

MEIOS ALTERNATIVOS PARA A COLETA DE EMBRIÕES EM BOVINOS

Rafael Ceolim Braganholo (PIC/CNPq/FA/Uem), Gentil Vanini de Moraes (Orientador), e-mail: gvmoraes@uem.br, Eliane Gasparino, Luiz Paulo Rigolon, Fabio Luiz Bim Cavalieri.

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Agrárias /
Departamento de Zootecnia / Maringá, PR. Centro Universitário de Maringá /
Centro de Ciências Agrárias / Departamento de Medicina Veterinária /
Maringá, PR.

5.00.00.00-4 Ciências Agrárias - 5.04.00.00-2 Zootecnia

Palavras-chave: Wagyu, superovulação de bovinos, avaliação da qualidade dos embriões.

Resumo:

O objetivo da pesquisa foi o de avaliar a eficiência da solução de Ringer Lactato de Sódio (SRLS) e SRLS + 1% de Soro Fetal Bovino (SFB) e comparar com a solução tradicional Salina Tamponada modificada por Dulbecco (DMPBS). Foram utilizadas 22 fêmeas da raça Wagyu de 1 a 7 anos de idade, submetidas a uma superovulação e aleatoriamente selecionadas para formar os seguintes grupos: 1) Lavagem uterina com SRLS (n=oitto); 2) Lavagem uterina com SRLS + 1% SFB (n=7); 3) Lavagem uterina com DMPBS (n=7 grupo controle). As fêmeas foram inseminadas duas vezes em uma transferência de embriões em tempo fixo com sêmen de qualidade testada. No 16º dia do protocolo as fêmeas foram submetidas a lavagem uterina para a coleta de embriões. Foram obtidos 76 embriões dos 22 animais utilizados. O valor médio de embriões totais por animal foi de $3,48 \pm 1,27$ ($P=0,1690$), viáveis de $2,40 \pm 0,12$ ($P=0,2123$), congelados de $1,81 \pm 1,04$ ($P=0,0854$), e não viáveis de $1,08 \pm 0,64$ ($P=0,0165$). Não houve diferença entre os grupos quanto a embriões totais, viáveis e congelados, mas houve diferença em embriões não viáveis, sendo menor no meio com SRLS + 1% SFB. Isto permite concluir que os três meios de coleta de embriões foram semelhantes quanto a qualidade dos embriões.

Introdução

A transferência de embriões é um procedimento reprodutivo que apresenta vantagem de permitir explorar fêmeas de elevado valor genético (McCue, 2011), visando contribuir nos trabalhos de melhoramento genético animal de forma rápida (Bülbul et al., 2010). Por essa razão a transferência de embriões têm se tornado popular, contribuído para gerar animal de elevada produção em bovinos de leite e de corte.

O flushing é uma das fases que envolvem custos relacionados a solução de colheita, sendo que em bovinos é tradicional utilizar a solução fosfato tamponada modificada por Dulbecco (Barros e Bényei, 2000), não

tendo encontrado diferença em prenhez de vacas lavadas com solução fosfato tamponada modificada por Dulbecco (DMPBS) e meio zwitterônico.

Por isto, visando melhorar a relação custo benefício, se deve buscar alternativas como meios de menor custo e que preservem os embriões durante o flushing, bem como permita um bom índice de recuperação dos embriões em relação ao número de ovulações (Bülbül et al., 2010). Um dos meios de menor custo por L (\$1,30) é a solução de Ringer Lactato de Sódio, utilizada por (Bülbül et al., 2010) em vacas suíças marrom, tendo obtido 69,5% de recuperação de embriões e a colheita média de 6,3 estruturas e 4,6 embriões viáveis.

O estudo foi realizado com objetivo de avaliar a eficácia da Solução de Ringer Lactato de Sódio na lavagem uterina de fêmeas bovinas para recuperar embriões, determinar os efeitos sobre a qualidade dos embriões e comparar com a solução tradicional DMPBS.

Materiais e métodos

O protocolo experimental foi aprovado pela Comissão de ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Maringá, sob protocolo nº 600570317.

O trabalho foi realizado na região noroeste do Paraná, a 23°25'31" de latitude Sul, a 51°57'19" de longitude Oeste de Greenwich e 550 m de altitude. O experimento foi realizado de 24/01/2018 a 10/02/2018. Foram utilizadas 22 fêmeas bovinas da raça Wagyu, de um a sete anos de idade, mantidas em pastagem de Braquiária brizanta (*Urochloa brizantha*) com cerca de 30% de estrela africana (*Cynodum dactylon*), apresentando uma média de oito por cento de proteína bruta, onde permaneceram durante o experimento, e submetidas a uma coleta de embriões, aleatoriamente distribuídas nos grupos: 1) Lavagem uterina com SRLS (n=oito); 2) Lavagem uterina com SRLS + um por cento de SFB (n=sete); e 3) Lavagem uterina com DMPBS (n=sete, controle). As fêmeas apresentaram condição corporal média de $3,82 \pm 0,15$, classificadas numa escala de 1 a 5 pontos, com um peso médio de $472,06 \pm 42,76$ kg.

As fêmeas foram superovuladas com dispositivo intravaginal de Progesterona, Benzoato de Estradiol (i.m.) e Hormônio Folículo-Estimulante (i.m.), administradas em oito doses decrescentes, Prostaglandina F2 alfa (i.m.) e Gonadotrofina Coriônica Humana (i.m.) e inseminadas duas vezes em uma transferência de embrião em tempo fixo, com sêmen congelado de boa qualidade. No 16º dia de protocolo as fêmeas com no mínimo de três corpos lúteos em ambos os ovários foram submetidas ao flushing uterino para a coleta dos embriões. Os embriões foram obtidos em filtro de 70 µ, mantidos na solução de coleta, rastreados e classificados de acordo com a Sociedade Internacional de Transferência de Embriões em estereomicroscópio. Os embriões de grau um e dois foram congelados.

