

SELEÇÃO DE RECEPTORAS EM UM PROGRAMA DE TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES (PIVE) EM BOVINOS NO NORDESTE DO BRASIL

(Selection procedure in embryo transfer program in cattle at northeastern Brazil)

Kolowyskys Silva de Alencar DANTAS^{1*}; Claudio Cabral CAMPELLO²;
Raul Andrei de Assis DANTAS³; José Ferreira NUNES²

¹Mestrado Profissional em Biotecnologia Animal (Mpbiotec - UECE). Av. Dr. Silas Munguba, 1700 - Campus Itaperi, Fortaleza-Ce, CEP: 60.740-000; ²Faculdade de Veterinária (FAVET) da Universidade Estadual do Ceará (UECE); ³Graduando da FAVET / UECE.

RESUMO

A seleção de receptoras constitui-se em uma das principais etapas de um programa de transferência de embriões (TE), influenciando substancialmente os resultados econômicos da aplicação dessa biotécnica. Considerando os desafios enfrentados para obtenção de um número de receptoras suficiente para atender à demanda de um programa de TE em bovinos, o presente estudo foi realizado com o objetivo de ampliar os elementos utilizados como critérios de pré-seleção dessas matrizes, visando incrementar o número de fêmeas disponíveis para a etapa de sincronização de ciclo estral. Para tanto, 1017 fêmeas das raças Girolando, Gir Leiteiro e Nelore, oriundas de propriedades localizadas no Nordeste brasileiro, foram avaliadas por meio de exames ginecológicos, desde as etapas preliminares de seleção, até ocorrência de parto a termo; identificando-se dois grupos experimentais, representados pelos animais que apresentavam folículos maduros ou corpos lúteos por ocasião da pré-seleção. Os resultados obtidos revelaram que as matrizes que apresentam folículos maduros por ocasião do exame ginecológico preliminar, de admissão no programa de transferência de embriões na condição de receptoras, apresentaram rendimentos finais equivalentes aos daquelas admitidas pela presença de corpo lúteo no mesmo momento, independentemente do ovário (direito ou esquerdo). O estudo demonstrou, ainda, que embriões em estádios de blastocisto (inicial, tipicamente caracterizado ou expandido) devem ser prioritariamente selecionados para transferência.

Palavras chaves: Transferência de embriões, receptoras, reprodução animal, ginecologia bovina.

ABSTRACT

Recipient selection comprises an important step for embryo transfer (ET) programs, affecting significantly the economic results of that biotechnology. Considering the challenges for obtaining recipient cows in a number big enough to attend the demand of an ET program, this research was carried out with the aim of to expand criteria of recipient pre-selection, in order to increase the number of females disposable for estrum cycle synchronization. Then, 1017 cows of different breeds (Girolando, Gir Leiteiro and Nelore) from farms located in Brazilian Northeast, where evaluated by gynecological exams since preliminary phases of selection up to calving birth, divided into experimental groups represented by females presenting mature follicles or corpus luteal at pre-selection. Results obtained have shown similar final yields for the two experimental groups, revealing that

*Endereço para correspondência:
kolowyskys@bol.com.br

both ovarian structures should be used as criteria for including matrices in ET programs. In addition, embryos in stage of blastocyst (Initial, completely characterized or expanded) must be preferred for ET.

Key words: Embryo transfer, recipient, animal reproduction, bovine gynecology.

INTRODUÇÃO

O uso da biotécnica da transferência de embriões (TE) tem apresentado crescimento acentuado nos últimos anos, constituindo uma importante ferramenta para incremento do desempenho produtivo de rebanhos, por meio da geração de descendentes, a partir de indivíduos de alto mérito genético; além de permitir o aumento da fertilidade de matrizes em estresse térmico e vacas repetidoras de cio (FERRAZ *et al.*, 2016).

O sucesso de um programa de TE dependeria de diversos fatores, que poderiam estar relacionados às características das doadoras, do embrião, técnica empregada, receptora e às interações entre todos esses fatores. Embora vários desses elementos tenham sido alvo de recentes investigações, considera-se que os fatores associados às receptoras (condição nutricional, estado sanitário e manejo) estariam entre os mais importantes, já que essas fêmeas seriam responsáveis pelo estabelecimento e manutenção da gestação em condições ótimas, até o parto a termo (JONES e LAMB, 2008).

