo de animais submetidos à transferência de embrião na taxa de prenhez com embriões provenientes da produção *in vitro*. Foi observado efeito significativo para variável período, onde o primeiro (38,19%), terceiro (36,72%), quinto (38,17%) e sétimo (31,03%) períodos diferiram estatisticamente do segundo (16,96%), quarto (28,77%) e sexto (25,74%) períodos; também foi encontrada significância entre o segundo, quarto e sexto períodos, onde o quarto diferiu estatisticamente do segundo e sexto períodos. Para variável grupo de animais também foi encontrado efeito significativo, entre o grupo 4 (16,42%) e os grupos 1 (34,30%), 2 (33,07%) e 3 (34,08%). As variáveis período e grupo de animais são importantes fontes de variação na taxa de prenhez de receptoras submetidas à transferência de embriões com embriões provenientes da produção *in vitro*.

**PALAVRAS-CHAVE:** Aspiração Folicular; Produção de Oócitos; Reprodução Bovina.

---

\* Discentes do Curso de Medicina Veterinária do Centro Universitário de Maringá - UNICESUMAR, Maringá - PR; Bolsista PIBIC/CNPq. E-mail: colombobhantonio@gmail.com

\*\* Orientadores, Docentes Doutores do Centro Universitário de Maringá - UNICESUMAR, Maringá - PR; E-mail: fbim52@hotmail.com; rigolon@wnet.com.br

\*\*\* Membros da equipe do Laboratório de Biotecnologia do Centro Universitário de Maringá - UNICESUMAR, Maringá - PR; E-mail: milaseko@hotmail.com; victor\_azuma@hotmail.com

\*\*\*\* Participante, Docente Doutor do Centro Universitário de Maringá - UNICESUMAR, Maringá - PR; E-mail: jmgds@hotmail.com

## EFFECT OF PERIOD AND NUMBER OF ANIMALS IN PREGNANCY RATES IN THE TRANSFERENCE OF EMBRYOS FROM *IN VITRO* PRODUCTION

**ABSTRACT:** Data on Nelore cattle embryos (donors) submitted to in vitro fertilization and on cattle without any defined breed (receptor) which received embryos from donors by embryo transference are analyzed. Assay comprised 762 animals and verified the effect of period and animal group submitted to embryo transference on the pregnancy rate with embryos from in vitro production. Significant effect for the variable period was reported, in which the first (38.19%), third (36.72%), fifth (38.17%) and seventh (31.03%) periods statistically differed from the second (16.96%), fourth (28.77%) and sixth (25.74%) periods. Significant effect also occurred between the second, fourth and sixth periods where the fourth statistically differed from the second and sixth periods. Significant effect was reported also in the case of the variable animal group, namely, between group 4 (16.42%) and groups 1 (34.30%), 2 (33.07%) and 3 (34.08%). Variables period and animal group are relevant variation sources of pregnancy rate of receptors submitted to embryo transference with embryos from in vitro production.

**KEY WORDS:** Follicular Aspiration; Production of Oocytes; Bovine Reproduction.

### INTRODUÇÃO

A reprodução animal é uma característica importante para o sistema de produção de vacas Nelore, pois através deste processo é possível promover melhoria da rentabilidade na atividade e o emprego de programas de seleção animal, em função da maior taxa anual de reposição (MORAES; JAUME; SOUZA, 2005).

A fertilização *in vitro* (FIV) aparece como uma das principais tecnologias para o aumento da produção de vacas com o propósito de cumprir a exigência de um bezerro anual por vaca, em um sistema de produção bovina. O período de gestação de uma vaca é de 280 dias; após o parto, ela necessita de 40 a 60 dias para recuperação da capacidade reprodutiva, ou seja, tem-se cerca de 22 dias após a sua recuperação reprodutiva para emprenhar novamente (BARROS; FIGUEIREDO; PINHEIROS, 1995; PINHEIRO et al., 1998). Nas raças zebuínas essa meta é mais difícil de ser alcançada em virtude do período de gestação ser aproximadamente de

10 dias a mais em relação às raças taurinas (MADUREIRA et al., 2004). Outro fator importante a ser lembrado é que a vaca, devido à produção de leite nos primeiros 45 dias pós-parto, passa por um balanço energético negativo onde ela gasta mais energia do que consome devendo parir com um escore corporal bom para que tenha condições de produzir os fatores que estimulam a produção do hormônio luteinizante (MIZUTA, 2003).

