

APROVEITAMENTO NA PRODUÇÃO DE EMBRIÕES FERTILIZADOS COM TOUROS NELORES DE I ANO E II MESES A 3 ANOS

Danieli Patricia Frasson Acher¹
Kleber Conrado de Araújo²

RESUMO: No Brasil, a pecuária é um dos principais recursos econômicos que movimentam a economia do país, dispendo Mato Grosso como o maior rebanho bovino do Brasil. Expandindo a FIV a cada ano, em busca de animais geneticamente superiores em um período de tempo reduzido. O estudo visou avaliar a taxa de fecundação de 4 novos touros reprodutores que entraram em avaliação sobre sua taxa de fertilidade na PIV em 31 vacas doadoras, oriundos da fazenda X. Foram realizados 3 (três) avaliações para a produção de embriões, com touros nascidos no intervalo da data de 08/08/2019 a 18/09/2020, o primeiro estudo teve 206 oócitos cultivados e 16 (7,76%) de embriões produzidos - TOURO A: 6,47% (9/139), TOURO B: 0% (0/25), TOURO C: 29,41% (5/17) e TOURO D: 8,00% (2/25), segundo estudo teve 514 oócitos cultivados e 150 (29,18%) de embriões produzidos - TOURO A: 37,59% (103/274), TOURO B: 18,38% (25/136), TOURO C: 53,85% (21/39) e TOURO D: 1,54% (1/65), o terceiro estudo teve 349 oócitos cultivados e 111 (31,80%) de embriões produzidos - TOURO A: 29,77% (39/131), TOURO B: 45,22% (71/157), TOURO C: 5,56 (1/18) e TOURO D: 0,00% (0/43). Concluiu-se que não obteve-se resultados satisfatórios com os touros, através de pesquisas, suponha-se que os touros por serem jovens ainda não estão totalmente capacitados sexualmente.

1178

Palavras-chave: Oócitos. Precocidade. Fecundação.

INTRODUÇÃO

A pecuária vem se destacando a cada ano no cenário brasileiro, contribuindo progressivamente na economia do país. No ano de 2020 o Brasil possuía 218.150.298 cabeças, sendo o Mato Grosso o maior produtor com 32.702.525 Cabeças (IBGE, 2020).

Grande parte desse crescimento se deve a adoção de programas de melhoramento

¹ Graduanda em Medicina Veterinária pela Universidade particular de Cacoal, UNIFACIMED-RO. E-mail: daniiffrasson@gmail.com

² Docente, Mestre, Médico Veterinário do Centro Universitário - UNINASSAU, 2022. E-mail: kleberconrado@hotmail.com

genético, na qual, a seleção genética de bovinos permite animais com alta produção de leite, carne e precocidade. Tendo multiplicação mais satisfatória de fêmeas bovinas geneticamente superiores com a necessidade de promover ovulações múltiplas como instrumento importante para crescimento da produção de embriões (EVANGELISTA, 2010).

Considerando que geralmente um macho gera entre 15 a 20 bezerras por ano, e a fêmea, normalmente, consegue gerar apenas uma cria por ano, sendo equivalente de oito a dez bezerras durante sua vida reprodutiva (ABADIA, 2006), o adiantamento da precocidade dos touros apresenta papel crucial na taxa de desfrute do rebanho, podendo diminuir a idade de entrada de animais na estação de monta. Assim, os machos ao entrarem em puberdade precoce há um aumento tanto em quantidade como em qualidade de sêmen viáveis quando chegarem à fase adulta, enquanto no caso das fêmeas, ocorre maior regularidade cíclica, resultando em melhor desempenho reprodutivo já no início da primeira estação. Dessa forma, a seleção de touros precoce e púberes, traz retorno econômico, uma vez que há diminuição de custos com alimentação animal e em menor espaço de tempo deste mesmo animal (COSTA e SILVA, 2013).

