

Foto: Jeferson Ferreira da Fonseca

COMUNICADO
TÉCNICO

201

Sobral, CE
Dezembro, 2020

Embrapa

Protocolos Embrapa para superovulação de cabras e ovelhas

Jeferson Ferreira da Fonseca
Maria Emilia Franco Oliveira

Protocolos Embrapa para superovulação de cabras e ovelhas¹

¹ Jeferson Ferreira da Fonseca, médico-veterinário, doutor em Zootecnia, pesquisador da Embrapa Caprinos e Ovinos, Núcleo Regional Sudeste, Juiz de Fora, MG.

Maria Emilia Franco Oliveira, médica-veterinária, doutora em Medicina Veterinária, professora da Universidade Estadual de São Paulo, Jaboticabal, SP.

Introdução

A superovulação (SOV) tem por objetivo obter um número de embriões de uma fêmea (doadora) em uma quantidade superior à natural. Para isso, são administradas doses elevadas de hormônios capazes de alterar a fisiologia do animal e ampliar sua resposta ovulatória. Isso permite ampliar significativamente o número de fêmeas de genótipo superiores (doadoras), que podem passar por vários procedimentos sucessivos de SOV e coleta de embriões, enquanto seus embriões podem ser estocados (criopreservados) ou transferidos para outras fêmeas de menor valor zootécnico (receptoras). O hormônio mais comumente utilizado para esse fim é o hormônio folículo estimulante (FSH). Existem vários protocolos para superovular cabras e ovelhas. Suas eficiências são variáveis e dependem de uma série de fatores. O estágio de crescimento folicular presente no ovário por ocasião do início da administração de FSH é um dos principais fatores e de difícil controle.

A rigidez com horários e preparações é outro ponto de destaque que pode levar ao sucesso ou insucesso. Considerando os avanços no conhecimento no controle do ciclo estral monitorado em tempo real por ultrassonografia transretal, atualmente é possível ter uma boa predição da emergência de ondas foliculares ovarianas após início de protocolos de sincronização / indução de estro sincronizado, tanto na ovelha (Figueira et al., 2020c), quanto na cabra (Carvalho de Paula et al., 2020).

A predição do status folicular ovariano tem permitido iniciar o tratamento superovulatório próximo à emergência de uma onda folicular. Diversos protocolos de várias durações foram testados em protocolos de indução de estro sincronizado em ovelhas (Figueira et al. 2020c; Arrais et al., 2021), e cabras (Carvalho de Paula et al., 2020). O uso desse conhecimento tem permitido avanços no grau de maturidade da técnica de SOV para estágios finais de desenvolvimento que já propiciam aplicação a campo ou comercial. Outro aspecto importante é

a quantidade em miligramas (mg) ou unidades internacionais (UI) de FSH e sua relação e repetibilidade da resposta superovulatória (Maciel et al., 2019; Figueira et al., 2020a; Figueira et al., 2020b), produtividade e recuperação de embriões. A forma de aplicação dos protocolos, seguindo, integralmente, as recomendações de preparações hormonais e suas consecutivas administrações, é igualmente decisiva.

Este Comunicado Técnico sugere passos essenciais para preparações hormonais e execução da SOV em ovelhas e cabras.

Protocolos de superovulação recomendados para ovelhas e cabras

Pautados em estudos de indução de estro sincronizado, um protocolo de SOV é recomendado para cabras (Fonseca et al., 2013; Dias et al., 2019; Maia et al., 2020), e outro para ovelhas (Fonseca et al., 2019; Arrais et al., 2021; Figueira et al., 2020a) (Figura 1). Quanto maior percentual de animais com número de ovulações ≥ 10 (aferida pelo número de corpos lúteos), maior o percentual de animais contribuindo para $\geq 80\%$ dos embriões produzidos.

