

Transferência de embrião em vacas da raça Simental na região noroeste do Paraná e Sul do Mato Grosso do Sul

Embryotransfer in Simmental cows in northwest Paraná and South of Mato Grosso do Sul

Estefano DEMCZUK¹; Luiz Ernandes KOZICKI²; Edilson Santos PONTELLI¹;
Jackson Oliveira SALLES¹

CORRESPONDÊNCIA PARA:
Luiz Ernandes Kozicki
Departamento de Medicina
Veterinária
Setor de Ciências Agrárias
Universidade Federal do Paraná
Caixa Postal 2959
Rua Jaime Balão, 575 – Bairro
Hugo Lange
80040-340 – Curitiba – PR
e-mail:
lkozicki@agrarias.ufpr.com.br

1 - Embrio-sêmen Fertilidade e
Planejamento Percuário Ltda.
Umuarama – PR
2 - Departamento de Medicina
Veterinária do Setor de Ciências
Agrárias da UFPR – PR

RESUMO

No experimento foram utilizadas vacas da raça Simental procedentes de fazendas das Regiões Noroeste do Estado do Paraná e Sul do Mato Grosso do Sul, administrando-se o hormônio foliculo estimulante (FSH) para a superovulação e utilizando-se o método cirúrgico para a inovulação dos embriões nas receptoras. No total foram efetuadas 103 colheitas e utilizadas 749 vacas receptoras. Foram colhidos 1.014 embriões sendo 81,8% destes transplantados e os restantes congelados ou rejeitados. Colheram-se em média 9,8 embriões por doadora sendo 8,0 transplantados, proporcionando 3,8 animais prenhes por colheita. Ocorreram 4,8% de colheitas sem embrião e 1,9% de óvulos não-fertilizados. Relativamente ao tamanho do corpo lúteo (CL) palpado nas vacas receptoras, os dados demonstraram que os *Corpora lutea* de médio e maior tamanho tiveram significativa influência sobre a taxa de prenhez em relação aos de menor tamanho ($p < 0,05$) e 64,0% das receptoras ovularam no ovário do lado direito. A taxa de prenhez em relação à sincronia de estro entre doadoras e receptoras foi mais elevada entre os dias mais 2 e menos 2 ($p > 0,05$) (o mais significa que o estro nas receptoras ocorreu após o da doadora e vice-versa), sendo muito baixa além destes limites. Os embriões classificados como ótimos e bons e inovulados influíram significativamente sobre o percentual de prenhez, e o total geral da taxa de gestação foi de 47,0%.

UNITERMOS: Transferência de Embriões; Superovulação; FSH; Vacas.

INTRODUÇÃO

Em face das prementes demandas da produção de proteína animal, pesquisadores buscam o aprimoramento e a exploração de animais dotados de elevada capacidade genética no ganho de peso e na produção de leite. Nesse contexto, a medicina veterinária empenhou-se profundamente na atual década no sentido da melhora e aplicabilidade das biotécnicas da reprodução. Nesse particular, a transferência de embrião nos bovinos obteve consideráveis avanços nos últimos anos.

Nesse sentido, Yamamoto *et al.*¹⁵ experimentaram o hormônio foliculo estimulante (FSH) em vacas de leite, administrando diferentes doses e concluíram que 40 mg foi a melhor concentração ao se colherem 13 embriões por vaca. Ainda, segundo esses autores, a dose de 30 mg proporcionou 74,1% de embriões transferíveis, com menor número de embriões por colheita.

Huhn *et al.*⁶ e Piturru¹² igualmente utilizando FSH relataram respectivamente a obtenção de 7,0 e 6,5 de zigotos transferíveis por vaca, enquanto Roberts *et al.*¹³ e Martinez Borjas *et al.*¹⁰ obtiveram 5,2, Chauhan *et al.*³ e Oliveira *et al.*¹¹ 3,2 e Agarwal *et al.*¹ somente um embrião transferível por vaca.

Relativamente ao estágio do ciclo estral no qual o experimento foi realizado, Roberts *et al.*¹³ demonstraram que se a superovulação for realizada no estágio inicial, pode haver aumento proporcional de embriões transferíveis.