1179

A idade em que um touro atinge a maturidade sexual é quando o animal alcança um potencial satisfatório de fertilidade. Ou seja, para que o touro seja considerado sexualmente maduro, quando atingir a habilidade de realizar a cópula e promover a fecundação do oócito (ROSSI et al., 2017).

Em fazendas que possuem um acompanhamento dos reprodutores por programas de melhoramento genético, os touros podem chegar à sua maturidade sexual por volta de 20 a 22 meses de idade, iniciando assim sua estação reprodutiva em torno de 23 a 25 meses de idade (MACHADO, 2021).

Ao decorrer das décadas algumas tecnologias contribuíram para o crescimento e melhoramento genético dos bovinos no país, entre elas a Produção in Vitro de embriões (PIVe), conseqüentemente a transferência de embrião (TE), maximizando a produção de animais geneticamente superiores em um período de tempo reduzido (SBTE, 2005). Onde a PIVe tem como objetivo principal obter maior quantidade de progênies em um curto intervalo, podendo conseguir vários embriões com um ou mais touros, caso essa doadora produza oócitos viáveis e

tenha bom aproveitamento deste material genético (PEIXER et al., 2018).

Ou ainda, podem utilizar matrizes a partir de 6 meses, gestante de até 3 meses, recém paridas, ou até mesmo com infertilidade adquirida, obtendo oócitos viáveis de matrizes de alta genética e, da mesma forma, fêmeas que não se encontram aptas a se reproduzir (BUENO e BELTRAN, 2008).

Outra biotecnologia de grande importância na área de reprodução animal é a criopreservação de sêmen. Visando à redução do metabolismo espermático e a conservação da sua qualidade por um período prolongado, quando mantido em nitrogênio líquido a uma temperatura de -196°C (PESCH e HOFMAN, 2007).

A qualidade do sêmen garante bons percentuais de prenhez, pois quando utilizado sêmen de má qualidade a uma grande probabilidade que interfere nos resultados dentro do plano de inseminação artificial, conseqüentemente arriscando perder os empenhos realizado na preparação do rebanho e dos investimentos em tecnologia, diante disso, para que se tenha melhores desfrutes na fertilização deve-se ter bons desempenho da correta manipulação do sêmen, da qualidade dos espermatozóides (SANTOS et al., 2018).

1180

Este trabalho teve como objetivo relatar a taxa de fecundação dos novos touros reprodutores que entraram em avaliação sobre sua taxa de fertilidade na PIV em vacas doadoras, oriundos da fazenda X que vem trabalhando o seu melhoramento genético no rebanho há 60 anos.

METODOLOGIA

O estudo foi realizado no laboratório Cenatte embriões que se localiza no município de Cuiabá - Mato Grosso, e a propriedade que disponibilizou os oócitos e os sêmens dos animais se localiza em Cáceres - Mato Grosso.

A pesquisa foi realizada com a intenção de avaliar os novos reprodutores desta propriedade, avaliando a taxa de fecundação na PIV.

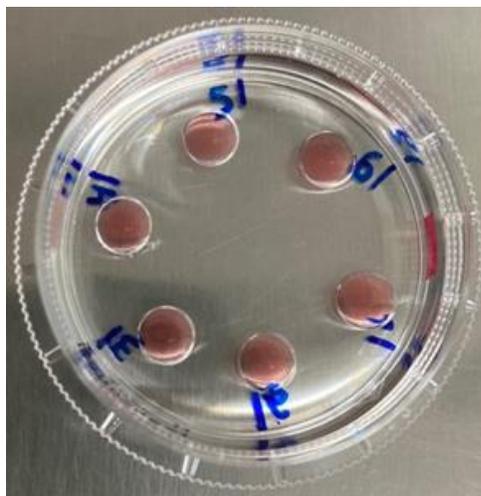
Foram realizados 32 acasalamentos, com 04 touros com diferentes idades, sendo estes denominados por letras, conforme descrito a seguir: (TOURO A, nascido em 05/09/2019; TOURO B, nascido em 02/08/2020; TOURO C com nascimento registrado em 08/08/2019 e

TOURO D registrado em 18/09/2020) e 31 doadoras escolhidas aleatoriamente na mesma propriedade, decorrendo a OPU em três etapas diferentes.

