

Efeito de Touro e Sexagem de Sêmen na Produção in vitro de Embriões no Acre

Antônia Kaylyanne Pinheiro¹, José Marques Carneiro Junior², Francisco Aloísio Cavalcante³, Jean Paulo Gotelip Cabral⁴ e Helton Aparecido Garcia Gregianini⁵

¹Bióloga, doutoranda em Sanidade e Produção Animal, Programa de Pós-Graduação em Sanidade e Produção Animal Sustentável na Amazônia Ocidental, Rio Branco, AC.

²Zootecnista, doutor em Genética e Melhoramento, pesquisador da Embrapa Acre, Rio Branco, AC.

³Médico-veterinário, mestre em Zootecnia, pesquisador da Embrapa Acre, Rio Branco, AC.

⁴Graduando de Medicina Veterinária pela Universidade Federal do Acre, Rio Branco, AC.

⁵Médico-veterinário, mestre em Sanidade e Produção Animal, Rio Branco, AC.

Resumo – O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de touro e tipo de sêmen na produção in vitro de embriões (Pive). Foram utilizados dados de aspiração folicular seguida de Pive de dez fazendas entre 2015 e 2018. Foram analisadas as seguintes variáveis: total de embriões clivados, total de embriões produzidos e total de gestação. Foi realizada análise estatística descritiva para obtenção de médias e desvios-padrões. Utilizou-se o método de quadrados mínimos generalizados pelo PROC GLM do SAS para análise dos efeitos fixos de touro e tipo de sêmen (sexado/convencional). Verificou-se efeito significativo de touro para todas as variáveis avaliadas ($p < 0,05$), indicando que alguns touros proporcionam melhor eficiência em relação a outros. Houve efeito significativo para tipo de sêmen em todas as variáveis avaliadas ($p < 0,05$), evidenciando melhor eficiência do sêmen convencional, com média de 20,88 embriões clivados, em relação ao sêmen sexado, com média de 13,82. Conclui-se que existe efeito individual de touro na Pive, indicando que há variabilidade genética e que alguns touros proporcionam melhor eficiência em relação a outros. Também houve efeito de tipo de sêmen, sendo o convencional mais eficiente em relação ao sêmen sexado.

Termos para indexação: bovinos de corte, Nelore, Pive.

Introdução

A utilização de biotecnologias de reprodução animal são importantes ferramentas que potencializam o avanço genético dos rebanhos e conseqüentemente geram impacto nos índices zootécnico e econômico. Dentre essas biotecnologias destaca-se a produção in vitro de embriões (Pive).

A Pive é uma biotecnologia que vem sendo altamente utilizada para aumentar a eficiência reprodutiva e promover o melhoramento genético do rebanho (Serafim et al., 2018). Uma das etapas determinantes para eficiência no processo de produção in vitro de embriões é a taxa de conversão de oócitos em embriões. Dentre os fatores determinantes do sucesso dessa etapa, a preparação e a manipulação do sêmen, necessárias no processo de sexagem, e o touro exercem influência na qualidade do sêmen e conseqüentemente na Pive.

Os touros são os maiores responsáveis pelo progresso genético devido ao intenso trabalho de seleção ao longo dos anos. Contudo, quando são submetidos à fertilização in vitro, observa-se variação individual relacionada à fertilidade do animal, com alguns touros apresentando melhores taxas de conversão de embriões em relação a outros (Simões et al., 2014).

Outro fator bastante expressivo na taxa de conversão de oócitos em embriões é o uso de sêmen sexado, por citometria de fluxo, que vem sendo bastante utilizado concomitante com a Pive, visando gerar bezerros machos ou fêmeas, de acordo com a preferência do produtor e as exigências econômicas do mercado. Estudos realizados demonstram diferenças nas taxas de embriões

produzidos entre sêmen sexado e convencional. Mesmo que o sêmen sexado possua boa fertilidade, quando submetido ao processo de classificação, é exposto a produtos químicos, resultando em danos aos espermatozoides e gerando desvantagens em relação ao sêmen convencional (Carvalho et al., 2010). Nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito individual do touro e tipo de sêmen sexado ou convencional na Pive.

Material e métodos

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso dos Animais da Universidade Federal do Acre (CEUA/Ufac nº 23107.028606/2018-54) e desenvolvido por meio de dados de produção *in vitro* de embriões fornecidos pela empresa In Vitro Acre. Os dados referem-se a sessões de OPU (ovum pick-up), em doadoras Nelore, realizadas em dez fazendas no Acre entre o período de 2015 a 2018.

Foram analisadas as seguintes variáveis: total de embriões clivados, total de embriões produzidos e total de gestação. Para a variável total de embriões clivados foi considerado o total de embriões clivados em relação aos oócitos viáveis; para a variável total de embriões foi considerado o total de embriões produzidos em relação aos embriões clivados; e para a variável total de gestação foi considerado o total de gestação em relação aos embriões produzidos.

