

Estabelecimento de um Protocolo de Sincronização da Ovulação para Transferência de Embriões em Tempo Fixo para o Programa de Melhoramento Genético de Gado Leiteiro no Estado do Acre

Introdução

O rebanho leiteiro do Acre é composto de animais de baixo padrão genético com índices produtivos diários em torno de 3 kg a 5 kg de leite por vaca, sendo alimentado exclusivamente a pasto. A genética inferior do rebanho e a baixa produtividade impedem que a pecuária leiteira acreana se destaque no cenário nacional. Grande parte do leite produzido no estado é oriunda de pequenas propriedades leiteiras. Para que esse segmento da pecuária tenha um bom desempenho, faz-se necessário adotar biotécnicas reprodutivas, visando introduzir espécies adaptadas aos trópicos, com a finalidade de formar a médio prazo um rebanho de leite de bom padrão genético.

Entre as principais biotécnicas, a inseminação artificial (IA) e a transferência de embriões (TE) podem ser aplicadas nos rebanhos de leite. A primeira é um processo de menor custo, possível de ser utilizada de forma associativa, ou seja, por meio de cooperativas, podendo atender um maior número de pequenos produtores, além de apresentar resultados mais consistentes. A segunda tem como vantagem a multiplicação rápida de genes de fêmeas altamente produtivas, mas depende de um maior volume de recursos financeiros e os resultados são inferiores em relação à IA.

ATE consiste em obter embriões de uma fêmea doadora e transferi-los para fêmeas receptoras, com a finalidade de completar o período de gestação. Sua importância básica para a produção animal está na possibilidade de uma fêmea produzir um número de descendentes muito superior ao que seria possível fisiologicamente, durante sua via reprodutiva (REICHENBACH et al., 2002).

Segundo Andrade et al. (2002), a TE oferece uma série de vantagens para a seleção zootécnica com reflexos sobre a produção animal, tais como: seleção de mães de touros para a inseminação, aumento do número de descendentes de animais superiores geneticamente, redução do intervalo de gerações e aumento da velocidade do melhoramento.

Para introduzir a transferência de embriões, é necessário desenvolver uma logística, como instalação de laboratório de apoio, aquisição de matrizes doadoras de embriões, boas receptoras e técnicos especializados. Para se consolidar na região Norte, é importante que a técnica de TE tenha tempo e consistência de aplicação nos rebanhos do estado e demonstre resultados em vários sistemas de produção, pois assim o criador poderá entender os resultados baixos que apresenta quando aplicada nos rebanhos.

65

Circular
Técnica

Rio Branco, AC
Dezembro, 2012

Autores

Rodolfo Satrapa
Méd.-veterinário, Funtac

**Jefferson Viana
Alves Diniz**
Méd.-veterinário, Seap

Francisco Lopes Dantas
Méd.-veterinário, Seap

Rosano Ramos Marcelino
Biólogo, Seap

Neilton Lima Vasconcelos
Méd.-veterinário,
Secretaria de Saúde

Marcos Nereu Luckner
Méd.-veterinário, Seap

João Esteves Neto
Méd.-veterinário, Seap

**José Marques
Carneiro Júnior**
Zootecnista,
Embrapa Acre

Rafael Augusto Satrapa
Méd.-veterinário, Unesp

**Francisco Aloísio
Cavalcante**
Méd.-veterinário,
Embrapa Acre

ATE é uma biotécnica mundialmente difundida, com mais de 500 mil embriões bovinos sendo produzidos e transferidos a cada ano (HASLER, 2003). Essa técnica, disseminada no Brasil somente a partir da década de 1980, permite ganhos genéticos em grande escala nos programas de melhoramento animal, fazendo com que a seleção seja mais rápida e precisa, diminuindo o intervalo de geração pela obtenção de várias crias de doadoras de mérito confirmado (vacas) ou previsível (novilhas) (COSTA; SILVA, 2004).

