



XII CONGRESSO INTERNACIONAL DO LEITE
XII Workshop de Políticas Públicas
XIII Simpósio de Sustentabilidade da Atividade Leiteira

Efeito da raça e da estação do ano sobre a produção *in vitro* de embriões bovinos na região da Zona da Mata, MG¹

Michele Cristiny Lempk Bolpato², Eliza Diniz de Souza³, João Gabriel Viana de Grázia⁴, Carolina Marinho de Assunção⁵, João Henrique Moreira Viana⁶, Luiz Sérgio de Almeida Camargo⁶

¹ Parte da monografia de conclusão de curso do primeiro autor

² Aluna de graduação do CES/JF e bolsista de iniciação científica-CNPq, Juiz de Fora/MG. Email:michelecrystiny_jf@hotmail.com

³ Doutoranda, UFES/RENORBIO, Vitória/ES

⁴ Mestrando, UFJF, Juiz de Fora, MG

⁵ Farmacêutica, Ativa Embriões, Juiz de Fora/MG

⁶ Pesquisador, EMBRAPA Gado de Leite, Juiz de Fora, MG

Resumo: Esse estudo teve como objetivo determinar o efeito da raça da doadora de oócitos (Gir, Holandês e Girolando) e da estação do ano sobre a produção *in vitro* de embriões bovinos no período entre os anos de 2011 e 2012 na região da Zona da Mata, MG. Os dados foram obtidos de central comercial de PIVE bovinos em Juiz de Fora, MG. Os oócitos recuperados por OPU foram agrupados por doadora e maturados e fecundados *in vitro* e os zigotos foram co-cultivados com células da granulosa. Com 72h pós-fecundação avaliou-se a taxa de clivagem e com 168h, a taxa de blastocisto. Não houve interação ($P>0,05$) entre estação de ano e raça da doadora nas variáveis avaliadas. A média de oócitos/doadora, taxa de blastocisto e média de blastocistos/doadora foram menores na raça Holandesa ($P<0,05$) do que nas raças Gir e Girolando. No verão a taxa de clivagem foi menor que no outono ($P<0,01$) e similar à primavera e inverno ($P>0,05$), mas não houve efeito significativo da estação do ano sobre a taxa de blastocistos e média de blastocistos/doadora. Conclui-se que oócitos das doadoras da raça Holandesa mantidas na Zona da Mata de Minas Gerais estão menos competentes a desenvolver a blastocistos do que os das raças Gir e Girolando, independente da estação do ano.

Palavras-chave: blastocistos, *Bos indicus*, *Bos taurus*, fecundação *in vitro*, oócitos

Effect of breed and season on bovine *in vitro* embryo production in the Zona da Mata region, MG

Abstract: This study aimed to evaluate the effect of breed (Gyr, Holstein and Girolando) and season on bovine *in vitro* embryo production during the period between 2011 and 2012 in the Zona da Mata region, MG. Data were obtained from a commercial company of bovine *in vitro* production located in Juiz de Fora, MG. The oocytes were aspirated by OPU and *in vitro* matured and fertilized. Presumptive zygotes were co-cultured with granulosa cells. Cleavage rate was evaluated at 72 h post-fertilization (hpf) and blastocyst rate at 168hpf. There was no interaction ($P>0.05$) between season and donor breed for the variables evaluated. The number of oocytes/donor, blastocyst rate and blastocyst/donor were lower ($P<0.05$) for Holstein donors than for Gyr and Girolando ones. Cleavage rate was lower during the summer than the autumn ($P<0.01$), and similar to spring and winter ($P>0.05$), but there was no significant effect of season on blastocyst rate and number of blastocyst/donor. In conclusion, oocytes from Holstein donors kept in the Zona da Mata are less competent to develop to blastocysts than Gir and Girolando, regardless of season.