As análises foram realizadas utilizando-se o procedimento GENMOD do SAS e as médias foram comparadas utilizando-se contrastes e testadas pelo teste de t (P=0,05).

Resultados e Discussão

Os resultados médios (Tabela 1) do número de embriões totais ($P=0,1690$), viáveis ($P=0,2123$) e congelados ($P=0,0854$) obtidos por fêmea de uma única superovulação, não apresentaram diferenças entre os meios utilizados para a lavagem uterina dos três grupos de animais que foram aleatoriamente constituídos. Contudo, na Lavagem uterina com SRLS + 1% SFB verificou-se o menor valor de embriões não-viáveis ($P=0,0165$), comparado aos demais meios. Mas o índice de recuperação de embriões foi maior no meio com DMPBS ($P<0,0001$), não havendo diferença entre o SRLS e o SRLS + 1% SFB.

Diante dos resultados é possível notar que a produção de embriões viáveis por fêmeas obtidos na raça Wagyu é reduzida, o que parece ser uma característica dessa raça de animais, verificando-se a média geral por fêmea de $3,48 \pm 1,27$, e na análise de correlação de Pearson não se verificou ($P=0,2984$) relação entre número de embriões totais e número de folículos ovarianos.

Tabela 1 – Dados médios sobre superovulação de Fêmeas Wagyu e embriões colhidos com Solução Ringer Lactato de Sódio, Solução Ringer Lactato de Sódio mais 1% de Soro Fetal de Bovinos e meio de Dulbecco modificado.

VARIÁVEIS	SOLUÇÕES DE LAVAGEM			P
	SRLS ¹	SRLS+1%SFB ²	DMPBS ³	
Peso vivo (kg)	436,88 ± 28,27a	472,29 ± 31,02a	507,00 ± 69,00a	0,5522
Escore corporal	3,75 ± 0,13a	3,86 ± 0,09a	3,86 ± 0,24a	0,9924
Corpos lúteos totais	23,00 ± 2,44a	16,43 ± 4,33a	22,71 ± 3,00a	0,0070
Folículos totais	23,63 ± 2,03 a	19,43 ± 2,34ab	17,71 ± 2,12b	0,0334
Índice de recuperação (%)	13,86 ± 4,23 b	15,39 ± 4,61b	27,16 ± 13,33a	<0,0001
Embriões Viáveis	1,63 ± 0,71a	2,71 ± 1,25a	2,86 ± 1,39a	0,2123
Estruturas degeneradas	1,25 ± 0,49a	0,29 ± 0,18b	1,71 ± 1,25a	0,0165
Embriões Congelados	1,00 ± 0,76a	2,00 ± 0,95a	2,43 ± 1,41a	0,0854
Embriões totais	2,88 ± 0,85a	3,00 ± 1,23a	4,57 ± 1,72a	0,1690

Pesquisas realizadas em outros países com a raça Wagyu mostram resultados também com número reduzido de embriões obtidos, variando de $0,20 \pm 0,03$ de embriões totais e $0,10 \pm 0,02$ de viáveis (Sekizawa et al., 2012) e estruturas totais de $10,00 \pm 7,6$ e viáveis $4,5 \pm 3,9$ (Takahashi et al.,

2013). Tais resultados evidenciam a necessidade de maiores estudos para explicar as razões de tal comportamento na raça Wagyu.

Observa-se que a utilização da Solução de Ringer Lactato de Sódio (SRLS) ou SRLS + 1% de Soro Fetal de Bovinos apresentaram resultados que se assemelham aos da solução tradicional de colheita de embriões bovinos, a Fosfato Tamponada Modificada por Dulbecco (DMPBS). Os resultados são importantes, pois fica demonstrado que é possível utilizar meio de lavagem uterina de menor Preço por L (\$1,30) como a de SRLS modificada ou não, contra (\$13,28) da solução DMPBS por L. A pesquisa contribuiu para indicar alternativas à transferência de embriões *in vivo*.

Conclusões

Os resultados permitem concluir que as Soluções de Ringer Lacto de Sódio ou Ringer Lactato de Sódio \pm 1% de Soro Fetal de bovinos foram eficientes tanto quanto ao meio Fosfato Tamponado modificado por Dulbecco.

Agradecimentos

A NOMA agropecuária, Ao Centro Universitário Unicesumar.

Referências

BARROS, C. W. C.; BÉNYEI, B. **Comparison between zwitterion and phosphate beffer-based bovine embryo handing solutions for embryo storage and transfer in tropical environment.** Theriogenology, v. 53, n.3, p.308(Abstract).

Bülbül, B.; Kirbas, M.; Köse, M.; Dursun, S. 2010. **Investigation of superovulation response in Brow Swiss cows after synchronization using progesterone and estradiol valerate,** Kafkas UnivertesiveterinerFakültesiDergisi, 16:463-468.

McCue, P. M. 2011. **Transferência de embriões em equinos: Recuperação de embriões.** Revista de Educação Continuada em Medicina e Zootecnia do CRMV – SP, 9:94-998.

Sekizawa, F.; Sawai, K.; Tanaka, M.; Okuda, K. 2012. **Relationship between embryo collection results after superovulation treatment of Japanese Black cows and their plasma β -carotene and vitamin concentrations.** Journal of Reproduction and Development, 58:377-379.

Takahashi, M; Sakawada, K.; Kawate, N.; Inaba, T.; Tamada, H. 2013. **Improvement of superovulatory response and pregnancy rate after transfer of embryos recovered from japonese black cows fed rumen bypass polyunsaturated fatty acids.** Theriogenology. 75:1185-1490.