Segundo Bó et al. (2002), apesar das vantagens, a TE ainda tem limitações que restringem consideravelmente a sua difusão, tais como a variabilidade na resposta aos tratamentos hormonais e os esforços necessários para realizá-los. Além disso, a seleção e o manejo adequado das receptoras de embriões são imprescindíveis para o sucesso dos programas de TE, uma vez que a mortalidade embrionária após a transferência é ainda expressiva e limita sobremaneira a eficiência dessa técnica.

A taxa de gestação das receptoras também restringe a difusão dessa tecnologia. Após a transferência de embriões classificados como morfológicamente viáveis, esse índice situa-se em torno de 55%, o que representa uma elevação no custo unitário de cada produto, impactando negativamente a atividade e influenciando de forma desfavorável o produtor no momento de decidir adotar essa técnica (FERNANDES, 1999).

Mesmo com limitações, o Brasil já ocupa o 2º lugar em aplicação da técnica, pois segundo Viana e Camargo (2007), cerca de 70 mil embriões bovinos foram transferidos em 2002, quantidade inferior apenas aos 176 mil embriões transferidos nos Estados Unidos da América (THIBIER, 2001). No período de 5 anos, ocorreu um crescimento de mais de 160% no número de embriões implantados no rebanho bovino do País, sendo cerca de 100 mil em 2002 (MARQUES et al., 2008) e 266.549 em 2006 (VIANA; CAMARGO, 2007).

No ano de 2007, o governo do Estado do Acre incluiu ações de incremento a médio prazo para atender ao segmento da pecuária leiteira. Uma dessas ações foi desenvolver um projeto em parceria com a Embrapa, para implantar no campo

experimental da Embrapa Acre um laboratório de transferência de embriões, denominado de Estação de Melhoramento e Difusão de Genética Animal (Emdga), com recursos financeiros do Banco Interamericano de Desenvolvimento (BID). Esse laboratório tem como objetivo principal a produção de embriões de raças leiteiras para serem transferidos a receptoras dos rebanhos dos pequenos produtores.

O projeto foi instalado e, inicialmente, alguns fatores contribuíram para que seu desenvolvimento ocorresse de forma lenta, como: longa distância das propriedades, dificuldade nos deslocamentos por deficiência de estradas, dificuldades de receptoras aptas a receberem embriões, baixos índices de gestação e falta de comprometimento de alguns produtores com as ações acertadas com os técnicos.

Fatores adversos, como falta de infraestrutura nas propriedades (currais cobertos, tronco de contenção, energia elétrica), manejo inadequado (pastagens, mineralização dos animais e sanidade), poucos técnicos aptos na avaliação, produção e transferência, falta de resposta aos protocolos de superovulação em algumas doadoras, dificuldade nas coletas e falta de receptoras aptas, colaboraram para os baixos resultados de prenhez.

Esses fatores contribuíram decisivamente para que os resultados não chegassem próximo à média de alguns programas comerciais no Brasil, pois segundo Bó et al. (2002), quando se selecionam matrizes como receptoras tratadas com protocolos tradicionais (uso de prostaglandinas associado à detecção de estro), somente 40% a 50% do total dos animais são aproveitados, obtendo-se 20% a 25% de gestações ao final do tratamento.

Inicialmente, tentando diminuir um dos fatores (número de visitas às propriedades), no período de 2009 a 2010, técnicos da Emdga, sob a coordenação e orientação do médico-veterinário prof. dr. Rodolfo Satrapa, testaram um protocolo hormonal em que se utilizavam somente três visitas às propriedades em vez de quatro. Esse protocolo, aplicado no processo de sincronização de receptoras para transferência de embriões em tempo fixo (TETF), demonstra que as taxas de aproveitamento são maiores do que nas receptoras

tratadas com uma ou duas administrações de PGF2 e posterior detecção de cio normal, sem TE (BARUSELLI et al., 2000a, 2000b, 2001; BÓ et al., 2002; TRIBULO et al., 2000).