De acordo com Phillips e Jahnke (2016), a seleção de receptoras constitui uma etapa primordial em um programa de TE. Além disso, o número de receptoras utilizáveis em um programa dessa natureza teve influência sobre sua viabilidade econômica, uma vez que a carência de ventres para desenvolvimento dos conceptos resultou na necessidade de processos de criopreservação, que puderam incorporar custos adicionais e encarecer o programa.

BARIONI *et al.* (2007) estimaram que deve haver, aproximadamente, 20 receptoras tratadas para cada doadora disponível. Considerando-se que nem sempre as propriedades comerciais dispõem de receptoras em número suficiente para o perfeito andamento do processo, faz-se necessário maximizar o aproveitamento daquelas que se encontram disponíveis. Usualmente, fêmeas destinadas à formação de um plantel de receptoras são identificadas, preliminarmente, a partir da confirmação do estado de ciclicidade ovariana, sendo consideradas ciclicas fêmeas que revelem, ao exame ginecológico, a presença de corpo lúteo em um dos dois ovários. Essas fêmeas são, desse modo, encaminhadas para os tratamentos hormonais destinados à sincronização de estro com as doadoras. Contudo, esse critério de pré-seleção pode restringir o número de animais disponíveis, já que corpos lúteos

estariam presentes, em condições de diagnóstico, predominantemente em fêmeas na fase de metaestro tardio ou em diestro. Assim, o presente estudo foi realizado com o objetivo de ampliar os elementos utilizados como critérios de pré-seleção, visando incrementar o número de receptoras disponíveis para a etapa de sincronização em programas de TE em bovinos.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi desenvolvido em duas propriedades, localizadas nos municípios de Tabuleiro do Norte - CE (latitude 5°11'56" S; longitude 38°04'30" O), , temperatura média de 27,7 °C e 759 mm de precipitação pluviométrica média anual) e Major Sales - RN (latitude 6° 25'24" S; longitude 38°20'08"O), 301m de altitude, temperatura anual média de 26,2 °C e precipitação pluviométrica média de 845mm/ano), ambas situadas em região de clima semi-árido quente (Classificação AW), nas quais se desenvolve um projeto de pecuária leiteira, composto por animais das raças Girolando (½, ¾) e Gir Leiteiro. Em ambas as fazendas segue-se um calendário sanitário que inclui vacinas contra febre aftosa, raiva, clostridioses, brucelose, IBR, BVD e Leptospirose; além de vermifugações, de acordo com a faixa etária e de forma estratégica.

Foram utilizadas 1015 receptoras neste experimento, pertencentes às raças Girolando, Gir Leiteiro e Nelore, em diferentes graus de sangue, sendo as vacas lactantes mantidas em confinamento, enquanto vacas secas e nuliparas eram criadas em regime de pasto (*Panicum spp.*) e sal mineral *ad libitum*.

Quatro avaliações ginecológicas foram conduzidas durante o período experimental, sendo a primeira para seleção de possíveis receptoras, a segunda para avaliação da resposta destas fêmeas ao protocolo de sincronização, a terceira para diagnóstico de gestação e a última para identificação das gestações concluídas com parto a termo.

As doadoras de ovócitos foram fêmeas das raças Gir Leiteiro, oriundas de uma central de doadoras situada em Uberlândia - MG. A aspiração folicular foi realizada com a técnica de aspiração transvaginal, guiada por ultrassom (*Ovum Pick-Up* - OPU). Os ovócitos aspirados eram classificados, quanto à qualidade, em graus de 1 a 4 (PALMA, 2001) e transportados ao laboratório, onde foram maturados, fertilizados e cultivados em ambiente controlado. Após a produção, os embriões foram classificados, sendo utilizados apenas os de grau 1 (= excelente), e o grau 2 (= bom).

As receptoras passaram por uma avaliação visual (avaliação do escore de condição corporal, presença de ectoparasitas ou quaisquer outros problemas) e exame clínico. Aquelas que apresentaram melhores condições físicas foram selecionadas, passaram por exames de avaliação do útero e ovários, através de palpação retal, com auxílio de exame ultrassonográfico (100 Falco – Esaote Piemedical), com transdutor linear de 5 a 7,5 MHz.

As informações geradas por estes exames foram empregadas para compor a lista das receptoras consideradas aptas ao início do tratamento hormonal e recepção do embrião, representadas pelas matrizes que apresentavam corpo lúteo (CL), folículo pré-ovulatório ou cisto como estruturas ovarianas identificáveis.