Com relação aos aspectos de taxa de gestação nos embriões transplantados, observa-se que há considerável variação nos relatos da literatura. Diniz; Jacomini⁴, ao trabalharem com bovino Simental, obtiveram 67,9% de gestação. Por sua vez, Piturru¹² verificou taxa de prenhez de 58,9% enquanto Kim *et al.*⁹; Oliveira *et al.*¹¹ e Callesen *et al.*² lograram obter 43,0%.

O experimento teve como objetivo levantar o perfil das transferências de embriões realizadas nas Regiões Noroeste do Paraná e Sul do Mato Grosso do Sul nos bovinos da raça Simental, atualmente em grande fase de expansão nas regiões citadas.

MATERIAL E MÉTODO

O trabalho foi conduzido nas Regiões Noroeste do Paraná e Sul do Mato Grosso do Sul no período compreendido entre setembro de 1991 e setembro de 1993, sendo realizadas 103 colheitas de embriões de animais doadores (D) da raça Simental e utilizadas 749 receptoras (R) sem raça definida (SRD) com diferentes portes. As vacas encontravam-se em bom estado nutricional e eram mantidas em regime semi-intensivo de pastoreio (pastagens de capim napier, braquiária), recebendo adicionalmente silagem de milho, ração e sal mineral *ad libitum*. Os animais doadores encontravam-se na faixa etária de 18 meses a 10 anos, produzindo de 5 a 8 litros de leite/dia.

Os trabalhos junto aos animais eram realizados nas próprias fazendas, executando-se previamente exame ginecológico completo nas doadoras com ciclo estral fisiológico. A observação do estro era feita às 7 e às 17 horas. Os animais doadores foram superovulados em média 1,7 vez seguida, sendo que 50,0% sofreram uma superovulação; 32,7% duas; 10,3% três; e 6,9% quatro, a intervalos de 90 dias entre uma e outra. A relação dos animais disponíveis foi de 1 doador para 20 receptores.

Para a realização da superovulação foram utilizadas 1.050 UI de hormônio folículo estimulante (FSH)*, subdividindo-se as doses em 5 dias seguidos, sendo 300 UI no 1º e 2º dia e 150 UI no 3º, 4º e 5º dias, via intramuscular. O início da superovulação ocorreu no 7º-8º dia do ciclo (estro = dia 0) e para a sincronização do estro (das doadoras e receptoras) foram utilizados 500 µg de cloprostenol (IM)**. Nas receptoras, o cloprostenol foi administrado 24 horas antes que nas doadoras.

Após os procedimentos normais de contenção em tronco, as vacas doadoras eram submetidas à lavagem uterina (sistema fechado com filtro específico), utilizando-se 500 ml de Phosphat Buffer Solution (PBS) para cada corno uterino. Após a lavagem uterina, o animal recebia uma dose de 500 µg de cloprostenol (IM). A seguir o lavado era examinado para a procura e avaliação das estruturas embrionárias. Os embriões eram avaliados quanto à qualidade e classificados como G1 = ótimo; G2 = bom; G3 = sofrível e G4 = ruim. Noventa por cento desses encontravam-se no estágio de desenvolvimento entre morula e blastocisto jovem. A inovulação dos zigotos obedeceu a metodologia cirúrgica no flanco, correspondente ao lado onde havia o corpo lúteo previamente palpado, e o local da deposição do embrião foi o segmento médio do corno. Antes da inovulação propriamente dita, o CL das receptoras era palpado e avaliado conforme seu tamanho em: CL 1 = o menor corpo lúteo, CL 2 = o de tamanho médio e CL 3 = o maior. Todas as transferências foram realizadas sob anestesia epidural baixa, bem como anestesia local infiltrativa no flanco. Sessenta dias após a inovulação dos embriões, os animais receptores eram submetidos ao diagnóstico de gestação por palpação retal.

Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos aos tratamentos estatísticos da média aritmética, desvio padrão, percentagem e, na comparação entre duas percentagens, utilizou-se o teste χ^2 .