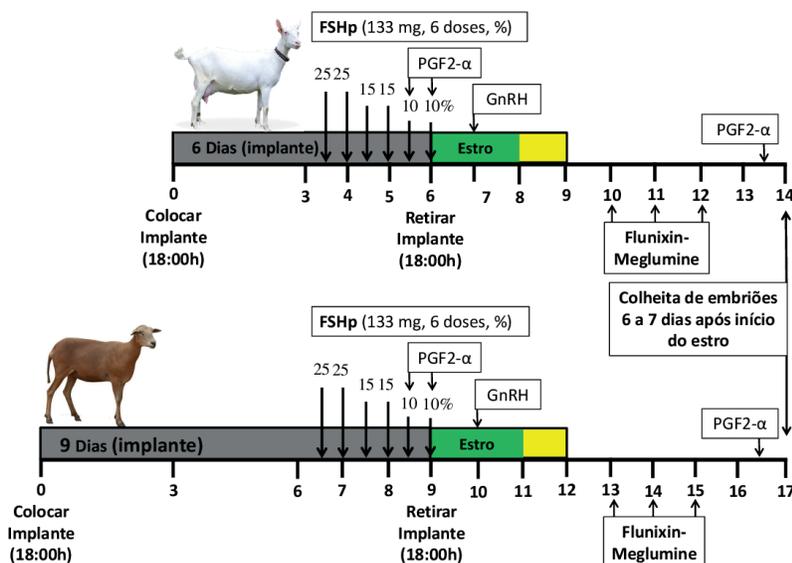


Figura 1. Representação esquemática do protocolo Embrapa de superovulação em Cabras e Ovelhas. A dose total de hormônio folículo estimulante (133 mg de FSHp) é fracionada em percentuais (%) divididos em ordem decrescente para as seis aplicações propostas.

Esses protocolos permitem cerca de 50% dos animais nessa condição além de uma grande concentração de estro nas primeiras 48h depois da retirada de dispositivo vaginal e, conseqüentemente, boa predição da data da recuperação e do número de embriões viáveis.

Etapas essenciais para aplicação de protocolos de superovulação de cabras e ovelhas

A quantidade de FSH em miligramas (mg) ou unidades internacionais (UI) pode ser obtida por regra de três simples, de acordo com a apresentação do produto. Assim, considerando uma dose superovulatória de 133 mg de um produto com 400 mg para ser diluído em 10 mL, siga as orientações abaixo, conforme ilustrado na Figura 2.

1. Aspirar 15 mL do diluente em seringas de 5 mL, transpondo-os para o frasco com o liofilizado (1). Não mude a capacidade da seringa para não interferir na dose em mL. Embora seja mais trabalhoso, isso evita um erro comum que é a redução ou mesmo falta de produto para última aplicação.
2. Retirar 5 mL desses 15 mL da primeira diluição e colocar em outros três frascos vazios (2). Em seguida,

aspirar mais 15 mL de solução fisiológica estéril e colocar no frasco que continha o hormônio diluído (3). Retirar novamente em seringas de 5 mL e colocar nos frascos com hormônio diluído (4). Assim, cada frasco terá 10 mL ou 133 mg de FSH p por frasco (5). Esse volume final é um padrão dos protocolos Embrapa de SOV em cabras e ovelhas, mas pode ser alterado de acordo com a preferência do técnico.

3. A dose total deve ser fracionada em seis a oito aplicações. Considerando seis aplicações, sugerem-se doses de 25% - 25% - 15% - 15% - 10% - 10% da dose total de FSHp. Dessa forma, fracionando os 10 mL obtidos no segundo passo para a dose total de 133 mg em 10 mL (5), ter-se-á 2,5 mL - 2,5 mL - 1,5 mL - 1,5 mL - 1 mL - 1 mL, totalizando 10 mL. Recomenda-se aspirar o conteúdo diluído para seringas de 5 mL, identificando-as com o número da doadora, o número da dose (1-2-3-4-5-6) e a data e turno de aplicação, colocando-as em sacos plásticos transparentes individuais com a identificação da doadora. Isso facilita a aplicação e minimiza erros. Pequenos ajustes de volume podem ser feitos para que se mantenha a percentagem em volume da dose recomendada. A aspiração direta do frasco para aplicação imediata frequentemente diminui a última dose por aspiração excessiva.