Apesar dos esforços visando atingir essa meta, a maioria das fêmeas bovinas produz somente um bezerro a cada dois anos, apresentando um período de serviço próximo aos 300 dias (MORAES, 1999), sendo que a lactação e a subnutrição são os principais responsáveis pelo prolongado intervalo entre partos (SHORT et al., 1990). Assim os protocolos hormonais de indução do estro e as técnicas da biotecnologia servem como ferramenta para aumentar os índices reprodutivos.

A inseminação artificial em tempo fixo (IATF), transferência de embrião (TE), produção de embriões *in vitro* (PIV) e a fertilização *in vitro* (FIV) são técnicas desenvolvidas pela biotecnologia sendo que a FIV vem apresentando avanços consideráveis e está sendo lentamente incorporada aos projetos de reprodução. Com o desenvolvimento do método de punção folicular, tornou-se possível a recuperação de ovócitos de fêmeas vivas para a FIV, abrindo novos caminhos para a multiplicação de animais de interesse econômico superando os atuais índices da TE clássica, no que diz respeito à produção de bezerros/vaca/ano. Essa técnica pode ser utilizada em animais jovens, gestantes ou lactantes e com problemas de infertilidade adquiridos (TERVIT, 1996; GOODHAND et al., 1999; MALARD et al., 1999; TANEJA et al., 2000).

Este trabalho tem como objetivo verificar o efeito do período onde foram testados os índices de prenhez, verificando quais são os melhores e piores momentos para realização da FIV e também foram analisados os efeitos da reutilização da receptora no índice de prenhez, ou seja, o quanto é possível utilizar uma mesma receptora sem que esta não interfira negativamente no índice de prenhez.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

Este experimento foi desenvolvido na fazenda do CESUMAR (Centro Universitário de Maringá), localizada na Avenida Morangueira, lote 31/35, zona rural

do município de Maringá, Paraná. Os dados utilizados neste estudo foram cedidos pela equipe de médicos veterinários do CESUMAR entre o período de 2010 e 2011. Foram utilizadas 762 fêmeas sem raça definida (receptoras de TE) e foram realizadas 1350 transferências de embriões nestas receptoras.

Foram efetuadas duas análises; na primeira foi realizada uma análise buscando verificar o efeito do período na taxa de prenhez. A coleta de dados ocorreu de dezembro de 2010 a julho de 2011, os períodos foram separados por mês, ou seja, cada mês contou como um período.

Na segunda variável o fator observado foi o efeito do grupo de animais na taxa de prenhez. Foram definidos quatro grupos, sendo estes assim divididos: primeiro grupo, fêmeas de primeiro uso, que receberam a transferência de apenas um embrião; segundo grupo, fêmeas de segundo uso, que receberam a transferência de dois embriões em momentos distintos; terceiro grupo, fêmeas de terceiro uso, que receberam a transferência de três embriões em períodos distintos; e quarto grupo, fêmeas de quarto uso, onde receberão a transferência de quatro embriões em momentos distintos.

O software utilizado para realização das análises foi o SAS (Statistical Analysis System), o modelo escolhido foi a distribuição binomial no procedimento Proc Genmod.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 pode-se observar o efeito dos períodos na taxa de prenhez de animais submetidos à transferência de embrião (TE), com embriões provenientes da fertilização *in vitro*, sendo verificado efeito significativo para variável período na taxa de prenhez ( $P < 0,05$ ), os 1º, 3º, 5º e 7º períodos foram melhores do que os 2º, 4º e 6º períodos; o 4º período apresentou o pior resultado ( $P < 0,05$ ). Os 1º, 3º, 5º e 7º foram os que apresentaram melhores resultados na taxa de prenhez, sendo 38,19%, 36,72%, 38,17% e 31,03%, respectivamente. A taxa de prenhez do 4º período apresentou 28,77% e os 2º e 6º períodos foram os que apresentaram os piores resultados na taxa de prenhez, sendo 16,96% e 25,74%, respectivamente.

**Tabela 1.** Média de prenhez de embriões de vacas nelores transferidos em receptoras sem raça definida durante o período de 2010 e 2011, na fazenda Entre Rios, localizada no município de São Francisco de Guaporé – Rondônia.

