

## ESTIMAÇÃO DOS FATORES QUE INTERFEREM DIRETAMENTE E INDIRETAMENTE NOS RESULTADOS DA FECUNDAÇÃO *IN VITRO* (FIV)

antonio hugo bezerra colombo<sup>1</sup>, Liziane Zaniboni<sup>1</sup>, Fabio Luiz Bim Cavaliere<sup>2</sup>, Luiz Paulo Rigolon<sup>2</sup>

**RESUMO:** Este estudo investigou os fatores que interferem diretamente e indiretamente nas prenhez de receptoras inovuladas com embriões provenientes de vacas e touros da raça Nelore (PO). Os fatores analisados foram o tipo de protocolo utilizado para sincronização de estro ou cio natural bem como a sincronia entre o estro e o embrião, estágio de desenvolvimento do blastocisto, tamanho do corpo lúteo, influencia do touro e a interferência da propriedade estando relacionado com nutrição e manejo dos animais. Objetivo do trabalho foi verificar através desses fatores quais são os melhores métodos para implantar um sistema de reprodução animal em uma propriedade. O modelo estatístico utilizado foi a regressão logística que foi realizada no softwares SAS (Statistical Analysis System). Foi verificado que para variável tipo de protocolo, sincronia entre estro e embrião, estágio de desenvolvimento do blastocisto e touro não houve efeito significativo ( $P>0,05$ ). No entanto para variável corpo lúteo foi verificada diferença estatística ( $P<0,05$ ). Contudo há um fator muito importante a ser discutido que é o fator econômico, que apresentou forte impacto econômico entre as variáveis analisadas.

**PALAVRAS-CHAVE:** Produção de embriões *in vitro*; Reprodução; Taxa de prenhez.

### 1 INTRODUÇÃO

O Brasil é o quinto país maior do mundo em extensão territorial, apesar de explorar essa área inadequadamente de modo geral, obtém aproximadamente 19% do rebanho do mundo, com 204 milhões de cabeças, abatendo 45 milhões de cabeças de boi/ano, com 18% da participação mundial, produzindo 8,7 milhões de toneladas, afirma a associação brasileira das indústrias exportadoras de carne (ABIEC, 2008), e a biotecnologia animal é uma das ferramentas que vem auxiliando esse crescimento.

A Biotecnologia aparece como uma das principais ferramentas para o aumento da produção 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 20 dias após a sua recuperação reprodutiva para engravidar novamente (BARROS et al., 1995, PINHEIRO et al., 1998).

A inseminação artificial (AI), 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 esta sendo lentamente incorporada aos projetos de reprodução (TERVIT, 1996; GOODHAND et al., 1999; MALARD et al., 1999; TANEJA et al., 2000).

<sup>1</sup> Acadêmicos do Curso Medicina Veterinária do Centro Universitário de Maringá – CESUMAR, Maringá – PR. Programa de Bolsas de Iniciação Científica do Cesumar (PROBIC). [colombobhantonio@gmail.com](mailto:colombobhantonio@gmail.com), [lisinha\\_boni@hotmail.com](mailto:lisinha_boni@hotmail.com)

<sup>2</sup> Orientadores e Docentes do do Curso Medicina Veterinária. Departamento de Medicina Veterinária do Centro Universitário de Maringá – CESUMAR. [fbim52@hotmail.com](mailto:fbim52@hotmail.com), [fabiobim@cesumar.br](mailto:fabiobim@cesumar.br), [rigolon@wnet.com.br](mailto:rigolon@wnet.com.br)

A FIV é uma biotecnologia utilizada com maior frequência na bovinocultura com o propósito de obter um maior número de embriões, gestações e nascimentos de uma única doadora em um curto período de tempo, acelerando deste modo à produção de animais geneticamente superiores, sendo indicada para todas as fêmeas bovinas em diversas faixas etárias, desde bezerras, vacas senis que já não são mais aptas para as técnicas tradicionais IA, IATF e TE (TERVIT, 1996; GOODHAND et al., 1999; MALARD et al., 1999; TANEJA et al., 2000).

A FIV tem-se basicamente três técnicas envolvidas em todo o processo, a aspiração folicular guiada por ultra-som, para a obtenção do gameta feminino (oócito ou óvulo), a produção *in vitro* de embriões, que envolve as etapas de maturação, fertilização e cultivo *in vitro*, e a involução destes para receptoras com emprego da transferência de embriões. Porém a variabilidade entre doadoras de oócitos é muito grande, sendo que os animais respondem diferentemente à aspiração folicular. A utilização de sêmen congelado de diferentes touros demonstra que este possui importante papel no resultado final do processo da FIV. Assim sendo, a fertilidade dos touros é variável tanto a campo, como na produção *in vitro* de embriões. Os fatores que podem causar essas variações estão diretamente relacionados com a raça, linhagem, idade, estado corporal, nutrição, genética e o ambiente.