RESULTADOS

Os resultados podem ser observados nas Tab. 1 e 2. Dos 1.014 embriões colhidos, 81,8% foram implantados, sendo os demais congelados, ou rejeitados, caso demonstrassem baixa qualidade na avaliação. Os embriões congelados não foram inovulados nesse trabalho. Devido ao número satisfatório de receptoras disponíveis para cada doadora superovulada, puderam-se implantar 8,0 embriões por colheita.

DISCUSSÃO

É significativa a expansão que bovinos da raça Simental vêm alcançando no Brasil, e principalmente no noroeste do Paraná e no sul do Mato Grosso do Sul nesses últimos anos. Os animais dessa raça, por possuírem ótimo desempenho, fazem com que os criadores solicitem mais e mais trabalhos no âmbito das transferências de embriões. Os resultados encontrados mostraram-se promissores em diversos aspectos reprodutivos, e sofríveis em outros.

A média de embriões recolhidos por colheita nesse trabalho mostrou-se satisfatória ($9,8 \pm 6,5$), comparando-se com a de pesquisadores como Piturru¹²; Yamamoto *et al.*¹⁵ e Callesen *et al.*², os quais obtiveram 9,2; 9,0 e 10,0 embriões/colheita respectivamente e superior aos achados de Chauhan *et al.*³; Oliveira *et al.*¹¹ e Agarwal *et al.*¹ ao recolherem respectivamente 3,2; 4,0 e 2,3 embriões. O bom nível da resposta dos animais doadores à superovulação, em condições climáticas quentes como nesse caso especificamente, poderia sinalizar positivamente a maior adoção dessa biotécnica nas regiões geográficas aqui consideradas.

Considerou-se bom o número de embriões implantados ($8,0 \pm 5,9$) por colheita, devido à qualidade dos embriões e à disponibilidade de receptoras, equivalendo-se aos índices obtidos por Roberts *et al.*¹³, e acima da média conseguida por Agarwal *et al.*¹; Huhn *et al.*⁶; Oliveira *et al.*¹¹; Piturru¹²; Callesen *et al.*²; Martinez Borjas *et al.*¹⁰ e por Yamamoto *et al.*¹⁵. Ocorreu satisfatória taxa de prenhez/colheita no presente trabalho (3,8) ao se comparar com relatos de Diniz; Jacomini⁴ (5,3) igualmente trabalhando com bovinos da raça Simental (Tab. 1)

Em análise mais aprofundada dos dados obtidos na pesquisa (Tab. 2), ficou demonstrada a significativa influência do tamanho do CL das receptoras sobre a taxa de prenhez. Isto é, quanto maior o CL palpado, mais elevado o índice de gestação. Embora o

Tabela 1

Dados do número de colheitas, número de embriões colhidos, implantados, colhidos e implantados por colheita e número de receptoras prenhes por colheita em bovinos da raça Simental nas Regiões Noroeste do Paraná e Sul do Mato Grosso do Sul, submetidos a superovulação com FSH, entre 1991 e 1993.

Total de colheitas	Total de embriões	Embriões/colheita Total Inovulados	Embriões implantados	Animais prenhes/colheita(x)	Taxa de gestação embriões colhidos e transferidos	
103	1014	9,8±6,6	8,0±5,9	81,8%	3,8	47,0%

* Pergovet 500 - Serono Produtos Farmacêuticos Ltda. - SP.

** Ciosin - Coopers Brasil S.A. - São Paulo.

Tabela 2

Dados da transferência cirúrgica de embriões a campo em bovinos da raça Simental nas regiões noroeste do Paraná e sul do Mato Grosso do Sul, utilizando-se o FSH, entre 1991 e 1993.