O protocolo hormonal utilizado para a sincronização teve início pela introdução de um dispositivo intravaginal com 1 g de progesterona no Dia 0 (D0) + 2 mg de benzoato de estradiol (BE). No Dia 8 (D8), remoção do dispositivo intravaginal, seguida da aplicação de 0,15 mg de PGF2 α + 0,5 mg de Cipionato de estradiol + 1.500 UI de gonadotrofina coriônica equina (eCG).

No dia 17 (D17), no momento da ovulação dos embriões, as receptoras foram avaliadas, por palpação retal, para avaliação da resposta ao protocolo hormonal, representada pela presença do CL, classificado em 1 - excelente, 2 - bom e 3 - regular. Somente as matrizes que possuíam CL no momento desse exame receberam embrião.

Os embriões produzidos *in vitro*, que haviam sido transportados em meio de cultivo e envasados no laboratório da fazenda, foram inseridos no terço final do corno uterino ipsilateral ao ovário com CL presente. A transferência dos embriões foi realizada por técnicos especializados, pelo método transcervical (não cirúrgico) após anestesia epidural.

Em torno de 23 dias após a ovulação, ou seja, aproximadamente 30 dias de gestação, as receptoras foram submetidas ao diagnóstico de gestação. Aquelas que apresentaram diagnóstico positivo foram submetidas a um diagnóstico de confirmação, após um período médio de 30 dias, onde passariam a compor um lote de fêmeas gestantes. Faltando 30 dias para o provável parto, estas foram deslocadas para a maternidade, onde foram submetidas a uma dieta diferenciada (aniônica), além de cuidados suplementares, para que pudessem levar suas gestações a termo.

Após a parição, dependendo do grau de sangue da matriz, o bezerro (a) era separado da mãe, recebia todos os cuidados de um neonato (ingestão de colostro, desinfecção de umbigo, identificação), e destinado ao bezerreiro (tipo tropical). Esta fêmea, agora lactante, no momento adequado, era destinada à rotina de ordenha e, após 25 dias, era submetida a uma avaliação ginecológica. Caso não apresentasse nenhuma alteração em seu aparelho

reprodutivo, já era liberada para servir novamente como receptora. As que apresentavam diagnóstico negativo, tanto no primeiro quanto no segundo exame, retornavam ao lote de receptoras, onde seriam reavaliadas para uma nova TE.

Os resultados da investigação foram tabulados em planilha eletrônica do Programa Excel, sendo registrados dados referentes ao status reprodutivo de cada uma das matrizes, avaliadas em, quais sejam: 1) avaliação preliminar (exame ginecológico realizado em todas as fêmeas disponíveis para a seleção de receptoras); 2) avaliação no momento da inovulação (identificação de fêmeas que possuísem corpo lúteo em um dos ovários, aptas à recepção do embrião); 3) confirmação do sucesso da implantação do embrião, representado pela continuidade da gestação (60 dias após o procedimento de inovulação); e 4) resultado final da gestação, na forma de parto a termo ou perda fetal. Registraram-se também dados referentes ao estágio de desenvolvimento do embrião selecionado para inovulação, nas categorias Mórula, Blastocisto Inicial, Blastocisto Tipicamente Caracterizado e Blastocisto Expandido.

Os dados foram, então, submetidos à análise estatística, considerando-se um estudo de dispersão de frequência, aplicando-se o teste de Qui-quadrado, sendo os resultados expressos como percentagens e considerando-se as diferenças significativas em nível de 5%. Realizou-se, ainda, uma análise da Razão de Possibilidades (Odds Ratio), sendo esses resultados apresentados juntamente com o intervalo de confiança que contenha 95% dos dados. O pacote estatístico SAS (2002) foi empregado na realização de ambas as formas de análise dos dados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste experimento, foram realizadas 847 transferências de embriões. Desse total, 289 fêmeas obtiveram diagnóstico de gestação positivo no exame ginecológico, executado após a inovulação, perfazendo 34,12% de aproveitamento. Dessas 289 gestações confirmadas no primeiro exame, 225 resultaram em partos a termo, correspondentes a 26,56% do total de transferências inicialmente realizadas. Esses valores são equivalentes aos resultados apresentados por *Morais et al.* (2013), porém são inferiores aqueles descritos por *Vieira et al.* (2002) e por *Scanavez et al.* (2013).