Esta publicação apresenta os resultados do protocolo hormonal nas sincronizações de ovulações para transferência de embriões em tempo fixo (TETF), aplicado em alguns rebanhos leiteiros do Estado do Acre, componentes do programa de transferência de embriões da Emdga no Estado do Acre.

Metodologia

O trabalho foi realizado no período de 20 meses (1º de fevereiro de 2009 a 31 de outubro de 2010), com o objetivo de aplicar em rebanhos leiteiros de 30 propriedades um protocolo hormonal com a finalidade

de sincronizar receptoras para receberem embriões frescos em tempo fixo. A aplicação foi realizada com visitas a duas propriedades por semana nos municípios de Rio Branco, Plácido de Castro, Senador Guiomard, Porto Acre, Acrelândia e Xapuri. Foram avaliadas 525 matrizes da espécie (*Bos taurus taurus* x *Bos taurus indicus*), entre 30 e 90 dias de paridas, com 3 a 6 anos de idade, pertencentes aos 30 rebanhos (Tabela 1).

Foram realizados exames de brucelose e tuberculose em todas as receptoras avaliadas, além de utilizados dois processos na seleção das matrizes para compor o protocolo.

O primeiro processo, pela visualização corporal, selecionando-se matrizes com escore de condição corporal (ECC) maior do que 3, sendo o restante delas descartado.

Tabela 1. Propriedades, matrizes avaliadas e características zootécnica e reprodutiva dos rebanhos analisados.

Propriedades	Matrizes	Grau de sangue	Idade (ano)	Condição reprodutiva (tempo de parição)
30	525	<i>Bos taurus</i> x <i>Bos indicus</i>	3 a 6	30 a 90 dias

Como o ECC é referência para selecionar matrizes de rebanhos leiteiros, quando se vai trabalhar com sincronização de cio e ovulação, é importante esclarecer alguns pontos.

O ECC é uma ferramenta aplicada no rebanho para corrigir a nutrição, associada às práticas de manejo, com a finalidade de incrementar o potencial produtivo e diminuir os problemas reprodutivos.

O método de avaliação corporal utilizado foi o da Scottish Agricultural College (1976), que preconiza para gado de leite uma escala de 0 a 5 pontos, estimada de maneira subjetiva, ou seja, vacas muito magras recebem escore 0 (Figura 1) e, vacas obesas (Figura 2), escore 5. No processo de avaliação, observa-se no corpo do animal a cobertura de gordura na região das vértebras e nas tuberosidades dos ossos (íleo e ísquio) e a inserção da cauda (Figura 1). Conforme essas regiões estejam mais salientes, sem cobertura e menos

protegidas de gordura, aplica-se a regra de vacas magras (Figura 1) e, quando estão mais protegidas, a de vacas gordas (Figura 2).

O segundo processo foi pelas avaliações efetuadas nos dias 16 e 30, após a transferência dos embriões, utilizando a apalpação retal e ultrassonografia, com o aparelho de ultrassom Aloka SSD 500, Japan.

Todo o processo de separação dos animais e aplicação do protocolo foi realizado em cinco visitas às propriedades, descritas assim: avaliação das matrizes; D0 (dia zero), dia aleatório para início do protocolo; D8 (dia 8); D16 (dia 16) e D46 (dia 46), 30 dias após as transferências. O protocolo foi diferenciado do "ovsynch", no qual a terceira aplicação hormonal é no D9 (dia 9) com GnRH. No protocolo testado, não existe aplicação no D9 e sim no D8, mas, em vez de ser aplicado GnRH, foi utilizado Benzoato de estradiol, com a finalidade

de diminuir o número de visitas às propriedades e, conseqüentemente, o custo de deslocamento.