Tamanho do CL	Gestação conforme desenvolvimento dos CL nas R	Lado ovariano	Sincronia de estro das R em relação às D (E=estro)	Gestação em relação à sincronia de E entre R e D	Grau de qualidade dos embriões na colheita	Gestação conforme o grau de qualidade do embrião
CL nas R	o grau de desenvolvimento dos CL nas R	CL nas R	estro das R em relação às D (E=estro)	em relação à sincronia de E entre R e D	qualidade dos embriões na colheita	conforme o grau de qualidade do embrião
CL1 = <palpado		D= direito	E+3= E 3 dias após		G1 = ótimo	
CL2 = médio palp.		E = esquerdo	E+2= E 2 dias após		G2 = bom	
CL3 = > palpado			E+1= E 1 dias após		G3 = sofrível	
			E+0= E 0 dias após		G4 = ruim	
			E-1= E 1 dias antes			
			E-2= E 2 dias antes			
			E-3= E 3 dias antes			
CL1 = 19,2	36,0 a	E = 36,0	E+3 = 0,8	16,6 d	G1 = 55,4	51,2 h
CL2 = 51,6	48,8 b	D = 64,0	E+2 = 10,2	44,1 e	G2 = 34,3	40,1 i
CL3 = 29,1	51,2 c		E+1 = 29,1	51,2 f	G3 = 9,9	21,8 j
			E+0 = 36,2	44,3 g	G4 = 0,3	Não houve
			E-1 = 17,0	38,3		
			E-2 = 6,3	42,8		
			E-3 = 0,1			

maior CL palpado tenha se situado em 29,1% das vacas receptoras, ocorreu 51,2% de prenhez nestes animais, seguido de perto pelo CL médio palpado (em 51,5% dos animais) originando prenhez de 48,8%. Esses dados são corroborados por relatos de Thibier; Nibart¹⁴ a respeito da importância da qualidade do corpo lúteo e conseqüentemente da concentração de progesterona no período da transferência dos embriões nos animais receptoras.

Com referência ao lado ovariano da ovulação nas receptoras, nossos achados (36,0 e 64,0%, respectivamente para os lados esquerdo e direito) estão muito próximos daqueles demonstrados por Jainudeen; Hafez⁷, os quais relataram haver maior número de ovulações no lado direito.

Para que a transferência de embriões tenha sucesso, é necessária a sincronização entre o estágio de desenvolvimento do zigoto e o trato reprodutivo da receptora⁵. Relativamente a este assunto, a Tab. 2 demonstra os dados da sincronia de estro das receptoras em relação ao das doadoras e o percentual obtido. Nesse experimento, quando o estro das receptoras ocorreu 2 dias após o das doadoras, os resultados foram concordantes com os de Janowitz⁸, evidenciando 44,1% de taxa de prenhez. Nessa mesma característica, houve leve discrepância entre nossos resultados (51,2%) e os 49,5% de Janowitz⁸, quando o estro nas receptoras ocorreu um dia após o das doadoras, aumentando a diferença ao se comparar com dados de Kim *et al.*⁹, que foi de 38,1%. Quando o estro das receptoras coincidiu no mesmo dia com o das doadoras, nosso índice foi de 44,3%, inferior ao demonstrado por Janowitz⁸ ao relatar 58,2% de prenhez. Relativamente a esse resultado, torna-se difícil levantar uma hipótese explicativa para o fato de que, nas receptoras, a incidência de estro de um dia após o das doadoras tenha acusado índice superior de prenhez (embora sem significância), que o estro co-

incidente no mesmo dia. Nosso índice de 38,3% foi levemente diferente do de Kim *et al.*⁹ (43,8%) relativamente à característica incidência de estro das receptoras, um dia antes do estro das doadoras. Levando-se em conta os dados conseguidos e considerando que mesmo entre esses pesquisadores citados há discrepâncias nos resultados, poder-se-ia afirmar que existem diferenças não só entre raças e rebanhos como também entre indivíduos que compõem o mesmo rebanho, podendo-se aí inter-relacionar-se diversos outros fatores importantes, como manejo, alimentação, sanidade, amamentação, qualidade e quantidade dos hormônios e outros. Os dados desse trabalho demonstraram que a fertilidade caiu drasticamente quando a diferença entre o estro de receptoras e doadoras ultrapassou dois dias, seja antes, seja após. Para Hafez⁵, o período de sincronia não deve ultrapassar 24 horas, colhendo-se os melhores resultados quando ela se fizer presente entre doadoras e receptoras dentro do limite de 12 horas.