De acordo com *Andrade et al.* (2012), a variabilidade do sucesso das transferências de embriões ainda foi um dos entraves para sua expansão, e a maioria dos problemas seriam relacionados com as receptoras. Fatores como o grupo étnico ao qual pertencem à doadora, o embrião, a receptora, a qualidade do embrião, sistema de cultivo, características do corpo

lúteo da receptora, sincronia de eventos reprodutivos entre a doadora e a receptora, manejo após a inovulação, variáveis bioclimáticas e outros estariam entre as muitas causas de variação nos resultados obtidos (GRÁZIA *et al.*, 2016; HONORATO *et al.*, 2013).

Considerando-se que o principal foco do trabalho era avaliar a importância dos critérios de seleção prévia de receptoras para um programa de transferência de embriões, as comparações foram direcionadas para investigar o efeito da presença de corpos lúteos ou foliculos maduros nos ovários dessas matrizes, durante a realização dos exames preliminares (destinados à preparação do rebanho de receptoras consideradas aptas para o programa) sobre as variáveis indicativas de sucesso pela aplicação da biotécnica.

Os percentuais de aproveitamento de matrizes para o programa de transferência de embriões, de acordo com o tipo de estrutura encontrada no exame ginecológico preliminar (corpo lúteo ou foliculo) e o lado em que o ovário estava localizado se encontram sumarizados na Tab. 1.

Os resultados obtidos revelaram que, dentre as matrizes que apresentaram corpo lúteo nos exames ginecológicos preliminares, 84,02% confirmaram estar efetivamente em atividade ciclica ovariana no início dos procedimentos de sincronização de cio e foram incluídas no programa de transferência de embriões (TE), sendo rejeitadas somente 15,98% dessas fêmeas. Das matrizes que apresentaram foliculos ovarianos claramente identificáveis nos exames ginecológicos preliminares, 77,89% também foram aproveitadas no programa de transferência de embriões, pela mesma razão, rejeitando-se apenas 22,11% do total. Não houve diferença significativa entre os percentuais de fêmeas inseridas no programa, devido à presença de corpo lúteo (84,02%) ou foliculo (77,89%) nos exames ginecológicos preliminares ($p < 0,1261$). A construção do intervalo de confiança de 95% para a Razão de Possibilidades (*Odds Ratio*) apresentou valores entre 0,4001 a 1,1223, indicando que a presença de corpo lúteo ou foliculo maduro nos exames preliminares se equivalem como critérios de inclusão de matrizes em programas de transferência de embriões.

Tabela 1: Aproveitamento (%) de matrizes para o programa de transferência de embriões, de acordo com o tipo de estrutura encontrada (corpo lúteo ou foliculo) e o lado em que o ovário estava localizado.

Estrutura	Percentual	Nível de significância	Razão de possibilidades (Odds Ratio - OR)	IC _{95%} da OR
-----------	------------	------------------------	---	-------------------------

Corpo lúteo	84,02% (773/920)	0,1261 n.s.	0,6701	0,4001 – 1,1223
Foliculo	77,89% (74/95)			
CLOD	84,81% (525/619)	0,3468 n.s.	0,8378	0,5793 – 1,2117
CLOE	82,39% (248/301)			
Foliculo OD	72,88% (43/59)	0,1317 n.s.	2,3070	0,7639 – 6,9672
Foliculo OE	86,11% (31/36)			
Ovário direito	83,78% (568/678)	0,1589 n.s.	0,9316	0,6572 – 1,3204
Ovário esquerdo	82,79% (279/337)			

OD: ovário direito; OE: ovário esquerdo; CLOD: corpo lúteo OD; CLOE: corpo lúteo OE

Dentro do grupo de animais selecionados por terem apresentado corpo lúteo no exame ginecológico preliminar, foram analisadas distintamente as matrizes que possuíam corpo lúteo no ovário direito e aquelas possuindo corpo lúteo no ovário esquerdo. Nessa amostra, observou-se que 84,81% das matrizes que possuíam corpo lúteo no ovário direito foram selecionadas para o programa de TE, desprezando-se apenas 15,19% delas. Percentuais similares (82,39%) foram constatados em matrizes aproveitadas por possuírem corpo lúteo no ovário esquerdo, dentre as quais somente 17,61% foram descartadas do processo. Não houve diferença significativa entre os valores de 84,81% e 82,39% ($p < 0,3468$), indicando que não existiu distinção de funcionalidade entre os dois ovários, direito e esquerdo, como indicativos de atividade ciclica gonadal. Outros autores se reportaram ao assunto, afirmando que a frequência de ovulações no ovário direito foi maior do que no ovário esquerdo (LEAL *et al.*, 2009); porém sem indícios de favorecimento ou prejuízo da localização do corpo lúteo sobre a concepção (SCANAVEZ *et al.*, 2013).