O objetivo deste estudo foi analisar os efeitos do tipo de protocolo utilizado para sincronização de cio ou cio natural assim como a sincronia entre o cio e embrião, estágio de desenvolvimento do blastocisto, tamanho do corpo lúteo, influência do touro e a interferência da propriedade nas taxas de prenhas das receptoras.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi desenvolvido na fazenda do CESUMAR (Centro universitário de Maringá), localizada no município de Maringá no estado do Paraná. Os dados utilizados foram obtidos pela equipe de Médicos Veterinários do CESUMAR entre período de 2008 a 2009. Foram utilizadas 1590 novilhas sem raça definida (receptoras), 280 vacas e/ou novilhas da raça Nelore PO (doadoras) e 30 touros da raça Nelore PO, totalizando um número de 1900 animais utilizados neste trabalho.

A análise deste trabalho foi realizado com ênfase na estimação dos fatores que interferem na taxa de prenhez das vacas que foram submetidas à FIV.

Os fatores observados neste estudo foram, o tipo de protocolo (TP) utilizado, sendo por implante visando a sincronização do estro ou cio natural, sendo definidos como tipo de protocolo 1 e 2 respectivamente (TP1 e TP2).

No protocolo 2 foi realizado uma análise visando verificar a interferência da sincronia (SI) do estro e do embrião, sendo determinado como SI (-2) onde o embrião está no sétimo dia de vida e a receptora está no quinto dia pós estro, SI (-1) embrião no sétimo dia e receptora no sexto dia pós cio, SI (0) embrião no sétimo dia e receptora no sétimo dia também pós estro, SI (+1) embrião no sétimo dia e receptora no oitavo dia pós cio e por fim SI (+2) embrião no sétimo dia e receptora no nono dia pós estro.

O terceiro item analisado foi à interferência do estágio do desenvolvimento do blastocisto ou embrião (EM), que é do que o estágio inicial de desenvolvimento embrionário. Os blastocistos são classificados como blastocisto expandido (Bx), blastocisto (Bi) e blastocisto inicial (Bi).

O quarto item analisado foi a influência do corpo lúteo (CL), que é uma estrutura endócrina formada no local de um folículo ovariano após a liberação do oócito (ovulação). Os corpos lúteos são classificados como corpo lúteo pequeno (CL1), médio (CL2), grande (CL3) e quando possui dois corpos lúteos e um é maior que o outro (CL >/<).

A quinta análise foi com ênfase na produção e eficiência do sêmen dos touros (T) da raça Nelore PO mais comumente utilizados para fertilização *in vitro*, que foram classificados como Touro1, Touro2, Touro3, Touro4 e Touro5, visando a sua influência nos resultados.

O softwares utilizado para realização das análises foi o SAS (Statistical Analysis System), o modelo escolhido foi à regressão logística. Além das análises estatística foi realizado uma análise econômica verificando a interferência de cada uma dessas variáveis em relação à prenhez.

### 3 RESULTADOS E DICUSSÃO

Na tabela 1 foi verificado o efeito dos tipos de protocolos utilizados (TP1, implante visando à sincronização entre o estro e o embrião e o TP2, cio natural) na taxa de prenhes das receptoras cruzadas que receberão embrião produzidos *in vitro*.

Tabela 1 – Media de prenhez para tipo de protocolo.

Tipo de Protocolo	Taxa de Prenhez
Implante	35,15% <b>a</b>
Cio natural	34,47% <b>a</b>

Médias seguidas de letras diferentes, não diferem pelo modelo de regressão logística ( $p>0,05$ ).

Observou-se que o tipo de protocolo TP1 e TP2 não diferem estatisticamente quando a taxa de prenhez ( $P>0,05$ ).

Na tabela 2 foi observado o efeito da sincronia entre o cio e o embrião (SI (-2) onde o embrião esta no sétimo dia de vida e a receptora esta no quinto dia pós estro, SI (-1) embrião no sétimo dia e receptora no sexto dia pós cio, SI (0) embrião no sétimo dia e receptora no sétimo dia também pós estro, SI (+1) embrião no sétimo dia e receptora no oitavo dia pós cio e por fim SI (+2) embrião no sétimo dia e receptora no nono dia pós estro) na taxa de prenhes das receptoras cruzadas que receberão embrião produzidos *in vitro*.

Tabela 2 – Media de prenhez para a sincronia entre o cio e o embrião.

Sincronia entre o cio e o embrião	Taxa de prenhez
SI (-2)	25,00% <b>a</b>
SI (-1)	28,57% <b>a</b>
SI (0)	29,79% <b>a</b>
SI (+1)	40,00% <b>a</b>
SI(+2)	34,10% <b>a</b>

Médias seguidas de letras diferentes, não diferem pelo modelo de regressão logística ( $p>0,05$ ).

Verificou-se que para o sincronismo entre o estro e o embrião não houve efeito significativo sobre a taxa de prenhez ( $P>0,05$ ).

Na tabela 3 analisou-se o efeito do estagio de desenvolvimento de embrião (blastocisto expandido, blastocisto e blastocisto inicial) na taxa de prenhes das receptoras cruzadas que receberão embrião produzidos *in vitro*.