Para a realização do o processo de PIV, os oócitos vieram na transportadora em tubos 05 mL com meio de transporte de maturação do oócito, assim que chegaram no laboratório foram diretamente para a incubadora, sendo que inicialmente passou pelo processo de Maturação *in vitro* (MIV). Após o período de aspiração, o processo de fecundação ocorreu aproximadamente de 22 a 26 horas para realização.

A Placa foi feita 24h antes do processo, na qual foi realizando as placas de FIV para estabilizar o meio Over Night, seguindo metodologia descrita por Coelho et al, 2000. Cada placa foi composta por 6 gotas com meios de maturação (20µl (microlitros) de meio FIV gota para base + 3,8mL de óleo mineral + 30µl de meio FIV gota), colocando no máximo 30 oócitos por gota.

FIGURA 01: Placa de FIV

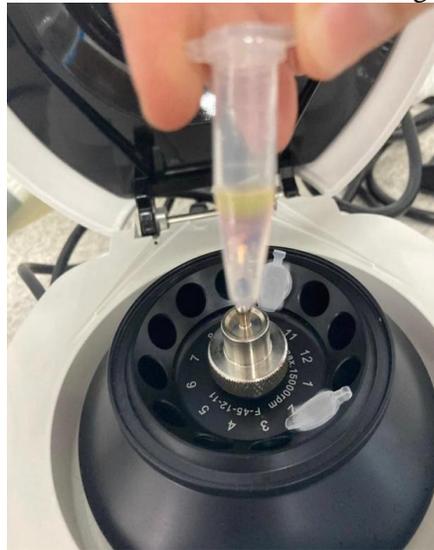


FONTE: Arquivo pessoal, 2022.

No processo da fecundação os sêmens utilizados foram submetido ao processo de congelamento, assim fazendo o descongelamento por banho maria a 37°C durante 30s e em seguida o sêmen passou por processo de lavagem em percoll 90% + solução 10X, passando por dois processos de centrifugação, no primeiro processo ficou por 5 minutos a 5,5 rpm (rotações por minuto), onde os espermatozoides mortos e o diluente do sêmen ficaram na superfície,

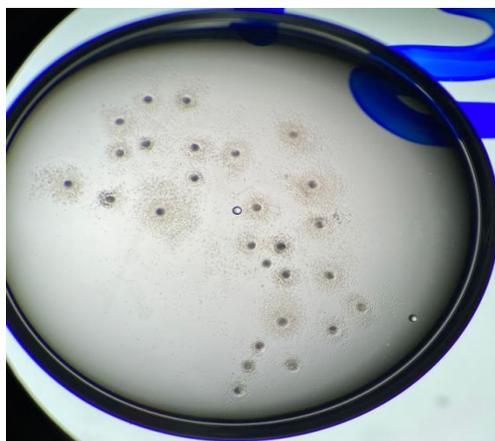
retirando-os e deixando apenas os vivos (Pellet) para uso, em seguida foi colocado em outra substância que o nutri o espermatozoides (FIV TOURO), e em seguida novamente foram levados para a centrífuga por 3 min a 3,3 rpm, e após este processo os espermatozoides viáveis nadaram para baixo, enquanto os que estavam mortos ficaram sobrenadante juntamente com a substância, assim retirou novamente o excesso, deixando a quantidade suficiente para realizar a fecundação, utilizando $10\mu\text{l}$ de pellet para a inseminação em cada gota de oócitos, deixando a placa inseminada dentro da incubadora num período de 18 a 22 horas.

FIGURA 02: Processo de centrifugação



FONTE: Arquivo pessoal, 2022.