De forma semelhante, entre os animais admitidos como receptoras potenciais porque possuíam foliculo no ovário direito, 72,88% foram selecionadas, refulando-se o equivalente a 17,12%. As fêmeas que apresentaram foliculo no ovário esquerdo perfizeram 86,11%, descartando-se apenas 13,89%. Não houve diferença significativa entre os percentuais de aproveitamento de fêmeas com foliculos no ovário direito ou esquerdo

($p < 0,1317$). Tampouco houve diferença entre os ovários direito e esquerdo, quando ambas as estruturas funcionais (corpo lúteo e folículo) foram agrupadas, *id est*, 83,78% dos animais que apresentaram corpo lúteo ou folículo no ovário direito foram incluídos no programa (sendo 16,22% rejeitadas), enquanto 82,79% dos animais com estruturas localizadas no ovário esquerdo foram aproveitadas para a TE (17,21% de refugos) ($p < 0,1589$). Em todas as comparações entre ovários direito e esquerdo, específicas para corpo lúteo, para folículo, ou agrupando-se ambas as estruturas, o cálculo da Razão de Possibilidades e seu intervalo de confiança de 95% revelaram que não há superioridade funcional de qualquer um dos lados.

Das matrizes que haviam sido selecionadas para o programa de transferência de embriões, com base na presença de corpo lúteo em um dos ovários, 33,38% apresentaram resultado positivo no diagnóstico de gestação, realizado após a aplicação da biotécnica (66,62% apresentaram resultado negativo nesse diagnóstico de gestação). Dentre as fêmeas que haviam sido incluídas no programa de TE, a partir da identificação de folículos, 41,89% também demonstraram estarem prenhes, por ocasião da realização do primeiro exame subsequente à transferência (58,11% não desenvolveram a gestação). Não houve diferença significativa entre esses dois valores percentuais ($p < 0,1399$). A análise da razão de possibilidades mostrou que não houve diferença entre as possibilidades de confirmação do estado gestacional associada aos achados do exame ginecológico inicial, para seleção de matrizes. As fêmeas selecionadas por apresentarem folículos maduros como indicativos de ciclicidade ovariana, demonstraram apresentar resultados equivalentes àquelas que apresentaram corpo lúteo, quanto à capacidade de dar continuidade ao desenvolvimento intrauterino do concepto (Tab. 2).

A Tab. 2 demonstra ainda que, de forma semelhante ao que aconteceu na primeira fase das análises de dados, o lado onde estava localizado o ovário não interferiu de forma significativa sobre a resposta positiva à transferência de embriões, independentemente de estarem sendo comparados corpos lúteos, folículos, ou se as duas estruturas foram agrupadas como indicadores de ciclicidade, aplicadas como critério para seleção de receptoras. Tais resultados estão de acordo com aqueles descritos anteriormente por Scanavez *et al.* (2013).

Tabela 2: Matrizes apresentando resultados positivos (%) de gestação por transferência de embriões de acordo, com o tipo de estrutura encontrada (corpo lúteo ou folículo) e o lado em que o ovário estava localizado.

Estrutura	Percentual	Nível de significância	Razão de possibilidades (Odds Ratio - OR)	IC _{95%} da OR
Corpo lúteo	33,38% (258/773)	0,1399n.s.	1,4391	0,8857 – 2,3382
Foliculo	41,89% (31/74)			
CLOD	31,62% (166/525)	0,1317n.s.	1,2754	0,9293 – 1,7504
CLOE	37,10% (92/248)			
Foliculo OD	37,21% (16/43)	0,3363n.s.	1,5820	0,6196 – 4,0391
Foliculo OE	48,39% (15/31)			
Ovário direito	32,04% (182/568)	0,0687n.s.	1,3194	0,9786 – 1,7789
Ovário esquerdo	38,35% (107/279)			

OD: ovário direito; OE: ovário esquerdo; CLOD: corpo lúteo OD; CLOE: corpo lúteo OE