Com relação ao protocolo, na avaliação inicial, foram selecionadas 328 matrizes com ECC maior do que 3. Após a seleção, o protocolo foi iniciado em cinco períodos: no D0 (dia aleatório do ciclo estral das vacas), cada uma das 328 matrizes recebeu 1 g de P4, por meio de aplicação de um dispositivo intravaginal de liberação de P4 (Sincrogest), e 2,5 mg de Benzoato de estradiol (Ric-Be), por via intramuscular; no D8, foi retirado o implante de P4 e aplicados por via intramuscular 150 mg de D-Cloprostenol, 400 UI de eCG e

1 mg de Benzoato de estradiol; no D16, foi feita ultrassonografia nas vacas para diagnosticar quais matrizes apresentavam corpo luteum maior do que 18 mm.

Após o exame, as matrizes com corpo luteum maior do que 18 mm recebiam 1 embrião fresco (mórula ou blastocisto, grau 1 ou 2) (Tabela 2). Trinta dias após as transferências, foram realizados diagnósticos de gestação por meio de ultrassom Aloka SSD 500, Japan. Os dados foram apresentados, utilizando análises estatísticas descritivas, em forma de percentuais.

Tabela 2. Protocolo hormonal utilizado para transferência de embriões e ações realizadas nas matrizes nos dias determinados em rebanhos leiteiros do Estado do Acre.

Dia 0		Dia 8		Dia 16	
Ações realizadas nas matrizes		Ações realizadas nas matrizes		Ações realizadas nas matrizes	
Nº	VA	Nº	VA	Nº	VA
Duas		Quatro		Três	
Aplicar 1 g de P4	VIV	Retirar P4	Retirar dispositivo P4 da vagina	US nas vacas	VR
Aplicar 2,5 mg de BE	VIM	Aplicar 150 mg de D-Cloprostenol	VIM	Determinar nº de vacas com CL > 18 mm	VR
		Aplicar 400 UI de eCG		Inocular nas vacas 1 embrião fresco (mórula ou blastocisto, grau 1 ou 2)	VU
		Aplicar 1 mg de BE			

VA: via de aplicação; VIV: via intravaginal; VIM: via intramuscular; VR: via retal; VU: via uterina; D-Cloprostenol/Baker: Tecnofarm; P4/Sincrogest-Ouro fino; BE/Ric-Be-Bayer; eCG/Novormon-Intervet Shering Plough.

Resultados

Das 525 matrizes analisadas, 197 (37,5%) foram descartadas por apresentarem ECC < 3 e 328 (62,5%) apresentaram ECC > 3 (Tabela 3, Figuras 3 e 4).

As 328 (62,5%) receberam no dia zero a aplicação hormonal (implante intravaginal de P4 e 2,5 mg de Benzoato de estradiol (VIM)); no dia 8 foi retirado o implante de P4, aplicados 10 mg de D-Cloprostenol (VIM) + 400 UI de ECG (VIM) + 1 mg de Benzoato de estradiol (VIM); no dia 16 foi feita a ultrassonografia (Tabela 2).

Os resultados das quatro ações (separação de matrizes, aplicações hormonais no dia zero e dia oito, avaliação ultrassonográfica no dia 16) foram: 235 (71,6%) matrizes com corpo luteum maior do que 18 mm e 93 (28,4%) com corpo luteum menor do que 15 mm (Tabela 4), sendo essas últimas descartadas. Foram constatadas reduzidas massas de corpo luteum e vaginite, respectivamente, em 93 (28,4%), 45 (48,45%), 32 (34,4%) e 16 (17,2%) das matrizes descartadas.

Trinta dias após a transferência, retornou-se às propriedades para realizar diagnóstico de gestação nas 235 (71,7%) receptoras, sendo 32 (15,3%) detectadas com gestação positiva e 203 (71,7%) diagnosticadas como vazias (Tabela 4).

Tabela 3. Resultado da avaliação do escore de condição corporal (ECC) de matrizes para serem utilizadas no programa de transferência de embriões em tempo fixo (TETF) em rebanho de leite no Estado do Acre.