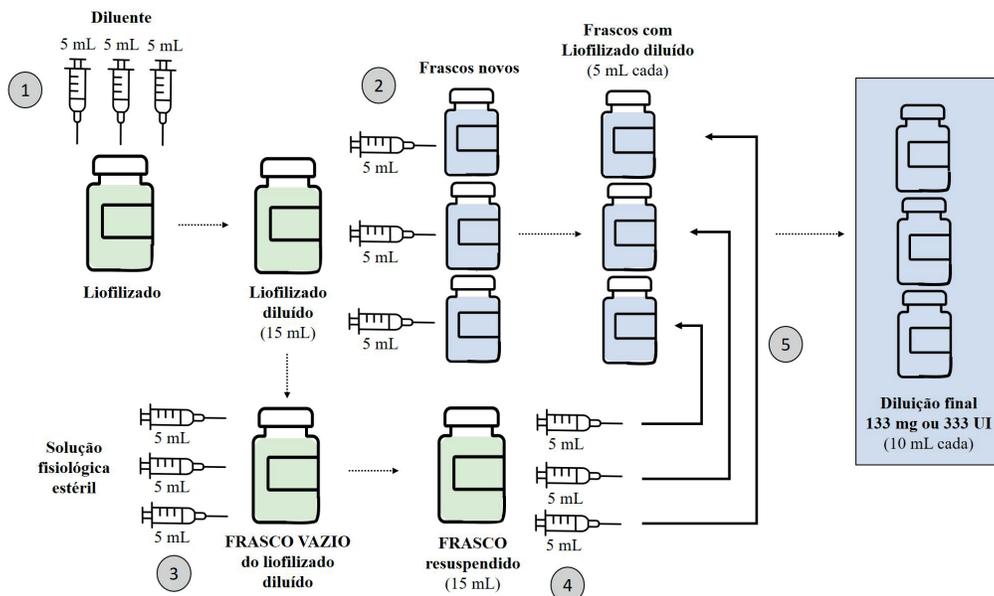


Figura 2. Recomendação sequencial para diluição de hormônio para a superovulação em cabras e ovelhas.

4. Todos os demais hormônios devem ser preparados e envasados em suas respectivas doses em seringas próprias e devidamente identificadas, colocadas no mesmo saco plástico do FSH e mantidas sob refrigeração.
5. As doses de FSH devem ser rigorosamente administradas no mesmo horário pela manhã e noite, em intervalos de 12h. Variações nesses horários alteram os níveis plasmáticos do hormônio e interferem na resposta superovulatória, diminuindo sua eficiência. Os protocolos Embrapa de SOV em cabras e ovelhas recomendam que a primeira dose seja feita 60h antes da retirada de dispositivo vaginal, mas isso pode ser alterado de acordo com a preferência do técnico.
6. A monta natural deve ser feita de forma preferencial em intervalos de 12h do início ao final do cio. A cada turno, recebem cobertura inicial dos machos aquelas ainda não cobertas, seguidas por aquelas cobertas há mais tempo. Fêmeas cobertas inicialmente no mesmo turno devem ter ordem de cobertura invertida no turno seguinte (Fonseca, 2020). As inseminações artificiais podem ser feitas em tempo fixo com o intervalo de 24h e 36h depois de retirada do dispositivo ou 12h e 24h após início do estro. As coletas de embriões estão programadas para ocorrer em média 7,5 dias a oito dias após a retirada do dispositivo. Dessa forma, ovelhas e cabras que manifestam cio

24h a 48h após a retirada estarão com sete a seis dias do ciclo estral, respectivamente. Coletas abaixo de seis dias do ciclo estral podem ter pior taxa de recuperação e estruturas muito jovens, enquanto coletas acima de sete dias podem apresentar embriões eclodidos. Em ambos os casos a criopreservação é desfavorecida e/ou não recomendada.

7. Antiluteolítico (Flunixin-meglumine): doadoras superovuladas são particularmente sensíveis à regressão luteal precoce. A aplicação de flunixin-meglumine tem o objetivo de minimizar ou contornar esse fenômeno. As administrações estão previstas para os dias 4-5-6 depois da retirada do dispositivo, considerando as coletas nos dias 6-7 após início do cio. Cuidado com doadoras que atrasam o cio, pois a aplicação dessa droga em animais em cio pode inibir a ovulação.
8. Derivados sintéticos da Prostaglandina F2-alfa (PGF2- α): são substâncias necessárias para interromperem a função luteal e/ou promover um relaxamento cervical de tal forma que permita a transposição cervical. Deve ser feita de acordo com o tratamento superovulatório antes da retirada do dispositivo vaginal para assegurar o estro (cio), 16h antes do horário previsto da coleta de embriões e uma semana após

esse procedimento para assegurar que não haja gestação indesejada.

9. Jejum: para coletas cirúrgicas deve ser feito jejum hídrico e alimentar total, iniciando-se 36h a 24h antes do horário previsto da coleta de embriões. É indispensável para a boa manipulação dos animais e diminuição de complicações em função de regurgitações indevidas em procedimentos cirúrgicos, mas é dispensável para animais que serão submetidos à coleta de embriões pela via transcervical. Nesse último caso recomenda-se apenas privação no dia da coleta.
10. Anotar ou assinalar em uma folha de programação todos os eventos, bem como observações, incluindo queda de implantes vaginais, acidentes, fêmeas que não tiveram cio ou com cio prolongado, número de acasalamentos naturais ou inseminações artificiais, troca de reprodutores, erros na aplicação dos hormônios, resposta superovulatória, regressão luteal precoce, aparência e drenagem de muco cervical, disposição de anéis cervicais e tempo de transposição cervical, tempo de coleta e embriões coletados, entre outras. Isso pode identificar possíveis causas de falhas ou acertos. Sugere-se uma ficha de anotações que possa ser capaz de receber todos esses dados como a apresentada a seguir.