Relativamente ao grau de qualidade dos embriões a serem inovulados, Thibier; Nibart¹⁴ e Janowitz⁸ destacaram a grande importância dessa característica para a obtenção de bons resultados. Nossos achados comprovaram tal afirmativa, uma vez que os embriões avaliados como ótimos e bons (aqui designados por G1 e G2) demonstraram significativamente melhores índices de prenhez (51,2 e 40,1%, respectivamente) quando comparados aos embriões classificados como G3 (21,8%) e G4 (Tab. 2).

Os dados de taxa de prenhez disponíveis na literatura têm demonstrado considerável diversidade de resultados dentro do processo de transferência de embrião nos bovinos. No presente trabalho, a inovulação foi feita pelo método cirúrgico no flanco e em condições práticas de fazenda, atingindo 47,0% de prenhez, achados esses inferiores aos de Janowitz⁸; Piturru¹² e Diniz; Jacomini⁴ e levemente superior

aos obtidos por Oliveira *et al.*¹¹ no Brasil e Callesen *et al.*². Nesse particular, Thibier; Nibart¹⁴ relatam que os índices de gestação poderiam chegar a 75% com embriões frescos inovulados pelo método cirúrgico, porém nas condições em que as receptoras fossem muito bem manejadas, como ocorre em centrais específicas para esta finalidade.

CONCLUSÕES

Nas condições em que foram efetuadas as transferências dos embriões, pode-se concluir que:

1- a quantidade e a qualidade de embriões colhidos por animal doador foi boa, equivalendo-se às médias obtidas por outros pesquisadores;

2- o tamanho do CL palpado no ovário das vacas receptoras teve significativa influência sobre a prenhez, sinalizando que os *Corpora lutea* de maior tamanho são os mais desejáveis para se

obterem melhores taxas de prenhez nas receptoras;

3- há maior percentual de ovulação no ovário correspondente ao lado direito dos bovinos;

4- embora sem significância estatística, a incidência de estro nas vacas receptoras deve situar-se no mesmo dia ou um dia após o cio das doadoras;

5- quanto melhor o grau de qualidade dos embriões transplantados, mais elevado foi o índice de prenhez;

6- a taxa geral de prenhez sinaliza que a biotécnica da transferência de embriões poderá ser amplamente adotada nessas regiões consideradas;

7- o índice de prenhez poderá ser aumentado, à medida que melhores normas de manejo, alimentação e sanidade forem sistematicamente adotadas;

8- a raça Simental mostrou grande potencial como doadora de embriões.

SUMMARY

Simmental cows from northwest of the Paraná State and south of Mato Grosso do Sul, were used. A superovulation of donors' cows was induced with FSH, and for embryos inovulation in recipient cows, the surgical method was used. Hundred and three recovered ova were employed and 749 recipients cows were utilized. From 1014 recovered embryos, 81.8% were transferred and the remaining embryos were frozen or rejected. The number of embryos recovered per cow averaged 9.8 ± 6.6 and transferred 8.0, resulting in 3.8 pregnancies per recovery. There were 4.8% of recoveries without embryos and 1.9 % of unfertilized ova. Middle and larger *Corpora lutea* in the recipients cows, had a significant influence on the pregnancy rate in relation to the smaller ($p < 0.05$) and 64.0% of recipients cows had the ovulation on the right ovary. The pregnancy rate relative to the estrus synchronization between donors and receptors cows was higher between days + 2 and -2 ($p > 0.05$) (the + sign indicates that the oestrus in the recipient started after that in the donor and vice versa), being very poor after this time. Embryos classified as very good and good and inovulated, influenced significantly the pregnancy rate. The general pregnancy rate was 47.0%.