Período	Animais	Positivo	Negativo	Taxa de prenhez %*
1º	288	110	178	38,19a
2º	112	19	93	16,96b
3º	177	65	112	36,72a
4º	146	42	104	28,77c
5º	317	121	196	38,17a
6º	136	35	101	25,74b
7º	174	54	120	31,03a

\* Médias seguidas de letras diferentes diferem estatisticamente ( $P < 0,05$ ).

Fonte: Dados da pesquisa

O fator nutricional pode estar diretamente ligado à variação estatística observada na Tabela 1, já que a nutrição balanceada nos primeiros 30 dias após a transferência do embrião é um fator primordial para o sucesso da técnica. A nutrição está relacionada com a implantação do embrião, desenvolvimento do feto e com as adaptações maternas direcionadas para essa finalidade (HAFEZ; JAINUDEEN, 2004). Almeida (2010) mostram em seus dados que o período não tem efeito significativo no desempenho reprodutivo de fêmeas da raça Brahman ( $P < 0,05$ ). O período do ano tem efeito significativo quando, em determinado momento, os animais passam por necessidades nutricionais prejudicando o seu desempenho reprodutivo (ALMEIDA; LOBATO; SCHENKEL, 2002).

Na Tabela 2 pode ser observado o efeito do grupo de animais utilizados na taxa de prenhez de animais submetidos à transferência de embriões, com embriões provenientes da fertilização *in vitro*. Como descrito acima os grupos foram separados de acordo com o número de utilização, sendo receptoras de primeira, segunda, terceira e quarta utilização, 1, 2, 3 e 4, respectivamente.

**Tabela 2.** Média de prenhez de embriões de vacas nelores transferidos em receptoras sem raça definida durante o período de 2010 e 2011, na fazenda Entre Rios, localizada no município de São Francisco de Guaporé – Rondônia.

Grupo	Animais	Positivo	Negativo	Taxa de prenhez %*
1	723	248	475	34,30a
2	381	126	255	33,07a
3	179	61	118	34,08a
4	67	11	56	16,42b

\* Médias seguidas de letras diferentes diferem estatisticamente ( $P < 0,05$ ).

Fonte: Dados da pesquisa

Na Tabela 2 pode ser observado efeito significativo para variável grupo de animais na taxa de prenhez ( $P < 0,05$ ). O grupo 4 apresentou resultado menor em relação aos demais, com uma média de 16,42% na taxa de prenhez. Os grupos 1, 2 e 3 apresentaram taxas de prenhez de 34,30%, 33,07% e 34,08%, respectivamente. O grupo 4 apresentou uma taxa de prenhez abaixo do normal sendo inviável a utilização destes animais para emprego da técnica.

O fato de reutilizar fêmeas receptoras de TE mostrou-se viável até a terceira utilização, a partir da quarta utilização há piora nas taxas de prenhez devido à seleção onde as melhores emprenham com maior rapidez e o fato da técnica de TE por mais bem realizada que seja no quesito higiênico, acaba sempre levando um pouco de contaminação para o útero das receptoras. Outro fator observado foi que, com o passar do tempo, as receptoras vão elevando seu escore corporal podendo ser também um fator que prejudique a taxa de prenhez uma vez que fêmeas com excesso de peso têm dificuldade para emprenhar devido ao depósito de tecido adiposo nos ovários interferindo em seu ciclo reprodutivo (MILES et al., 2004).

O período e grupo de animais testados mostraram-se importantes fontes de variáveis sobre a taxa de prenhez de receptoras submetidas à transferência de embriões com embriões provenientes da produção *in vitro*. Outros fatores que podem estar relacionados com taxa de prenhez de receptoras submetidas à transferência de embriões com embriões provenientes da produção *in vitro* devem ser analisados para cada vez mais obter melhores resultados com a biotecnologia.

#### 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os grupos que apresentaram maior taxa de prenhez durante o período do experimento que ocorreu de dezembro de 2010 a julho de 2011, na fazenda Entre Rios, localizada no município de São Francisco de Guaporé – Rondônia, foram os que estavam melhores nutridos no momento da transferência de embriões e os animais com menor número de utilização da técnica de transferência de embriões apresentando o útero em melhores condições para receber o embrião.