FIGURA 03 e 04: Fecundação de oócitos



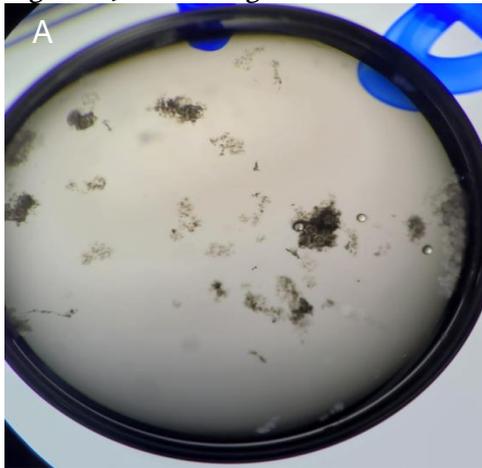
FONTE: Arquivo pessoal, 2022.



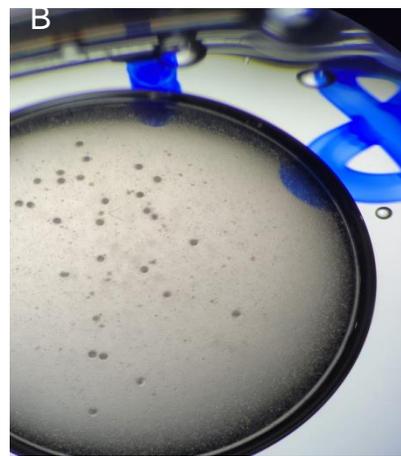
FONTE: Arquivo pessoal, 2022.

O CIV aconteceu de 18 a 22 horas após a fertilização, em seguida foram colocados em uma placa de lavagem, utilizando 3 gotas de CIV gota, após a lavagem, colocou-se na placa de cultivo (40 μ l de meio CIV gota para base + 3,8 mL de óleo mineral + 60 μ l de meio CIV gota), deixando armazenado neste meio até o dia de transferência.

Figura 05: Pré lavagem de embriões (A) e Figura 06: Pós lavagem de embriões (B)



FONTE: Arquivo pessoal, 2022.



FONTE: Arquivo pessoal, 2022.

A clivagem dos oócitos que foi fecundado é vista 24 horas após a inseminação, onde foi possível visualizar o início da divisão celular, com auxílio de uma lupa.

FIGURA 07: Início da divisão celular



FONTE: Arquivo pessoal, 2022.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A primeira coleta dos oócitos foi realizada no dia 15/08/22, a fecundação foi realizada dia 16/08/22, obtendo uma clivagem de 39,80% (82) e produzindo 16 embriões de 206 oócitos cultivados, conseguindo um aproveitamento de 7,76% na primeira avaliação.

Já a segunda coleta foi realizada dia 13/09/22 sua fecundação foi feita dia 14/09/22, tendo uma clivagem de 58,17% (299) e total de produzindo foi 150 embriões de 514 oócitos cultivados, tendo o aproveitamento de 29,18%.

Terceira, e última, coleta dos oócitos foi sucedida dia 20/09/22, e sua fecundação 21/09/22, alcançando uma clivagem de 69,34% (242) e produzindo 111 embriões de 349 oócitos cultivados, ocorrendo o índice de 31,80%.

TABELA 01: Relatório de Clivagem e Produção de Embriões

CLIVAGEM E PRODUÇÃO DE EMBRIÕES												
	AVALIAÇÃO 01				AVALIAÇÃO 02				AVALIAÇÃO 03			
	VIÁVEIS	CULTIVADOS	CLIVAGEM	EMBRIÕES	VIÁVEIS	CULTIVADOS	CLIVAGEM	EMBRIÕES	VIÁVEIS	CULTIVADOS	CLIVAGEM	EMBRIÕES
TOURO A	139	139	45	9	274	274	178	103	131	131	90	39
TOURO B	25	25	8	0	136	136	68	25	157	157	117	71
TOURO C	17	17	17	5	39	39	37	21	18	18	3	1
TOURO D	25	25	12	2	65	65	16	1	43	43	32	0

1184

FONTE: Arquivo pessoal, 2022.