Keywords: blastocysts, *Bos indicus*, *Bos taurus*, *in vitro* fertilization, oocytes



XII CONGRESSO INTERNACIONAL DO LEITE

XII Workshop de Políticas Públicas
XIII Simpósio de Sustentabilidade da Atividade Leiteira

Introdução

O Brasil é um país predominantemente de clima tropical com temperatura média máxima anual acima de 27°C na maior parte dos estados (IPEF, 2012), acima da zona de conforto térmico de bovinos que varia de 4 a 25°C dependendo da raça (revisado por West, 2003), sujeitando os animais a um estresse térmico e perdas produtivas e reprodutivas. A região da Zona da Mata de Minas Gerais, localizada em um clima tropical úmido, possui atividade tradicional de produção de leite e vem adotando produção *in vitro* de embriões (PIVE) para a melhoria do rebanho Gir, Holandês e Girolando, utilizando-se de laboratórios comerciais para atender os produtores. Nesse contexto, a identificação da capacidade dos oócitos das doadoras dessas raças em gerar embriões após a fecundação *in vitro* nas condições climáticas é importante para se estabelecer uma estratégia de produção de embriões na região.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar as variações da produção de embriões *in vitro*, em estabelecimento comercial localizado na Zona da Mata, cidade de Juiz de Fora, Minas Gerais, considerando os efeitos da raça da doadora de oócito e da estação de ano.

Material e Métodos

Os dados foram coletados do laboratório comercial Ativa Embriões, Juiz de Fora, região da Zona da Mata, MG, no período de outubro de 2011 a setembro de 2012. Os oócitos foram coletados de doadoras das raças Gir, Holandês e Girolando mantidas em propriedades particulares localizadas principalmente na Zona da Mata, MG. Os complexos *cumulus*-oócitos (CCOs) foram aspirados com auxílio de ultrassom, selecionados e transportados à temperatura de 37°C para o laboratório. A maturação *in vitro* foi realizada em meio de cultivo acrescido de 10% de SFB em incubadora a 38,8 °C, com 5% CO₂ em ar atmosférico e 95% de umidade, por 24 horas. A fecundação dos oócitos foi com 2x10⁶ espermatozoides/mL por período de 18 a 22 horas, nas mesmas condições atmosféricas da maturação. Após a fecundação, os presumíveis zigotos foram co-cultivados com células da granulosa em meio de cultivo contendo 2,5% SFB em incubadora com 5% CO₂ em ar atmosférico e 95% de umidade. A clivagem foi avaliada com 72 h pós fertilização (hpf) e a produção de blastocistos com 168hpf.

Os dados de produção de oócitos/vaca e de blastocistos/vaca, taxa de clivagem e de blastocistos foram comparados por análise de variância pelo procedimento Generalized Linear Model (GLM) do SAS v 9.1 e as médias comparadas pelo teste de *Student Newman Keuls*, considerando-se efeito da raça da doadora, da estação de ano e as interações entre eles.

Resultados e Discussão

Não houve interação (P>0,05) entre raça da doadora e estação de ano nas variáveis estudadas. Considerando a análise por raça, a média das repetições para número de oócitos, taxa de blastocisto e de blastocistos/vaca foram menores (P<0,05) na raça Holandesa comparadas com as raças Gir e Girolando (Tabela 1), sugerindo que nas condições da região da Zona da Mata, oócitos de doadoras da raça Holandesa são menos competentes em desenvolver a embriões após a fecundação *in vitro*. As doadoras Girolando e Gir apresentaram resultados semelhantes entre si (P>0,05).

Tabela 1. Influência da raça da fêmea na produção *in vitro* de embriões bovinos (média±EPM).

| Raça | Rep | Oócitos/vaca (n*) | Clivagem (%) | Blastocisto (%) | Blastocisto/vaca (*n) |
|-----------|-----|-----------------------|--------------|-----------------------|-----------------------|
| Gir | 50 | 9,7±0,8 ^a | 82,0±2,9 | 48,7±3,5 ^a | 5,0±0,5 ^a |
| Holandês | 26 | 6,3±0,7 ^b | 80,7±2,7 | 34,7±3,2 ^b | 3,0±0,3 ^b |
| Girolando | 119 | 11,2±0,7 ^a | 81,4±1,3 | 43,4±1,5 ^a | 5,2±0,3 ^a |

Rep= número de repetições/ *n=valor calculado pela média das repetições/ a,b= valores entre linhas diferem (P<0,05).