Tabela 3 – Media de prenhez para estagio de desenvolvimento do embrião.

Estagio de desenvolvimento do embrião	Taxa de prenhez
Blastocisto expandido	38,18% <b>a</b>
Blastocisto	32,53% <b>a</b>
Blastocisto inicial	32,85% <b>a</b>

Médias seguidas de letras diferentes, não diferem pelo modelo de regressão logística ( $p>0,05$ ).

Observou-se que para o estagio de desenvolvimento do embrião não houve diferença estatística sobre a taxa de prenhez ( $P>0,05$ ).

Na tabela 4 foi observado o efeito dos corpos lúteos em diversos tamanhos (corpo lúteo maior que o outro, corpo lúteo pequeno, corpo lúteo médio e corpo lúteo grande) na taxa de prenhes das receptoras cruzadas que receberão embrião produzidos *in vitro*.

Tabela 4 – Media de prenhez para tamanho de corpo lúteo.

Tamanho de corpo lúteo	Taxa de prenhez
Corpo lúteo maior que o outro	29,93% <b>a</b>
Corpo lúteo pequeno	37,40% <b>a</b>
Corpo lúteo médio	35,94% <b>a</b>
Corpo lúteo grande	42,68% <b>b</b>

Médias seguidas de letras diferentes, diferem pelo modelo de regressão logística ( $p<0,05$ ).

Verificou-se que para o tamanho do corpo lúteo houve efeito significativo sobre a taxa de prenhez ( $P<0,05$ ). O corpo lúteo grade foi o que apresentou efeito significativo e foi verificado que a probabilidade de uma receptora engravidar é de quase duas vezes mais do que com os outros tamanhos de copos lúteos.

Na tabela 5 foi verificada a interferência dos cinco touros mais utilizados na produção *in vitro* de embriões na taxa de prenhes das receptoras cruzadas que receberão os embriões.

Tabela – Media de prenhez para os cinco touros mais utilizados na produção de embriões *in vitro*.

Touros	Taxa de prenhez
Touro1	30,59% <b>a</b>
Touro2	34,93% <b>a</b>
Touro3	35,05% <b>a</b>
Touro4	43,86% <b>a</b>
Touro5	30,12% <b>a</b>

Médias seguidas de letras diferentes, não diferem pelo modelo de regressão logística ( $p>0,05$ ).

Observou-se que não houve efeito significativo entre os touros sobre a taxa de prenhez ( $P>0,05$ ).

## 4 CONCLUSÃO

De acordo com as análises realizadas pode-se concluir não houve efeito significativo para as variáveis tipo de protocolo, sincronia entre estro e embrião, estágio de desenvolvimento dos embriões e touros, porém houve efeito significativo para variável corpo lúteo.

## REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS EXPORTADORAS DE CARNES, (ABIEC). **Net** disponível em: <http://www.brasilalimentos.com.br/ba/pdf/38/ba38-semenariobritanico.pdf>. Acesso em: 09/05/2009.

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

FRY, R. C.; NIALI, E. M.; SIMPSON, T.L.; et al. **The** collection of oocytes from bovine ovaries. **Theriogenology**, v. 48, n. 6, p. 9977-987,1997.

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, p. 951-961, 1999.

MALAD, P. F., CORDEIRO, D. M., PEIXER, M. A S. et al. Índice de recuperação, qualidade e potencial de desenvolvimento de ovócitos de bezerras zebuínas de 2 a 4 meses de idade; resultados preliminares. **Arq. Fac. Vet UFRGS**, Porto Alegre, v. 27, p. 256, 1999.

MARTINELLI, D. P. Em busca de uma visão sistêmica na negociação. 1999. 22 lf. **Tese (Livre-Docência)**, FEA-USP, São Paulo.

PINHEIRO, O.L., BARROS, C.M, FIGUEREDO, R.A., VALLE, E.R. DO, 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. p667-81, 1998.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE EMBRIÕES., **A** Fertilização in vitro (FIV). **Net**. disponível em: <http://www.neveitalia.it/ski/adamelloski/video/aspiracao-folicular-para-fiv-em-bovinos>. Acesso em: 23/05/2009.

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 gonadotroin stimulation. **Bio. Reprod., Champaign**, v.62, 206-213,2000.

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

VIANA, J.H.M.; CAMARGO, L.S.A.; FERREIRA, A.M., et al., Ovarian prestimulation with FSH, active immunization against inhibin and follicular aspiration results in Gir cattle (*bos indicus*). **Theriogenology**, v. 57, p. 630, 2002.



*V Mostra Interna de Trabalhos de Iniciação Científica*  
26 a 29 de outubro de 2010

**ISBN 978-85-61091-69-9**

VIANA, J.H.M.; FERREIRA, L.S.A.; CAMARGO, L.S.A, et al. Efeito da estimulação ovariana sobre características de oócitos após punção folicular em bovinos. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 55, n.1, 2003.

**Anais Eletrônico**

*V Mostra Interna de Trabalhos de Iniciação Científica*  
CESUMAR – Centro Universitário de Maringá  
Maringá - Paraná