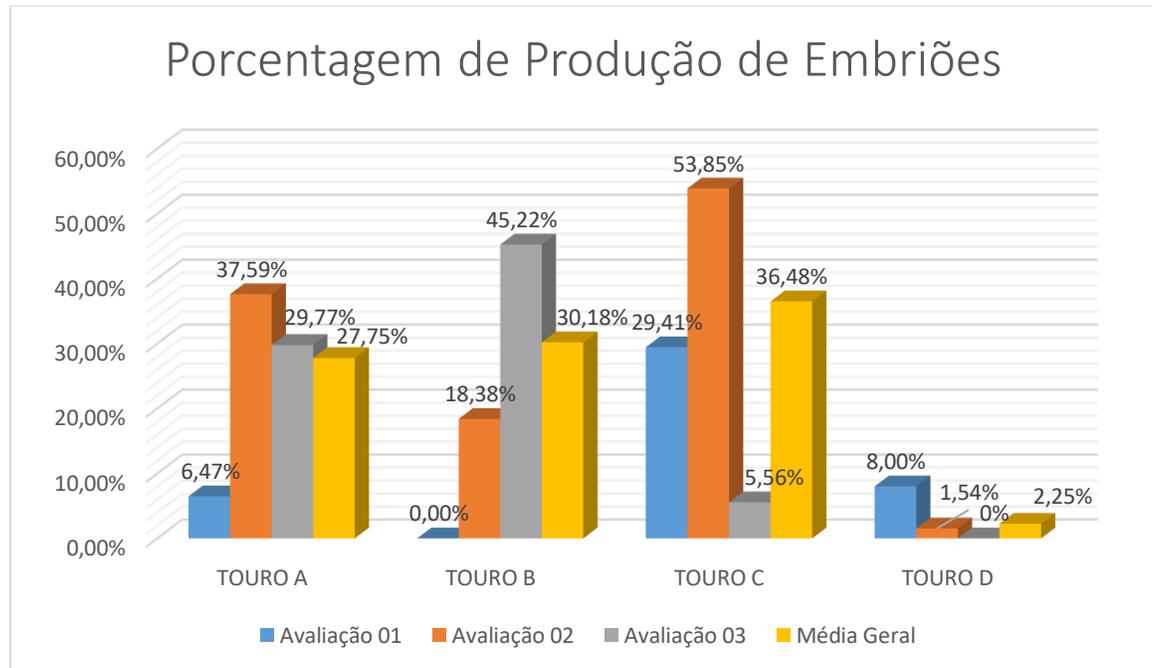
A primeira avaliação teve os seguintes resultados: 6,47% (9/139), 0% (0/25), 29,41% (5/17) e 8,00% (2/25), respectivamente para o TOURO A, TOURO B, TOURO C e TOURO D.

Já a segunda avaliação obteve os seguintes resultado: TOURO A - 37,59% (103/274), TOURO B - 18,38% (25/136), TOURO C - 53,85% (21/39) e TOURO D - 1,54% (1/65).

Por fim, a terceira avaliação os TOURO A, TOURO B, TOURO C e TOURO D teve os seguintes resultados respectivamente, 29,77% (39/131), 45,22% (71/157), 5,56 (1/18) e 0,00% (0/43).

Quando comparado todas as avaliações, a média geral apresentada para cada touro foi de 27,75% (151/544) com o TOURO A, 30,18% (96/318) com o TOURO B, 36,48% (27/74) com o TOURO C e 2,25% (3/133) com o TOURO D.

GRAFICO 01: Porcentagem de produção de embriões.



FONTE: Arquivo pessoal, 2022.

Estudos de Coelho et al., 1998, realizado com dois touros (T₁ e T₂) observaram resultados de 54,0% (99/182) da taxa de clivagem e 12,0% (22/182) na taxa de mórula e blastocisto no touro T₁ e 84,0% (349/416) na taxa de clivagem e 9,0% (36/416) na taxa de mórula e blastocisto no touro T₂.