Matrizes	Avaliação da condição corporal			
	ECC < 3 (escala de 0 a 5)		ECC > 3 (escala de 0 a 5)	
	Nº de animais	%	Nº de animais	%
525	197	37,5	328	62,5

Tabela 4. Resultado do escore de condição corporal e ultrassonografias realizados no dia 16 e 30 dias após as transferências nas 398 matrizes leiteiras que receberam o protocolo hormonal visando à sincronização de ovulações para transferência de embriões em rebanhos leiteiros do Estado do Acre.

Dia 16					30 dias após as transferências				
Total de receptoras avaliadas					Total de receptoras que receberam embriões frescos				
328					235				
Matrizes selecionadas			Matrizes descartadas		Diagnóstico de gestação				
Nº	Motivo	%	Nº	%	Motivo	Positivo	%	Negativo	%
235	CL > 18 mm	71,6	93	28,4	ECC < 3	32	15,3	203	71,7
Outros motivos									
		Reduzida massa CL	Diâmetro CL < 15 mm	Vaginite					
		Nº	%	Nº	%				
		45	48,4	32	34,4	16	17,2		

Considerações

É compreensível o baixo índice de animais gestantes encontrado neste trabalho, proveniente da aplicação de uma tecnologia sofisticada que depende de muitos fatores para alcançar resultados satisfatórios na região. Melhores índices poderão ser alcançados se forem considerados os seguintes aspectos:

- Pela alta rejeição observada, é necessário maior rigor na seleção das receptoras, as quais não podem ser lactantes e devem apresentar bom ECC.
- Em programas dessa natureza as ações no rebanho devem se concentrar na estação das chuvas, por oferecer melhor condição de pastagem e facilitar a seleção de receptoras com condições corporais melhores do que 3.
- O programa só deve ser desenvolvido em rebanhos que apresentem um bom controle zootécnico, para que se possam identificar animais com boa sanidade e sem problemas reprodutivos.

Além disso, a propriedade deve apresentar uma boa infraestrutura para o desenvolvimento da técnica.

- Pela dificuldade de se encontrar receptoras aptas para o uso na transferência de embriões, é extremamente importante a construção de núcleos de receptoras no estado para atender a um programa dessa natureza.
- O mais importante para o sucesso do programa de transferência de embriões é o produtor ter compromisso com a execução da técnica aplicada em seu rebanho, além de entender o baixo índice de gestação de matrizes devido à alta rejeição de embriões encontrada na técnica.
- As dificuldades de logística e número reduzido de técnicos treinados para a execução da tecnologia nos rebanhos do estado precisam ser melhorados, por se tratar de uma técnica sofisticada, sendo necessário tempo de aplicação nos rebanhos, para consolidá-la no estado.