Foi realizada análise estatística descritiva para obtenção de médias e desvios-padrões. Em seguida, utilizou-se o método de quadrados mínimos generalizados, por meio do procedimento PROC GLM do programa Statistical Analysis System (SAS Institute, 2002), com o intuito de verificar a significância dos seguintes efeitos fixos:

- a) Efeito individual do touro – avaliado em relação à produção de embriões viáveis.
- b) Tipo de sêmen – para avaliação foram considerados dois tipos de sêmen, tipo 1 (sêmen sexado) e tipo 2 (sêmen convencional).

Resultados e discussão

Na Tabela 1 estão descritos o número de touros, quantidade de aspiração folicular, média geral e respectivos desvios-padrões para as variáveis: total de embriões clivados por aspiração/vaca, total de embriões produzidos por aspiração/vaca e total de gestação por aspiração/vaca, de acordo com a produção individual do touro.

Os resultados obtidos neste trabalho indicaram que houve diferença significativa para efeito de touro em todas as variáveis avaliadas ($p < 0,05$), demonstrando que há variabilidade genética e que alguns touros proporcionam melhor eficiência em relação a outros.

Tabela 1. Número de touros, quantidade de aspiração folicular, médias (\bar{X}) e desvios-padrões (DP), para total de embriões clivados por aspiração/vaca, total de embriões produzidos por aspiração/vaca e total de gestação por aspiração/vaca, de acordo com a produção individual do touro.

Número de touros	Quantidade de aspiração folicular	Total de embriões clivados	Total de embriões produzidos	Total de gestação	PR > F
		$\bar{X} \pm DP$	$\bar{X} \pm DP$	$\bar{X} \pm DP$	
70	1.291	19,71 \pm 14,67	8,89 \pm 7,85	8,89 \pm 7,85	<0,0001*

*Diferença significativa a 5% de probabilidade.

O efeito de touro também foi encontrado por Watanabe e Oliveira Filho (2000) que, ao comparar a Pive bovinos utilizando sêmen de touros de três grupos genéticos, constataram diferença significativa entre touros e entre grupos genéticos nas taxas de clivagem. Da mesma forma, Zhang et al. (2003) demonstraram variação entre touros nas taxas de clivagem e no desenvolvimento dos embriões produzidos in vitro.

De acordo com Coelho et al. (1998), as taxas de desenvolvimento embrionário diferiram entre os reprodutores. Essas diferenças são manifestadas, tanto na capacidade fecundante como na competência de desenvolvimento do embrião. Alguns trabalhos apontam que a variação nos índices reprodutivos de diferentes touros está associada à sensibilidade dos espermatozoides produzidos, destacando a importância de seleção de touros que produzem amostras espermáticas mais resistentes para o programa de Pive (Jelonschek et al., 2018; Araujo et al., 2013).

Na Tabela 2 estão descritos o tipo de sêmen, quantidade de aspiração folicular, médias e respectivos desvios-padrões para as variáveis: total de embriões clivados por aspiração/vaca, total de embriões produzidos por aspiração/vaca e total de gestação por aspiração/vaca, de acordo com o tipo de sêmen (sexado ou convencional).

Tabela 2. Tipo de sêmen, quantidade de aspiração folicular (OPU), médias (\bar{X}) e desvios-padrões (DP) de total de embriões clivados por aspiração/vaca, total de embriões produzidos por aspiração/vaca e total de gestação por aspiração/vaca, de acordo com o tipo de sêmen.

Tipo de sêmen	Quantidade de aspiração folicular	Total de embriões clivados	Total de embriões produzidos	Total de prenhez
		$\bar{X} \pm DP$	$\bar{X} \pm DP$	$\bar{X} \pm DP$
Sexado	230	13,82 \pm 12,32	6,56 \pm 6,81	1,86 \pm 2,63
Convencional	1.054	20,88 \pm 14,79	9,35 \pm 8,38	2,95 \pm 3,72
PR > F		<0,0001*	<0,0001*	<0,0001*

*Diferença significativa a 5% de probabilidade.

É possível observar efeito significativo para tipo de sêmen em todas as variáveis avaliadas ($p < 0,05$), evidenciando melhor eficiência do sêmen convencional, com média de 20,88 embriões clivados, em relação ao sêmen sexado, com média de 13,82 embriões clivados. O uso do sêmen convencional aumentou aproximadamente 59% de produção de gestação comparado ao sêmen sexado.

A diferença entre o sêmen sexado e o convencional pode estar relacionada ao processo de sexagem, no qual os espermatozoides são expostos a estresse químico e físico, diminuindo a sua capacidade de fertilização (Araujo et al., 2013).