XII CONGRESSO INTERNACIONAL DO LEITE

XII Workshop de Políticas Públicas
XIII Simpósio de Sustentabilidade da Atividade Leiteira

A comparação entre as estações do ano revelou uma variação na taxa de clivagem entre o verão e o outono ($P < 0,01$) com uma porcentagem menor para o verão (Tabela 2), mas não houve efeito significativo sobre número de oócitos/vaca, taxa de blastocisto e número de blastocistos/vaca, sugerindo que apesar da menor taxa de clivagem observada, os embriões que se dividiram foram aptos a se tornarem blastocistos.

Tabela 2. Influência da estação do ano na produção *in vitro* de embriões bovinos (média±EPM).

| Estação | Rep | Oócitos/vaca (n*) | Clivagem (%) | Blastocisto (%) | Blastocisto/vaca (n*) |
|-----------|-----|-------------------|------------------------|-----------------|-----------------------|
| Verão | 54 | 8,7±0,8 | 76,9±3,0 ^b | 42,9±3,0 | 4,5±0,4 |
| Outono | 57 | 10,3±0,8 | 87,3±1,2 ^a | 46,9±2,1 | 4,9±0,3 |
| Inverno | 40 | 12,0±1,7 | 81,2±2,2 ^{ab} | 37,9±2,4 | 5,4±0,8 |
| Primavera | 44 | 10,1±0,8 | 79,8±2,1 ^{ab} | 45,4±3,3 | 4,7±0,4 |

Rep= número de repetições/ *n=valor calculado pela média das repetições/ a,b= valores entre linhas diferem ($P < 0,01$).

A ausência de interação entre estação de ano e raça indica que na região da Zona da Mata o efeito da raça sobre a produção de embriões *in vitro* é independentemente da estação do ano e pode ser devido ao fato de haver vários dias com temperatura média máxima acima daquela esperada para as estações de inverno e primavera. Dados obtidos no Instituto Nacional de Meteorologia (INMET, <http://www.inmet.gov.br/portal/>) mostraram que tanto no verão e outono como no inverno e primavera na região houve no mínimo dez dias de temperaturas médias máximas diárias acima de 30°C no período em estudo. Oócitos de doadoras da raça Holandesas são mais susceptíveis a elevada temperatura do que os da raça Gir (Camargo et al., 2007) e a prevalência ao longo do ano de dias com temperatura média máxima acima do limite do conforto térmico pode levar a menor capacidade de seus oócitos em produzir embriões em todas as estações. Por outro lado, oócitos de doadoras das raças Gir e Girolando, por serem mais tolerantes ao calor, apresentam-se mais competentes ao desenvolvimento *in vitro* por todo ano.

Conclusões

Oócitos de vacas da raça Holandesa mantidas na Zona da Mata de Minas Gerais estão menos competentes a desenvolver a blastocistos do que as raças Gir e Girolando, independente da estação do ano. No verão a clivagem dos oócitos submetidos à fecundação *in vitro* é reduzida, porém, sem efeito significativo sobre a produção de blastocistos.

Agradecimentos

À Ativa Embriões pela concessão dos dados para análise. Este estudo teve apoio da FAPEMIG e CNPq.

Literatura citada

Camargo, L. S. A.; Viana, J. H. M.; Ramos, A. A. et al. Developmental competence and expression of the Hsp 70.1 gene in oocytes obtained from *Bos indicus* and *Bos taurus* dairy cows in a tropical environment. **Theriogenology**, v. 68, p. 626-632, 2007.

IPEF - Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais. Normal annual maximum temperature – year. Acessado em 01/10/2013. <http://www.ipef.br/>

West JW. Effects of heat-stress on production in dairy cattle. *J Dairy Sci.* 2003 Jun;86(6):2131-44.