Foto: Francisco Aloisio Cavalcante

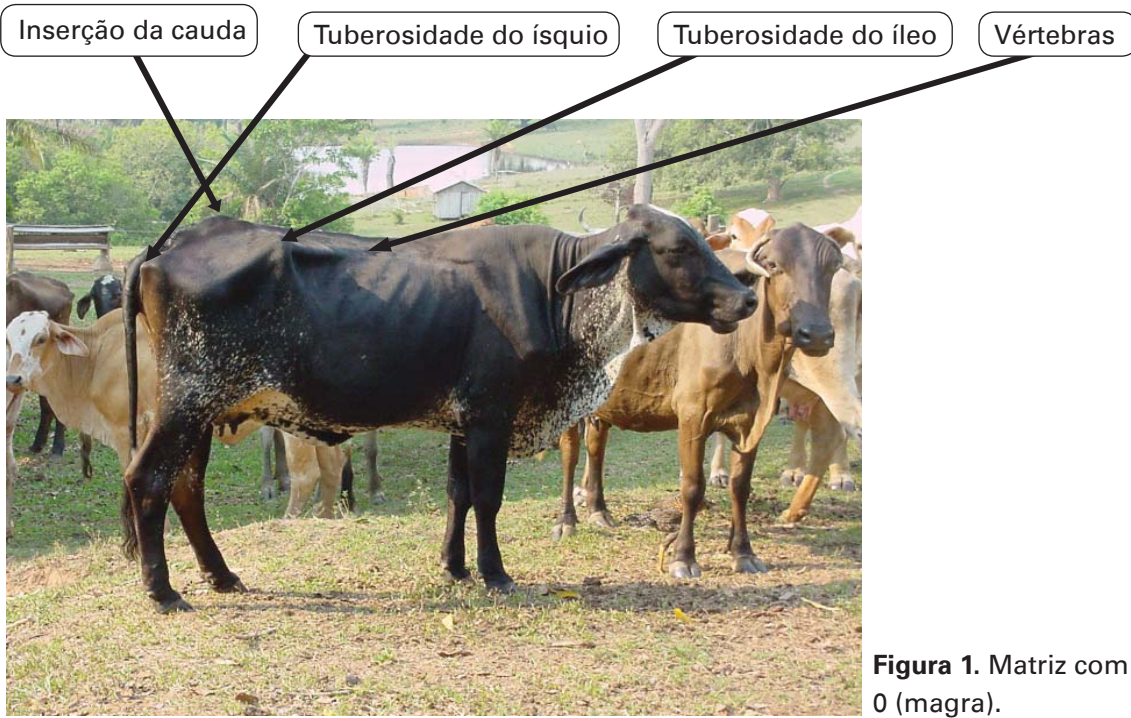


Figura 1. Matriz com condição corporal 0 (magra).

Foto: Francisco Aloisio Cavalcante



Figura 2. Matriz com condição corporal obesa (escore 5).

Foto: Francisco Aloisio Cavalcante



Figura 3. Matriz com condição corporal < 3.

Foto: Francisco Aloisio Cavalcante



Figura 4. Matriz com condição corporal > 3.

Agradecimentos

Ao CNPq e à Fundação Tecnológica do Estado do Acre (Funtac) pelo fornecimento de recursos financeiros para a execução do trabalho.

Referências

ANDRADE, J. C. O.; OLIVEIRA, M. A. L.; LIMA, P. F.; SANTOS FILHO, A. S.; PINA, V. M. R. Use steroid hormone treatments prior to superovulations in Nelore donors. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 69, n. 1-2, p. 9-14, Jan. 2002.

BARUSELLI, P. S.; MARQUES, M. O.; CARVALHO, N. A. T.; VALENTIM, R.; BERBER, R. C. A.; CARVALHO FILHO, A. F.; MADUREIRA, E. H.; COSTA NETO, W. P. Aumento da taxa de prenhez em receptoras de embrião bovino pela utilização do protocolo "ovsynch" com inovulação em tempo fixo. **Arquivos da Faculdade de Veterinária UFRGS**, Porto Alegre, v. 28, n. 1, p. 216, 2000a. Suplemento.

BARUSELLI, P. S.; MARQUES, M. O.; MADUREIRA, E. H.; BÓ, G. A.; COSTA NETO, W. P.; GRANDINETTI, R. R. Superestimulação ovariana de receptoras de embriões bovinos visando o aumento de corpos lúteos, concentração de P4 e taxa de prenhez. **Arquivos da Faculdade de Veterinária UFRGS**, Porto Alegre, v. 28, n. 1, p. 218, 2000b. Suplemento.

BARUSELLI, P. S.; MARQUES, M. O.; MADUREIRA, E. H.; COSTA NETO, W. P.; GRANDINETTI, R. R.; BÓ, G. A. Increased pregnancy rates in embryo recipients treated with CIDR-B devices. **Theriogenology**, Stoneham, v. 55, n. 1, p. 355, Jan. 2001.