Conforme estudos realizados por Martins, et al., 2012, avaliando o sêmen *in natura* de 31 touros com idades variando entre 18 a 22 meses, do total de touros avaliados, 23 foram considerados inaptos para a reprodução, sendo reprovados principalmente por aspectos morfológicos do sêmen, mencionando ainda, que quanto maior os defeitos espermático, menores são a integridade bioquímica da membrana plasmática dos espermatozoides. Trevizan e Koivisto, (2013), relata que o espermatozóide com a membrana íntegra pode ser mais proveitoso no processo de criopreservação do semen. Contribuindo com Carreira e Koivisto, (2012), concluindo que para o sucesso da criopreservação a avaliação da membrana espermática é de grande importância, relatando que touros oriundos da Índia atingem sua maturidade sexual

entre os 30 e 36 meses.

Os sêmens congelados apresentam diminuição na fertilidade quando comparado ao fresco, por motivo da técnica de criopreservação, que trata-se da diluição, resfriamento, adição e penetração do crioprotetor, envase, congelação, armazenamento e descongelação. A célula espermática também sofre por uma série de estresse térmico, osmótico e tóxico, tendo alterações rápidas de volume celular que causam danos à membrana plasmática (SILVA, 2013).

Estudo realizado mostrou que touros jovens têm uma maior motilidade e vigor espermático do que touros adultos (3,5 - 7 anos) no entanto tendo maiores defeitos morfológicos como a cauda fortemente enrolada e irregularidade na peça intermediária do espermatozóide (CARREIRA e KOIVISTO, 2012).

Eventualmente a realização da coleta de sêmen é uma técnica não estéril para uma inseminação, conseqüentemente podendo haver vários gêneros de bactérias no ejaculado, podendo conter inúmeros microrganismos patogênicos e também ocorrendo alterações morfológicas e/ou funcionais nos espermatozóides Os contaminantes do sêmen in natura continuam acondicionados no sêmen industrializado, sendo capaz de se tornar oportunistas interferindo na eficiência reprodutiva (VASCONCELOS et al., 2018).

1186

CONCLUSÃO

Diante o estudo observou um baixo valor numérico na fecundação dos oócitos dentre os touros utilizados, em ambas as avaliações. Com isso, através de pesquisas relacionadas a área, relatou a possibilidade dos touros avaliados ainda não estarem totalmente desenvolvidos sexualmente, principalmente o touro 04, no qual é o mais novo do grupo. A fazenda vem buscando a cada ano ampliar animais precoces, contudo a precocidade nesta pesquisa não foi um fator positivo, já que obteve taxas de fecundação *in vitro* dos oócitos baixas, por não terem os espermatozoides totalmente capacitados para a fecundação.

REFERÊNCIAS:

ABADIA, M. E. N. C. Transferência de embriões em bovinos: revisão de literatura. Monografia (Especialização) - Universidade Castelo Branco, Goiânia, 2006

BUENO, Ataliba Perina; BELTRAN, Maria Paula. Produção *in vitro* de embriões bovinos. Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária, Garça – SP. Julho, 2008. Disponível em:

<

http://www.fae.f.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/pyqjdjdrseHFgW_2013-6-13-15-24-57.pdf>. Acesso em: 02/09/2022.

CARREIRA, Janaina torres; KOIVISTO, Adjunto Marion Burkhardt de. Qualidade espermática e danos de DNA em espermatozóides criopreservados de touros nelores jovens, adultos e senis. Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal - São Paulo. Março, 2012. Disponível em:

<https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/105909/carreira_jt_dr_jabo.pdf;jsessionid=BD4F14F83CE87C56AB69A79DC6A1FBB5?sequence=1>. Acesso em: 11/10/2022.