Ainda que um bom percentual de matrizes tenha conseguido dar continuidade ao desenvolvimento embrionário e fetal, logo após a aplicação da biotécnica da TE, somente o resultado final, sob a forma de parto a termo, indica de forma evidente que houve sucesso na adoção dos procedimentos. O percentual de vacas que apresentaram parto a termo, entre aquelas que foram inicialmente selecionadas por apresentarem corpo lúteo no exame ginecológico preliminar, foi de 76,74%. Somente 23,26% das fêmeas selecionadas com base na presença de CL e com diagnóstico de gestação inicial positivo, tiveram perda fetal ao longo do período gestacional e não produziram crias vivas. Um total de 87,10 % das vacas que tinham diagnóstico de gestação inicialmente positivo, entre aquelas provenientes do grupo selecionado pela presença de foliculo maduro em algum dos ovários, apresentaram parto a termo (apenas 13,90% tiveram perda fetal posterior). Aquele valor de 76,74% não diferiu significativamente dos 87,10% de partos a termo, observados naquelas vacas que haviam sido incluídas no programa de TE por apresentarem foliculos maduros no exame ginecológico preliminar ($p < 0,1896$). Nesse caso, o valor da Razão de Possibilidades foi calculado em 2,0455 e o seu intervalo de confiança para 95% foi na faixa de 0,6884 até 6,0781, confirmando que não houve diferença entre as vacas selecionadas com base na presença de corpo lúteo ou foliculo maduro no exame ginecológico preliminar.

Calculando-se o resultado final, na forma de partos a termo, de crias nascidas vivas, em relação ao número de transferências originalmente realizadas, verifica-se que houve 198 partos a termo de 773 transferências realizadas com receptoras selecionadas previamente, devido à presença de corpo lúteo em um dos ovários (25,61%). Por outro lado, aconteceram 27 partos a termo, a partir de 74 transferências executadas em receptoras que possuíam folículos maduros por ocasião do exame prévio de aptidão (36,49%). Embora tenha havido diferença significativa entre esses valores de 25,61%, *versus* 36,49% ($p < 0,0431$), esse resultado não deve ser compreendido como superioridade da seleção, com base na presença de folículos maduros sobre a presença de corpos lúteos, na prática de campo; mas, sim, como indicio de que os critérios se equivalem para a seleção de receptoras, que deverão fazer parte de um programa de transferência de embriões.

Usualmente, programas de transferência de embriões têm início com a identificação de receptoras, que estejam apresentando atividade ciclica gonadal, sendo esse considerado um indicador de que deverá responder satisfatoriamente aos procedimentos de sincronização de ciclo estral com as doadoras (GOUVEIA, 2011).

De modo geral, selecionam-se somente vacas possuindo corpo lúteo fluorescente, indicativo de ovulação anterior e determinante da utilização do animal. Entretanto, o critério de pré-seleção de receptoras baseado somente na presença de corpo lúteo exclui animais que se encontram em fases do ciclo nas quais corpos lúteos não são facilmente detectáveis. Reduz-se, desse modo, o número de fêmeas potencialmente utilizáveis na condição de receptoras, impactando negativamente os aspectos econômicos do uso dessa biotécnica, por limitar a exploração maximizada dos componentes de custo do processo. Entre esses custos, destacam-se os honorários do profissional e demais membros da equipe executora, que necessitam ser bem aproveitados para que os resultados finais sejam economicamente compensadores (BELTRAME *et al.*, 2010). Contrariamente, a inclusão de matrizes que apresentam folículos maduros nos exames ginecológicos preliminares, contribui para aumentar o número de receptoras disponíveis, permitindo um melhor aproveitamento dos recursos e reduzindo a necessidade da realização de procedimentos adicionais, como a criopreservação dos embriões produzidos em número excedente ao de receptoras.

Este estudo também procurou contemplar uma avaliação da qualidade (subjetiva) do corpo lúteo sobre o resultado final do programa, sob a forma de nascimento dos produtos. Considerando três classes de corpos lúteos, observou-se que os percentuais de gestações que resultaram em nascimento de crias viáveis não variaram significativamente, quando

comparados corpos lúteos das classes I, II e III (86,67%, 77,39% e 74,19%, respectivamente), as quais foram numeradas em ordem decrescente de qualidade.