BÓ, G. A.; BARUSELLI, P. S.; MORENO, D.; CUTAIA, L.; CACCIAL, M.; TRIBUTTO, R.; TRIBUTTO, H.; MALPLETOFT, R. J. The control of follicular wave development for self-pointer embryo transfer programs in cattle. **Theriogenology**, Stoneham, v. 57, n. 1, p. 53-72, Jan. 2002.

COSTA, P. A.; SILVA, F. M. Segurança sanitária em transferência de embriões: revisão bibliográfica. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 28, n. 5, p. 253-258, 2004.

FERNANDES, C. A. C. Inovulações não cirúrgicas e taxa de gestações de receptoras de embrião. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 51, n. 3, p. 263-266, jun. 1999.

HASLER, J. F. The current status and future of commercial embryo transfer in cattle. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 79, n. 3-4, p. 245-264, Dec. 2003.

MARQUES, M. O.; BARREIROS, T. R. R.; MAX, M. C.; SILVA, K. C. F.; GOMES, R. G.; SENEDA, M. M. IATF: desafios e soluções para maximizar a eficiência da técnica. **Acta Scientiae Veterinariae**, Porto Alegre, v. 36, p. s155-s160, 2008. Suplemento 2.

REICHENBACH, H. D.; OLIVEIRA, M. A. L. de; LIMA, P. F. de; SANTOS FILHO, A. S. dos; ANDRADE, J. C. O. Transferência e criopreservação de embriões bovinos. In: GONÇALVES, P. B. D.; FIGUEREDO, J. R.; FREITAS, V. J. F. **Biotécnicas aplicadas à reprodução animal**. São Paulo: Varela, 2002. p. 127-177.

SCOTTISH AGRICULTURAL COLLEGE. **Conditions scoring in dairy cows**. [Edinburgh], 1976. 4 p. (Advisory leaflet, 100).

THIBIER, M. The animal embryo transfer industry in figures: a report from the IETS data retrieval committee. **Embryo Transfer Newsletter**, Champaign, v. 19, n. 4, p. 16-22, Dec. 2001.

TRIBULO, H.; BÓ, G. A.; GATTI, G.; TEGLI, J. C.; CUTAIA, L.; MORENO, D.; TRIBULO, R. Pregnancy rates in embryo recipients treated with estradiol benzoate and CIDR-B vaginal devices to eliminate the need for estrus detection. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON ANIMAL REPRODUCTION, 14., 2000, Stockholm. **Anais...** Stockholm: ICAR, 2000. v. 2, p. 115.

VIANA, J. H. N.; CAMARGO, L. S. A. A produção de embriões bovinos no Brasil: uma nova realidade. **Acta Scientiae Veterinariae**, Porto Alegre, v. 35, p. s915-s924, 2007. Suplemento 3.

Circular Técnica, 65

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na: **Embrapa Acre**

Endereço: Rodovia BR 364, km 14, sentido Rio Branco/Porto Velho, Caixa Postal 321, Rio Branco, AC, CEP 69900-056

Fone: (68) 3212-3200

Fax: (68) 3212-3284

<http://www.cpfac.embrapa.br>

sac@cpafac.embrapa.br

1ª edição

1ª impressão (2012): 200 exemplares

Ministério da
Agricultura, Pecuária
e Abastecimento



Comitê de publicações

Presidente: Ernestino de Souza Gomes Guarino

Secretária-Executiva: Cláudia Carvalho Sena

Membros: Clarissa Reschke da Cunha, Henrique José Borges de Araujo, José Tadeu de Souza Marinho, Maria de Jesus Barbosa Cavalcante, Maykel Franklin Lima Sales, Moacir Haverroth, Rodrigo Souza Santos, Romeu de Carvalho Andrade Neto, Tatiana de Campos

Expediente

Supervisão editorial: Cláudia C. Sena/Suely M. Melo

Revisão de texto: Cláudia C. Sena/Suely M. Melo

Normalização bibliográfica: Graciela Olivella Oliveira

Tratamento das fotos: Bruno Imbroisi

Editoração eletrônica: Bruno Imbroisi