

## A SINCRONIZAÇÃO DA ONDA FOLICULAR DE VACAS *BOS TAURUS* PRÉ-ASPIRAÇÃO É EFICAZ?

LUCIANO DA COSTA OLIVEIRA<sup>1</sup>; JÉSSICA LAZZARI<sup>2</sup>; MONIQUE MAZZAROLO FRATA<sup>3</sup>; RAFAEL GIANELLA MONDADORI<sup>4</sup>; BERNARDO GARZIERA GASPERIN<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – luciano.dcoliveira@gmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas–jelazzari@hotmail.com

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas–moniquefrata@hotmail.com

<sup>4</sup>Universidade Federal de Pelotas– rgmondadori@gmail.com

<sup>5</sup>Universidade Federal de Pelotas– bggasperin@gmail.com

### 1. INTRODUÇÃO

O Brasil possui o maior rebanho comercial de bovinos no mundo, sendo o maior exportador de carne bovina (EMBRAPA, 2021). O emprego de biotécnicas reprodutivas é essencial para promover ainda mais o crescimento da pecuária nacional, responsável por 27,4% total do PIB do país (CEPEA, 2021). A produção de embriões *in vitro* (PIVE) se destaca por aumentar o número de descendentes de fêmeas inaptas a se reproduzir pelas técnicas convencionais, maximizar a utilização do sêmen e pode ser realizada em fases aleatórias do ciclo estral (LOHUIS, 1995). Nos últimos anos, observou-se um aumento da PIVE, em contraste com a diminuição da produção *in vivo* de embriões (VIANA, 2019); sendo que, o Brasil ocupa o segundo lugar no ranking mundial de maior produtor de embriões bovinos *in vitro* (GONÇALVES; VIANA 2019).

Vacas *Bos indicus* possuem melhor recuperação de oócitos viáveis se comparado com *Bos taurus*, e, como consequência, maior capacidade de produção de embriões (FERNANDES et al., 2014). Porém, há indícios de que a sincronização da emergência da onda folicular antes da aspiração (*ovumpickup* - OPU) pode ser benéfica, aumentando o número e qualidade dos complexos cumulus-oócitos (CCOs) recuperados (FERNANDES. et al., 2014). Dessa forma, o trabalho teve como objetivo analisar a eficiência da sincronização de onda folicular de vacas *Bos taurus* pré-aspiração.

### 2. METODOLOGIA

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Experimentação Animal da UFPel. As análises foram realizadas a partir de dados obtidos de 11 vacas não gestantes das raças Hereford e Aberdeen Angus, com escore corporal entre 7 e 8 (escala de 1 a 10, sendo 1, muito magro e 10, muito gordo; EVERSOLE et al., 2009), alocadas em uma central comercial de produção de embriões. Os animais foram mantidos em pastagem e suplementados com sal mineral.

No dia zero (D0), as doadoras passaram por avaliação ginecológica, sendo contabilizado o número de folículos e a presença ou não de corpo lúteo (CL). Após, os animais foram divididos em dois grupos: grupo controle (sem sincronização) ou grupo tratamento, cuja sincronização da onda folicular consistiu na aplicação de 2 mg de benzoato de estradiol (BE), 150µg de D-cloprostenol (PGF) e 300mg de progesterona (P4) injetável. Passados seis dias (D6) realizou-se a OPU, onde todas as fêmeas foram submetidas a quatro sessões, no intervalo de 30 dias.

Previamente à OPU, realizava-se a anestesia epidural com lidocaína 2% e higienização da região perianal. Os folículos foram puncionados por agulha 20 G acoplada ao sistema para aspiração folicular com rolha e tubo cônico de 50 mL (meio DMPBS 0,3% de soro fetal bovino e 10UI/mL de heparina sódica, à 37°C). O conteúdo aspirado foi filtrado, lavado e transferido para placa de petri para seleção de complexos cúmulus-oócitos (CCO), segundo a classificação de DELOOs et al. (1989). CCOs grau 1, 2, 3 e desnudos foram encaminhados para a maturação *in vitro* (MIV) em gotas imersas em óleo mineral, por 22 a 24h em incubadora à 38,5°C, atmosfera com 5,5% de CO<sub>2</sub> e umidade saturada.