Controle Individual de Colheita de Embriões

Projeto / Propósito: _____ Código _____
 Número do programa de TE: _____ Data: _____
 Cabanha /Capril: _____ Município: _____
 Protocolo _____ Observações: _____
 Datas do Início e fim: _____ e _____
 Período início e fim (M ou T): __ e __ Monta Natural/ Inseminação Artificial (horários): _____

| Espécie | Raça | Identificação | Idade | Ordem de partos | Observações |
|---------|------|---------------|-------|-----------------|-------------|
| Macho | | | | - | |

| Parâmetro | Início (Horário) | Final (Horário) | Duração | Observações |
|-----------|------------------|-----------------|---------|-------------|
| Cio | | | | |
| Passagem | | | | |
| Coleta | | | | |

| Parâmetro | Injetado | Recuperado | Eficiência | Observações |
|-----------|----------|------------|------------|-------------|
| Líquido | | | | |

| Parâmetro | Esquerdo | Direito | Total | Observações |
|-----------------|----------|---------|-------|-------------|
| Contagem CL | | | | |
| Estruturas | | | | |
| Recuperação (%) | | | | |

| Estruturas | Quantidade | Qualidade | Situação | Obs | Relógio Cervical | |
|-----------------|------------|-----------|----------|-----|------------------|--------|
| Não Fertilizado | | | | | Útero | |
| Degenerado | | | | | | |
| Atrasado | | | | | | |
| Mo | | | | | | |
| Mc | | | | | | |
| Bi | | | | | | |
| Bl | | | | | | |
| Bx | | | | | | |
| Be | | | | | | |
| Bex | | | | | | |
| Zp | | | | | | |
| Total | | | | | | Vagina |

Considerações finais

O sucesso da SOV é medido em última análise pela quantidade de embriões viáveis produzidos e recuperados em função das fêmeas superestimuladas. Além de um protocolo testado e com boa repetibilidade em diferentes raças, a rigidez de sua aplicação desde a preparação hormonal até sua execução final são fatores-chaves para seu sucesso. Seguir, integralmente, as recomendações do protocolo é, portanto, fundamental para produzir de forma eficiente e sustentável um maior número de descendentes de machos e, principalmente, fêmeas envolvidas em programas de transferência de embriões.

Agradecimentos

Os autores agradecem os projetos associados Fapemig e Embrapa.

Referências

ARRAIS, A. M.; MELLO, M. R. B.; VERGANI, G. B.; FIGUEIRA, L. M.; ESTEVES, S. N.; PEREIRA, V. S. A.; BARTLEWSKI, P. B.; OLIVEIRA, M. E. F.; SOUZA-FABJAN, J. M. G.; FONSECA, J. F. da. Non-surgical embryo recovery from estrus-synchronized or superovulated Morada Nova ewes: a feasible strategy for sheep embryo banking. **Biopreservation and Biobanking**, 2021. (Pre-proof).

CARVALHO-DE-PAULA, C. J.; SOUZA-FABJAN, J. M. G.; GONÇALVES, J. D.; DIAS, J. H.; SOUZA, G. N. de; OLIVEIRA, M. E. F.; FONSECA, J. F. Effect of a 12-h increment in the short-term treatment regimen on ovarian status, estrus synchrony, and pregnancy rate in artificially inseminated dairy goats. **Animal Reproduction**

Science, v. 221, e106571, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2020.106571>

DIAS, J. H.; VERGANI, G. B.; LIMA, M. S. D.; TEIXEIRA, D. I. A.; SILVA, K. de M.; MONTEIRO, A. W. U.; BATISTA, R. I. T. P.; OLIVEIRA, M. E. F.; SOUZA-FABJAN, J. M. G.; FONSECA, J. F. da. In vivo embryo production in Brazilian naturalized goats. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 43, n. 2, p. 504, abr./jun. 2019. Edição dos resumos do XXIII Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, Gramado, RS, Brasil, 15 a 17 de maio 2019.