Tais achados confirmam os resultados da investigação feita por Vieira *et al.* (2002), a partir de 1590 transferências de embriões realizadas em vacas da raça Simental em Minas Gerais. Essa semelhança nos achados pode ser explicada pelo fato de que a projeção do corpo lúteo sobre a superfície ovariana não reflete necessariamente sua dimensão total (HONORATO *et al.*, 2013). Existem corpos lúteos que apresentam pequena projeção superficial, mas que estão profundamente inseridos na estrutura interna do ovário. A recíproca também é verdadeira, i.e., corpos lúteos facilmente detectáveis a partir da projeção superficial podem não ter um grau elevado de internalização, apresentando dimensões totais reduzidas. Ademais, as concentrações de progesterona (P4) não estão necessariamente relacionadas com a avaliação subjetiva de corpos lúteos, acessada por palpação transretal (VIEIRA *et al.*, 2002).

Compararam-se ainda resultados obtidos a partir do uso de embriões pertencentes a diferentes categorias de desenvolvimento, desde mórula (Mo), blastocisto inicial (Bi), blastocisto (Bl) e blastocisto expandido (Bx), quanto ao percentual de matrizes que apresentaram resultado positivo no exame após a transferência e, também, quanto ao resultado final, na forma de parto a termo.

Das matrizes que receberam embriões transferidos no estágio de mórula, 13,04% tiveram resultado positivo no primeiro diagnóstico de gestação realizado após a inováção. Dentre as que receberam embriões na condição de blastocisto inicial, 28,28% tiveram diagnóstico de gestação inicial positivo. Receptoras inovuladas com embriões nos estádios de blastocisto e blastocisto expandido tiveram as gestações confirmadas em 35,41% e 42,05% dos procedimentos realizados, respectivamente. Nas fases iniciais da prenhez, o percentual de diagnósticos positivos para inováção de embriões na forma de blastocisto expandido foi significativamente superior aqueles verificados nos embriões em estádios de mórula e blastocisto inicial. Não houve diferença significativa entre os percentuais de prenhez resultantes da inováção de embriões nas fases de mórula e blastocisto inicial ($p < 0,1227$), porém os resultados obtidos com o uso de blastocistos plenamente caracterizados foram superiores aos de mórula ($p < 0,0269$).

Ao fim do período gestacional, observou-se que apenas um dos três embriões que havia sido transferido em fase de mórula conseguiu se desenvolver satisfatoriamente e nascer a termo. O desempenho dos embriões transferidos como blastocistos foi bastante superior ($p < 0,05$). De 41 transferidos como blastocisto inicial, 28 se desenvolveram adequadamente

e nasceram a termo (68,29%). Entre os 210 inóvulados no estágio de blastocisto completamente caracterizado, 168 nasceram após um período gestacional normal (80,00%). Trinta e sete estruturas embrionárias foram transferidas na condição de blastocisto expandido, das quais 29 nasceram no prazo previsto, completamente desenvolvidos (78,38%). Não foram constatadas diferenças significativas nos percentuais de nascimentos resultantes de transferências de embriões nas fases de blastocisto, em suas distintas subdivisões de desenvolvimento.

Comparando-se com os resultados disponíveis na literatura consultada, observa-se que Andrade (2012) e colaboradores não encontraram diferença significativa devida à qualidade do embrião. Todavia, esses pesquisadores adotaram uma divisão em apenas duas classes (graus 1 e 2, correspondentes às condições descritas como “excelente” e “bom”, respectivamente). Ademais, o uso de embriões de apenas dois graus, e sendo ambos de qualidade elevada, pode ser parcialmente responsável pela equivalência entre as duas categorias.

Scanavez *et al.* (2013) também não observaram efeito significativo do grau de desenvolvimento do embrião sobre as taxas de prenhez e perdas gestacionais, em estudo realizado com 1100 transferências de embriões em mestiças euro-indianas leiteiras. Porém, esses autores classificaram os embriões de forma diferente daquela adotada no presente trabalho, agrupando-os como jovens (mórulas e blastocistos iniciais), intermediários (blastocistos típicos e expandidos) e adiantados (blastocistos em eclosão e eclodidos). Os tipos de sistemas de classificação puderam, pelo menos em parte, explicar as razões para as diferenças existentes nos resultados experimentais.