Após este período, realizou-se a fertilização *in vitro* (FIV), com adição de 5 a 10 µL de sêmen descongelado e centrifugado (1ª centrifugação: gradiente de Percoll 45-90% a 600 × g por 6 min; 2ª centrifugação: pellet de sêmen em meio de FIV a 600 × g por 3 min). Os CCOs permaneceram em co-cultivo com os espermatozoides por 18 a 22h, nas mesmas condições ambientais da MIV. Posteriormente, os prováveis zigotos foram desnudados e passados para gotas de meio de cultivo *in vitro*, cobertas por óleo mineral, onde permaneceram por 7 dias à 38,5°C, em atmosfera com 5,5% de CO<sub>2</sub>, 5% de O<sub>2</sub> e umidade saturada. No terceiro dia após a fecundação foi avaliada a taxa de clivagem e no sétimo dia a taxa de embriões.

O número de folículos totais no dia da OPU apresentou distribuição normal, e as médias de cada tratamento foram comparadas pelo teste T para amostras não pareadas. As demais variáveis dependentes não apresentaram distribuição normal e as medianas foram comparadas, entre os distintos fatores (tratamentos ou touro), por análise não paramétrica utilizando o teste de Mann-Whitney.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A hipótese de que a indução de uma nova onda folicular previamente à OPU aumentaria o número de CCOs viáveis e, portanto, melhoraria a produção embrionária, não foi confirmada. A média de folículos aspirados não diferiu entre os grupos (Controle: 14,7±1,7; Tratamento: 14,1±1,6). Também não houve diferença entre os grupos nas medianas (IC 95%) de estruturas recuperadas por OPU, sendo para controle e tratamento, 12 (6-15) e 10 (9-19) CCOs totais; 5,5 (5-8) e 6 (5-9) CCOs viáveis, respectivamente.

Na PIVE, não foi observado efeito na taxa de clivagem/CCOs cultivados entre o controle, 58% (50-71%) e tratamento, 65% (50-80%). A produção de embriões também não diferiu, sendo obtidas taxas de embriões/CCOs cultivados de 28% (21-46%) e 33% (22-55%) para controle e tratamento, respectivamente. A taxa de embriões/clivados foi 50% em ambos os grupos (IC 95%, 32-75% para controle e 36-75% para grupo tratado). Não houve efeito significativo do touro utilizado sobre as taxas de clivagem ( $p > 0,05$ ).

No presente estudo, a utilização de um protocolo hormonal baseado na administração de P4i, BE e PGF, para sincronização da onda pré-aspiração folicular, não refletiu em melhora na quantidade de estruturas aspiradas e na eficiência da PIVE. Os benefícios da sincronização da onda folicular são discutíveis, devido a variáveis envolvidas, como raças, protocolos e intervalos de OPU avaliados.

Segundo CAVALIERI et al. (2018), o protocolo hormonal baseado em implante P4, BE e PGF antes da OPU, aumentou a produção e a proporção de embriões sobre a quantidade total de oócitos viáveis em comparação ao grupo controle em vacas *Bos indicus*. Os melhores resultados para vacas *Bos indicus* em

relação a *Bos taurus*, pode ser explicado pela genética e por uma melhor adaptabilidade em climas tropicais. GIMENES et al. (2014) sugerem que a OPU pode ser realizada em qualquer dia entre o 1º ao 5º dia, após a emergência da onda folicular, já que não foi conclusivo o melhor estágio para aspiração. Além disso, como no presente estudo, não houve aumento no número de CCOs viáveis e melhoria na produção embrionária quando sincronizadas, utilizando protocolo padrão P4i, BE e norgestomet.

A utilização de P4i representa uma opção aos implantes, que podem causar algum grau de irritação vaginal, aumentando a produção de muco, que, quando aspirado, pode obstruir o sistema de aspiração (BACELAR et al., 2010). Apesar de vantajosa, a utilização de P4i para sincronização folicular não repercutiu em melhora na quantidade de estruturas aspiradas. Entretanto, foram obtidas taxas de desenvolvimento embrionário dentro do padrão satisfatório, de aproximadamente 30% (WRENZYCKI, 2016).