FIGUEIRA, L. M.; ALVES, N. G.; MAIA, A. L. R. e S.; SOUZA-FABJAN, J. M. G.; BATISTA, R. I. T. P.; ARRAIS, A. M.; LIMA, R. R.; OLIVEIRA, M. E. F.; FONSECA, J. F. da. In vivo embryo production and recovery in Lacaune ewes after imposing a superovulation treatment regimen is related to pFSH dose. **Animal Reproduction Science**, v. 223, e106625, Dec. 2020a. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2020.106625>

FIGUEIRA, L. M.; ALVES, N. G.; MAIA, A. L. R. e S.; SOUZA-FABJAN, J. M. de; BATISTA, R. I. T. P.; MORAIS, M. C. da C.; LIMA, R. R. de; OLIVEIRA, M. E. F.; FONSECA, J. F. da. Embryo yield and quality are associated with progesterone treatment during superovulation protocol in lactating Lacaune ewes. **Theriogenology**, v. 155, p. 132-138, Oct. 2020b. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.06.004>

FIGUEIRA, L. M.; ALVES, N. G.; SOUZA-FABJAN, J. M. G.; OLIVEIRA, M. E. F.; LIMA, R. R.; SOUZA, G. N. de; FONSECA, J. F. da. Preovulatory follicular dynamics, ovulatory response and embryo yield in Lacaune ewes subjected to synchronous estrus induction protocols and non-surgical embryo recovery. **Theriogenology**, v. 145, p. 238-246, Mar. 2020c. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.11.004>

FONSECA, J. F. da. **Inseminação artificial transcervical em tempo flexível (IATFx) em cabras leiteiras**. Sobral: Embrapa Caprinos e Ovinos, 2020. (Embrapa Caprinos e Ovinos. Circular Técnica, 49). (No prelo).

FONSECA, J. F. da; DIAS, J. H.; VERGANI, G. B.; LIMA, M. S. D.; TEIXEIRA, D. I. A.; SILVA, K. de M.; MONTEIRO, A. W. U.; OLIVEIRA, M. E. F.; SOUZA-FABJAN, J. M. G.; BATISTA, R. I. T. P. Embryo production and recovery in naturalized Brazilian ewes. **Animal Reproduction**, v.

16, n. 3, p. 603, Jul./Sept. 2019. Proceedings of the 33rd Annual Meeting of the Brazilian Embryo Technology Society (SBTE); Ilha de Comandatuba, BA, Brazil, August 15th to 19th, 2019. Abstracts.

FONSECA, J. F. da; ZAMBRINI, F. N.; ALVIM, G. P.; PEIXOTO, M. G. C. D.; VERNEQUE, R. da S.; VIANA, J. H. M. Embryo production and recovery in goats by non-surgical transcervical technique. **Small Ruminant Research**, v. 111, n. 1/3, p. 96-99, Apr. 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2012.08.007>

MACIELA, G. S.; RODRIGUEZA, M. G. K.; SANTOS, V. J. C.; RAMIREZ USCATEGUI, R. A.; NOCITI, R. P.; MARONEZI, M. C.; OLIVEIRA, C. S.; FELICIANO, M. A. R.; VICENTE, W. R. R.; FONSECA, J. F. da; OLIVEIRA, M. E. F. Follicular dynamics and in vivo embryo production in Santa Inês ewes treated with smaller doses of pFSH. **Animal Reproduction Science**, v. 209, article 106137, Oct. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2019.106137>

MAIA, A. L. R. S.; ARRAIS, A. M.; PRELLWITZ, L.; BATISTA, R. I. T. P.; FIGUEIRA, L. M.; CORREIA, L. F. L.; FONSECA, J. F. da; SOUZA-FABJAN, J. M. G. Embryo development is impaired in goats that are treated for hydrometra and subsequently subjected to superovulation. **Veterinary Record**, Aug. 2020.

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:

Embrapa Caprinos e Ovinos

Fazenda Três Lagoas
Estrada Sobral/ Groaíras, Km 4
Caixa Postal: 71
CEP: 62010-970, Sobral, CE
Fone: (88) 3112-7400
www.embrapa.br
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

1ª edição
On-line (2020)



MINISTÉRIO DA
AGRICULTURA, PECUÁRIA
E ABASTECIMENTO



Comitê Local de Publicações da Embrapa Caprinos e Ovinos

Presidente

Cícero Cartaxo de Lucena

Secretário-Executivo

Alexandre César Silva Marinho

Membros

Alexandre Weick Uchoa Monteiro,

Carlos José Mendes Vasconcelos, Fábio

Mendonça Diniz, Maira Vergne Dias, Manoel

Everardo Pereira Mendes, Marcos André

Cordeiro Lopes, Tânia Maria Chaves Campêlo,

Zenildo Ferreira Holanda Filho

Supervisão editorial

Alexandre César Silva Marinho

Revisão de texto

Carlos José Mendes Vasconcelos

Normalização bibliográfica

Tânia Maria Chaves Campêlo

Projeto gráfico da coleção

Carlos Eduardo Felice Barbeiro

Editoração eletrônica

Maira Vergne Dias

Foto da capa

Jeferson Ferreira da Fonseca