O efeito do tipo de sêmen também foi observado por Nascimento et al. (2015) que, ao comparar sêmen sexado e convencional, verificaram que os resultados diferiram entre os tipos de sêmen para produção de blastocisto, com taxa de 31,06% para sêmen convencional e 21,10% para sêmen sexado. Da mesma forma, Mello et al. (2016) encontraram efeito de tipo de sêmen para as taxas de clivagem e blastocistos. O sêmen convencional conduziu a melhores resultados de taxa de clivagem e blastocisto (58,89% e 76,42%), em relação ao sêmen sexado (27,50% e 23,13%).

Blondin et al. (2009), ao avaliar os parâmetros do sêmen bovino e determinar as melhores condições de fertilização in vitro (FIV) para produzir porcentagem máxima de blastocistos, verificaram diferença significativa para efeito de sêmen nas taxas de blastocistos. O sêmen convencional conduziu a maiores taxas de blastocistos (22,2%) em relação ao sêmen sexado (10,6%).

Serafim et al. (2018), ao avaliar a influência do touro doador de sêmen sexado na taxa de formação de blastocistos e resultados de concepção de embriões produzidos in vitro, verificaram que no processo de sexagem alguns touros são mais sensíveis e respondem menos que outros.

Conclusões

O presente estudo demonstrou que existe efeito individual de touro na Pive, indicando que há variabilidade genética e que alguns touros proporcionam melhor eficiência em relação a outros.

O tipo de sêmen influencia na taxa de conversão de oócitos em embriões, e o sêmen convencional apresenta melhor eficiência em relação ao sêmen sexado.

Referências

- ARAUJO, M. S.; VOLPATO, R.; LOPES, M. D. Produção de embriões bovinos in vitro com sêmen sexado. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, v. 11, n. 3, p. 8-15, 2013.
- BLONDIN, P.; BEAULIEU, M.; FOURNIER, V.; MORIN, N.; CRAWFORD, L.; MADAN, P.; KING, W. A. Analysis of bovine sexed sperm for ivf from sorting to the embryo. **Theriogenology**, v. 71, n. 1, p. 30-38, 2009.
- CARVALHO, J. O.; SARTORI, R.; MACHADO, G. M.; MOURÃO, G. B.; DODE, M. A. Quality assessment of bovine cryopreserved sperm after sexing by flow cytometry and their use in vitro embryo production. **Theriogenology**, v. 74, p. 1521-1530, 2010.
- COELHO, L. A.; ESPER, C. R.; GARCIA, J. M.; VANTINI, R.; SILVA FILHO, I. R.; ALMEIDA JUNIOR, I. L. Avaliação das condições de maturação oocitária e do efeito do reprodutor na produção in vitro de embriões bovinos. **Brazilian Journal of Veterinary Research Animal Science**, v. 35, n. 3, p. 120-122, 1998.
- JELONSCHEK, J. P.; PINTO NETO, A.; OLIVEIRA, W.; MOTA, M. F.; BECHER, B. G. Fatores que afetam a taxa de gestação de receptoras de embriões produzidos in vitro: revisão de literatura. **Scientific Electronic Archives**, v. 11, n. 6, p. 173-179, dez. 2018.
- MELLO, R. R. C.; MELLO, M. R. B.; SOUSA, S. L. G.; FERREIRA, J. E. Parâmetros da produção in vitro de embriões da raça Sindi. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 51, n. 10, p. 1773-1779, out. 2016.
- NASCIMENTO, P. S.; CHAVES, M. S.; SANTOS FILHO, A. S.; GUIDO, S. I.; GUERRA, M. M. P.; BARTOLOMEU, C. C. Produção in vitro de embriões utilizando-se sêmen sexado de touros 5/8 Girolando. **Ciência Animal Brasileira**, v. 16, n. 3, p. 358-368, 2015.
- SAS INSTITUTE. **User's guide**. Cary, NC, 2002. 525 p.
- SERAFIM, P. R.; GOMES, G. M.; GOMES, L. P. M.; BORN, J. L. B.; BORGES, M. S.; CRESPILO, A. M. Sêmen bovino sexado: a produção in vitro de embriões pode ser influenciada pelo touro doador do material genético? **Revista de Saúde**, v. 9, n. 1, p. 4-8, 2018.
- SIMÕES, R.; SIQUEIRA, A. F. P.; NICHI, M.; VISINTIN, J. A.; ASSUMPÇÃO, M. E. O. D. Qualidade da cromatina espermática e sua implicação no desenvolvimento embrionário inicial de bovinos. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, v. 12, n. 3, p. 18-35, 2014.

WATANABE, Y. F.; OLIVEIRA FILHO, E. B. Efeito de reprodutores, distribuídos em três grupos genéticos, na produção in vitro de embriões bovinos. **ARS Veterinária**, v. 16, n. 1, p. 22-27, 2000.

ZHANG, M.; LU, K. H.; SEIDEL, G. E. Development of bovine embryos after in vitro fertilization of oocytes with flow cytometrically sorted, stained and unsorted sperm from different bulls. **Theriogenology**, v. 60, p. 1657-1663, 2003.