UNITERMS: Embryotransfer; Superovulation; FSH; Cows.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- AGARWAL, S.K.; TANEJA, V.K.; SHANKAR, U.; YADAV, M.C.; SANWAL, P.C.; VARSHNEY, V.P. Superovulation, embryo recovery and encorne response in crossbred cattle treated with PMSG and FSH-P. **Indian Journal of Dairy Science**, v.46, n.10, p.450-4, 1993.
- 2- CALLESEN, H.; LÖVENDAHL, P.; BAK, A.; GREVE, T. Factors affecting the developmental stage of embryos recovered on day 7 from superovulated dairy cattle. **Journal of Animal Science**, v.73, n.6, p.1539-43, 1995.
- 3- CHAUHAN, F.S.; SARVAIYA, N.P.; MEHTA, V.M. Superovulation encorne profile and recovery rate following treatment with FSH preparations in Jersey x Kankrej crossbred cows. **Indian Veterinary Journal**, v.71, n.10, p.991-5, 1994.
- 4- DINIZ, E.G.; JACOMINI, J.O. Transferência de embriões bovinos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL. 11., Belo Horizonte, 1995. **Anais**. Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 1995. p.423.
- 5- HAFEZ, E.S.E. Tecnologia reprodutiva assistida: manipulação da ovulação, fertilização *in vitro*/transferência de embrião. In: HAFEZ, E.S.E. **Reprodução animal**. São Paulo: Manole, 1995. p.469-512.
- 6- HÜHN, R.; KÖNIG, I.; ROMMEL, P. Behandlungsregimes und Behandlungszeitpunkte zur Superovulation beim Rind. **Archiv für Tierzucht**, v.37, n.5, p.509-17, 1994.
- 7- JAINUDEEN, M.R.; HAFEZ, E.S.E. Bovinos e bubalinos. In: HAFEZ, E.S.E. **Reprodução animal**. São Paulo: Manole, 1995. p.319-34.
- 8- JANOWITZ, U. Untersuchungen zu Einflussfaktoren auf den Transfererfolg bei Empfängern im Rahmen des Embryotransfers beim Rind. **Animal Breeding Abstracts**, v.63, n.6, p.402, 1995. Resumo 2826.
- 9- KIM, I.H.; SON, D.S.; LEE, K.W.; CHANG, I.H. Non-surgical transfer of fresh and frozen embryos of dairy cattle. **Korean Journal of Veterinary Research**, v.32, n.1, p.143-51, 1992.
- 10- MARTINEZ BORJAS, S.; SANCHEZ-ALDANA PEREZ, A.S.; ANTA JAEN, E.; BERRUECOS VILLALOBOS, J.M.; VALENCIA MENDEZ, J. Valorización de dos hormonas foliculo estimulantes comerciales usadas en la superovulation de vacas en lactacion y vaquillas en ganado lechero. **Tecnica Pecuaria en Mexico**, v.33, n.1, p.29-34, 1995.
- 11- OLIVEIRA, P.G.; VISINTIN, J.A.; BARNABE, V.H.; BARNABE, R.C. Efeitos do hormônio foliculo estimulante (FSH) e da gonadotrofina da menopausa humana (hMG) como agentes superovulantes em tratamentos sucessivos de vacas da raça Holandesa, variedade preta e branca, utilizadas em transferência de embriões. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.31, n.3/4, p.288-94, 1994.
- 12- PITURRU, P.G. **Embryotransfer bei Piemonteser-Rindern nach Superovulationseinleitung mit PMSG/Anti-PMSG sowie mit verschiedenen FSH-Präparaten unterschiedlicher Dosierung**. Hannover, 1994. 91p. Tese (Doutorado) – Tierärztliche Hochschule Hannover.
- 13- ROBERTS, A.J.; GRIZZLE, J.M.; ECHTERNKAMP, S.E. Follicular development and superovulation response in cows administered multiple FSH injections early in the estrous cycle. **Theriogenology**, v.42, n.6, p.917-29, 1994.
- 14- THIBIER, M.; NIBART, M. Clinical aspects of embryo transfer in some domestic farm animals. **Animal Reproduction Science**, v.28, n.1/4, p.139-48, 1992.
- 15- YAMAMOTO, M.; OOE, M.; KAWAGUCHI, M.; SUZUKI, T. Dose response to a single injection of FSH dissolved in polyvinylpyrrolidone for superovulation in cows. **Journal of Reproduction and Development**, v.41, n.1, p.93-6, 1995.

Recebido para publicação: 16/12/1996
Aprovado para publicação: 04/12/1997