CONCLUSÕES

Nas condições em que o presente trabalho foi realizado, pode-se concluir que matrizes que apresentam folículos maduros por ocasião do exame ginecológico preliminar, de admissão no programa de transferência de embriões na condição de receptoras, podem apresentar resultados equivalentes aos daquelas admitidas pela presença de corpo lúteo no mesmo momento. Não houve diferença em relação ao lado do ovário em que folículos ou corpos lúteos são encontrados, com respeito aos resultados finais da transferência de embriões. Embriões em estágios de blastocisto devem ser prioritariamente selecionados para transferência. Conjuntamente, a partir dos achados obtidos nesta pesquisa, pode-se afirmar que o critério de seleção de receptoras proposto possibilita uma ampliação considerável do

número de fêmeas aproveitáveis para um programa de transferência de embriões, resultando em utilização dos recursos superior àquela permitida pelo critério usualmente empregado a campo, baseado somente na presença de corpo lúteo em algum dos dois ovários. Esse pode vir a ser um procedimento importante na viabilização econômica dessa biotécnica, uma vez que o pequeno número de receptoras aptas é considerado uma das principais causas da dificuldade de diluição dos custos fixos associados aos programas de TE em rebanhos leiteiros.

REFERÊNCIAS

- ANDRADE, G.A.; FERNANDES, M.A.; KNYCHALA, R.M.; PEREIRA JUNIOR, M.V.; OLIVEIRA, A.J.; NUNES, D.P.; BONATO, G.L.; SANTOS, R.M. Fatores que afetam a taxa de prenhez de receptoras de embriões bovinos produzidos in vitro. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.36, n.1, p.66-69, 2012.
- BARIONI, L.G.; TRAVASSOS BELTRAME, R.; QUIRINO, C.R.; RANKEL FERNANDES, D. Modelos determinista e estocástico em programas de transferência de embriões em bovinos. *Archivos Latino americanos de Producción Animal*, v.15, n.3, p.111-117, 2007.
- BELTRAME, R.T.; QUIRINO, C.R.; BARIONI, L.G.; LIMA, V.F.M.H. Simulação e análise econômica da produção in vivo e in vitro de embriões em bovinos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.45, n.11, p.1513-1520, 2010.
- FERRAZ, P.A.; BURNLEY, C.; KARANJA, J. VIEIRA-NETO, A.; SANTOS J.E.P.; CHEBEL, R.C.; GALVÃO, K.N. Factors affecting the success of a large embryo transfer program in Holstein cattle in a commercial herd in the southeast region of the United States. *Theriogenology*, v.86, p.1834-1841, 2016.
- GOUVEIA, F.F. A produção in vitro de embriões bovinos. Universidade de Brasília. Faculdade de Agronomia e Veterinária, Monografia. 35p., 2011.
- GRÁZIA, J.; SILVEIRA, R.; PEREIRA, E.; SANTOS, G. Desempenho de doadoras leiteiras mestiças F1 (Gir x Holandês) no sistema. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.68, n.3, p.605-610, 2016.
- HONORATO, M.T.; FERRO, R.A.C.; FERRO, D.A.C.; SANTOS, K.J.C.; COSTA, M.A.; RODRIGUES FILHO, J.L. Importância da escolha de receptoras em um programa de transferência de embriões em bovinos. *PUBVET*, v.7, n.19, Ed. 242, Art. 1601, 2013.

- JONES, A.L.; LAMB, G.C. Nutrition, synchronization, and management of beef embryo transfer recipients. *Theriogenology*, v.69, p.107-115, 2008
- MORAIS, M.E.O.; MELLO, R.R.C.; FERREIRA, J.E.; MELLO, M.R.B. Comparação de diferentes métodos de manejo reprodutivo em receptoras de embrião bovino sobre a taxa de concepção. *Revista Brasileira de Ciências Veterinárias*, v.20, n.2, p.89-93, 2013.
- PALMA, G.A. *Biotecnología de la reproducción*. Balcarce: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuária, 2001, 701p.
- PHILLIPS, P.E.; JAHNKE, M.M. Embryo transfer (Techniques, donors and recipients). *The Veterinary Clinics of North America – Food Animal Practice*, v.32, p.157-164, 2016.
- SCANAVEZ, A.L.; CAMPOS, C.C.; SANTOS, R.M. Taxa de prenhez e de perda de gestação em receptoras de embriões bovinos produzidos *in vitro*. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.68, n.3, p.722-728, 2013.
- STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM (SAS). 'SAS/STAT User's Guide.' (SASInstitute: Cary, NC.), 2002.
- VIEIRA, R.C.; FRANCO, R.V.R.; DINIZ, E.G.; JACOMINI, J.O. Relação entre a morfologia do corpo lúteo e índices de prenhez em receptoras de embriões bovinos. *Bioscience Journal*, v.18, p.99-102, 2002.