COELHO, Lia de Alencar, et al.. Avaliação das condições de maturação oocitária e do efeito do reprodutor na produção *in vitro* de embriões bovinos. Ver. Bras. Zootec., v. 35 n. 3 p. 120-122 . ano 1998. Disponível em:

<<https://www.scielo.br/j/bjvras/a/fXKSVnd8YPWnx6zGpvCyWkw/?format=pdf&lang=pt>>. Acesso em: 17/10/2022

COELHO, Lia de Alencar, et al.. Fecundação *In vitro* de Ovócitos Bovinos com Sêmen Submetido a Diferentes Diluidores. Ver. Bras. Zootec., v. 29, n. 2, p. 397-402. Ano 2000.

COSTA e SILVA, E. V., et al.. Precocidade sexual de touros a campo em condições tropicais. Rev. Bras. Reprod. Anim., Belo Horizonte, v. 37, n. 2, p 97-104. Junho de 2013.

EVANGELISTA, João José Ferreira. Ação farmacológica das vitaminas A e E da produção de oócitos e embriões bovinos. UFC, 2010. Disponível em: <https://repositorio.ufc.br/bitstream/riufc/2421/1/2010_dis_jjfevangelista.pdf> . Acesso em 01/09/2022

IBGE- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Rebanho de Bovinos (Bois e Vacas). Rio de Janeiro: IBGE – 2020. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/bovinos/br>>. Acesso em 01/09/2022

MACHADO, Renato Franco; ALMEIDA, Otávio Cordeiro de. Preparação de reprodutores para estação de monta no sistema de monta natural de gado de corte. PUC, Goiânia - GO, 2021. Disponível em:

<<https://repositorio.pucgoias.edu.br/jspui/bitstream/123456789/2782/1/RENATO%20REPOSITORIO.pdf>>. acesso em: 14/10/2022

MARTINS, Leonardo Franco, et al., Avaliação da qualidade de sêmen fresco de touros jovens da raça composta tropical montana e suas correlações com o teste hiposmótico. *Acta Veterinaria Brasilica*, Viçosa - MG, v.6, n.3, p.192-198, 2012.

ROSSI, Guilherme Fazan, et al., Parâmetros reprodutivos de machos da raça nelore de baixa e alta eficiência alimentar suplementados com ácidos graxos protegidos em pastagem. Unesp, Jaboticabal - SP, 2017. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/150970/rossi_gf_dr_jabo.pdf;jsessionid=B5BC2467D23570A9F4B188901B104B5E?sequence=3>. Acesso em: 14/10/2022

SBTE – Sociedade brasileira de tecnologia de embriões: Seu histórico em fatos e fotos. SBTE, n°23. Jaboticabal – SP: O Embrião, 2005.

SANTOS, Jaqueline Ferreira Daniel, et al.. Qualidade do sêmen bovino criopreservado. *Rev. ESPACIOS*, São Luiz de Montes Belos - GO. Vol. 39, n°14, p.18. Janeiro, 2018.

SILVA, Natália do Carmo. Uso de semem fresco e refrigerado em programas de inseminação artificial em Tempo Fixo em fêmeas bovinas. IFGO - Rio Verde, Junho, 2013. Disponível em: 1188
<https://sistemas.ifgoiano.edu.br/sgcursos/uploads/anexos_10/201747Disserta%C3%A7%C3%A3o%20Natalia.pdf>. Acesso em 10/10/2022.

TREVISAN, Juliane Teramachi; KOIVISTO, Adjunto Marion Burkhardt de. Influência dos danos oxidativos na qualidade espermática em bovinos de diferentes idades. Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal - São Paulo. Julho, 2013. Disponível em: <<https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/98141/000735365.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>. Acesso em: 19/10/2022

VASCONCELOS, Andre Belico, et al Aspectos microbiológicos do sêmens de bovinos mantido em centrais de reprodução animal. *Veterinária Notícias*, Universidade Federal de Minas Gerais - Uberlândia. Vol. 24, n° 1, p. 43-56. Abril, 2018. Disponível em: <<https://seer.ufu.br/index.php/vetnot/article/view/39920/22558>>. Acesso em: 12/10/2022