#### 4. CONCLUSÕES

A sincronização da onda folicular antes da OPU não melhorou a qualidade oocitária e produção *in vitro* de embriões em vacas *Bos taurus*, tornando o seu uso questionável. Estudos futuros são necessários para avaliar a viabilidade de outras estratégias para aumentar o número e qualidade das estruturas aspiradas de vacas taurinas.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BACELAR, D.; CONSTANTINO, M. M.; PADILHA, L. C.; BARREIROS, T. R. R.; MARCONDE SENEDA, M. Incremento na obtenção de oócitos em novilhas Nelore (*Bos taurus indicus*) tratadas com progesterona injetável e benzoato de estradiol. **Semina: Ciências Agrárias**, v.31, p.163-172. 2010.

BARUSELLI, P. S.; FERREIRA, R. M.; SÁ FILHO, M. F.; NASSER, L. F. T.; RODRIGUES, C. A.; BÓ, G. A. Bovine embryo transfer recipient synchronization and management in tropical environments. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 22, p.67–74, 2010.

CEPEA. **PIB do Agronegócio Brasileiro**. Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada. Acessado em 27 jul. 2022. Disponível em: <<https://www.cepea.esalq.usp.br/br/releases/pib-agro-cepea-pib-do-agro-cresce-8-36-em-2021-participacao-no-pib-brasileiro-chega-a-27-4.aspx>>.

DE LOOS, F.; VAN VLIET, C.; VAN MAURIK, P.; KRUIP, T. A. Morphology of immature bovine oocytes. **Gamete Res**, v.24, n.2, p.197-204. 1989.

EMBRAPA. **Estudos socioeconômicos e ambientais**. 2022. Acessado em 02 jun. 2022. Online. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/62619259/brasil-e-o-quarto-maior-produtor-de-graos-e-o-maior-exportador-de-carne-bovina-do-mundo-diz-estudo>>.

EVERSOLE, D., BROWNE, M. F.; HALL, J.; DIETZ, R. E. Body condition scoring

beef cows. **Virginia Cooperative Extension**, 2009.

FERNANDES, C.; MIYAUCHI, T. M.; FIGUEIREDO, A. C .S.; PALHÃO, M. P.; VARAGO, F. C.; NOGUEIRA, E. S . C.; NEVES, J. P .; MIYAUCHI, T . A. Hormonal protocols for in vitro production of Zebu and taurine embryos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.49, p.813-817. 2014.

GIMENES, L. U.; FERRAZ M.L.; FANTINATO-NETO P.; CHIARATTI, M.R.; MESQUITA L.G.; SÁ FILHO M.F.; MEIRELLES F.V.; TRINCA L.A.; RENNÓ F. P.; WATANABE Y.F.; BARUSELLI P. S. The interval between the emergence of pharmacologically synchronized ovarian follicular waves and ovum pick-up does not significantly affect in vitro embryo production in *Bos indicus*, *Bos taurus*, and *Bubalus bubalis*. **Theriogenology**, v. 83 p. 385-393, 2015.

GEARY, T.W.; DOWNING E.R.; J.C.; BRUEMMER, J.C.; WHITTIER, J.C. Ovarian and estrous response of suckled beef cows to the Select Synch estrous synchronization protocol. **Journal of Animal Science**, v.16 p.1-5, 2000.

GONÇALVES, R.L.R; VIANA, J.H.M. Situação atual da produção de embriões bovinos no Brasil e no mundo. In: **ANAIS DO XXIII CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL**. V 43, n.2, p 156 – 159, Gramado, 2019.

VIANA, J. Statistics of embryo production and transfer in domestic farm animals Divergent trends for IVD and IVP embryos International. **Embryo Technology Society**. New Orleans, v. 38, n.4, p. 1-15, 2020.

VIEIRA, L. M.; RODRIGUES, C. A.; CASTRO NETO, A.; GUERREIRO, B. M.; SILVEIRA, C. R. A.; MOREIRA, R. J. C.; SÁ FILHO, M. F.; BÓ, G. A.; MAPLETOFT, R. J.; BARUSELLI, P. S. Superstimulation prior to the ovum pick-up to improve in vitro embryo production in lactating and non-lactating Holstein cows. **Theriogenology, Philadelphia**. v. 82, p. 318-324, 2014.

WRENZYCKI, C. In vitro culture systems: how far are we from optimal conditions? **AnimReprod**, v.13, p.279-282. 2016. Disponível em: <<https://www.animal-reproduction.org/article/doi/10.21451/1984-3143-AR869>>.