#### REFERÊNCIAS

ALMEIDA, G. R. Avaliação do efeito da sazonalidade no desempenho de fêmeas bovinas da raça Brahman na produção de embriões produzidos *in vitro* (PIV) na Colômbia. In: CONGRESSO MUNDIAL DA RAÇA BRAHMAN, 15., 2010, Uberaba, MG. **Anais...** Uberaba: [s.n.], 2010. p. 17-24.

ALMEIDA, L. S.P.; LOBATO, J.F.P.; SCHENKEL, F.S. Data de desmame e desempenho reprodutivo de vacas de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.3, p. 1223-1229, 2002.

BARRUFI, F. B.; MADUREIRA, E. H.; MARQUES, A. et al. Avaliação do uso de Crestar ou CIDR+ benzoato de estradiol, seguidos ou não pela aplicação de gonadotrofina coriônica equina (eCG), no desempenho reprodutivo de vacas de corte com bezerro ao pé. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, v. 23, p. 332-333, 1999.

BARROS, C. M.; FIGUEREDO, R. A.; PINHEIROS, O. L. Estro, ovulação e dinâmica folicular em zebuínos. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, v.19, p. 9-22, 1995.

GOODHAND, K. L.; WATT, R. G.; STAINES, M. E. et al. In vivo oocyte recovery and in vitro embryo production from bovine donors aspirated at different frequencies or following FSH treatment. **Theriogenology, Gainesville**, v. 51, n. 5, p. 951-961, 1999.

HAFEZ, E. S. E.; JAINUDEEN, M. R. In: **Fisiologia da reprodução**. 7. ed. [s.l.:s.n.], 2004. Cap. 10, 28, p. 141-155, 399-408.

MADUREIRA, E. H.; PIMENTEL, J. R. V.; ALMEIDA, A. B.; ROSSA, L. A. F. Sincronização com progestágenos. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUÇÃO ANIMAL APLICADA, 1., 2004, Londrina. **Anais...** São Paulo: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 2004. p. 117-128.

MORAES, J. F. C. Anestro e fertilidade pós parto em bovinos de corte. In: GALINA, C. et al. **Avanços na reprodução bovina**. Pelotas: Universitária, 1999. p. 25-33.

MORAES, J. C. F.; JAUME, C. M.; SOUZA, C. J. H. Controle da reprodução em bovinos de corte. **Comun Téc Embrapa Pecuária Sul**, n.58, p. 1-3, 2005.

MILES, J. R.; FARIN, C. E.; RODRIGUEZ, K. F.; ALEXANDER, J. E.; FARIN, P. W. Angiogenesis and morphometry of bovine placentas in late gestation from embryos produced in vivo or in vitro. **Biology of reproduction**. v. 71, n. 6, p. 1919-1926, 2004.

MIZUTA, K. **Estudo comparativo dos aspectos comportamentais do estro e dos teores plasmáticos de LH, FSH, progesterona e estradiol que precedem a ovulação em fêmeas bovinas Nelore (*Bos taurus indicus*), Angus (*Bos taurus taurus*) e Nelore x Angus (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*)**. 2003. 98f. Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, São Paulo, 2003.

PINHEIRO, O. L.; BARROS, C. M.; FIGUEREDO, R. A.; VALLE, E. R.; ENCARNAÇÃO, R. O.; PADOGANI, C. R. Estrous behavior and the estrus-ovulation internal in Nelore cattle (*bos indicus*) with natural estrus or estrus induced with prostaglandin F2alpha or norgestomet and estradiol valerate. **Theriogenology**, v. 49. p. 667-81, 1998.

SHORT, R. E.; BELLOWS, R. A.; STAIGMILLER, R. B.; BERARDINELLI, J. G.; CUSTER, E. E. Physiological mechanisms controlling anestrus and fertility in postpartum beef cattle. **Journal of Animal Science**, v.68, n. 3, p. 799-816, 1990.

TANEJA, M.; BOLS, P.E.J.; VELDE, V. Development competence of juvenile calf oocytes in vitro and in vivo: influence of donor animal, variation and repeated gonadotrooin stimulation. **Bio. Reprod.**, Champaingn, v. 62, p. 206-213, 2000.

TERVIT, H. R. Laparoscopy/lapatomy oocyte recovery and juvenile breeding. **Anim. Reprod. Sci.**, Amsterdam, v. 42, N. 1-4, p. 227-238, 1996.

*Recebido em: 28 de maio de 2012*

*Aceito em: 30 de outubro de 2012*