

## EFEITO DA CONDIÇÃO CORPORAL NA ASPIRAÇÃO FOLICULAR SOBRE A EFICIÊNCIA DA PRODUÇÃO DE EMBRIÕES DE VACAS LEITEIRAS

MÁRCIO ERPEN LIMA<sup>1</sup>; CÁSSIO CASSAL BRAUNER<sup>1</sup>; FRANCISCO AUGUSTO BURKERT DEL PINO<sup>1</sup>; VIVIANE ROHRING RABASSA<sup>1</sup>; CARLOS EDUARDO GOMEZ MARTIN<sup>1</sup>; MÁRCIO NUNES CORRÊA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária (NUPEEC)  
Faculdade de Veterinária - Universidade Federal de Pelotas – UFPel  
Campus Universitário – 96010 900 – Pelotas/RS – Brasil  
nupeec@ufpel.edu.br – www.ufpel.edu.br/nupeec  
marcioelimav@gmail.com / marcio.nunescorreia@gmail.com

### 1. INTRODUÇÃO

O Brasil é responsável por mais de 60% da produção mundial de embriões *in vitro*, ocupando uma posição de destaque no cenário mundial (IETS, 2012). As principais vantagens da produção por este método em comparação a múltiplas ovulações e transferência de embriões (MOTE) *in vivo* envolvem a não necessidade de tratamentos hormonais, menor intervalo entre coletas, gerando um maior número de produtos/vaca/ano (MARTINS, 2010).

A resposta de doadoras a técnica de produção *in vitro* de embriões (PIV) está estritamente ligada ao sucesso na coleta dos oócitos, pois o número, a viabilidade e a qualidade dos gametas recuperados será o ponto crucial para possibilitar uma adequada produção de blastocistos *in vitro* (PALMA et al., 2008). Alguns fatores conhecidos que afetam a viabilidade dos oócitos são o agrupamento racial (RUBIN et al., 2005), ciclicidade, status metabólico e a sanidade da doadora. Por exemplo, sabe-se que o micro ambiente intra folicular em que os oócitos desenvolvem-se pode ter um efeito subsequente no desenvolvimento da sua competência e a probabilidade de torna-se um blastocisto *in vitro* (LEROY et al., 2008).

A avaliação da condição corporal (CC) em rebanhos bovinos tem sido largamente utilizada. De uma maneira geral, a CC é um método de baixo custo, prático e não invasivo de quantificar o nível de reservas corporais e refletir o balanço entre demanda e gasto de energia do animal em um determinado período (NRC, 2001). Variações na CC têm sido relacionadas com a performance sanitária, produtiva e reprodutiva de animais de produção. Embora subjetiva, essa classificação demonstra o balanço energético dos indivíduos, podendo refletir variações ocorridas em marcadores metabólicos, como nos níveis de AGNE, BHBA, IGF-I e leptina (DE VRIES & VEERKAMP, 2000).

Neste contexto, um estudo recente encontrou um menor número e qualidade de oócitos recuperados em vacas leiteiras com alto mérito genético para produção de leite, culminando em uma menor taxa de clivagem e produção de blastocisto *in vitro* quando comparadas a vacas de médio mérito genético (SNIJDER et al., 2010). Considerando as possíveis interações entre o metabolismo e a qualidade dos oócitos de doadoras, esse estudo teve por objetivo relacionar a CC de vacas Jersey no momento da aspiração folicular (AF) com o número de folículos ovarianos, número de oócitos recuperados e a produção de embriões *in vitro*.

### 2. METODOLOGIA

Para realização desse estudo foram registrados a CC de 29 vacas Jersey submetidas a 87 eventos AF e PIV de embriões. Essas aspirações foram divididas em 5 sessões realizadas em intervalos de 14 dias entre os meses de junho a setembro de 2013 em uma propriedade no município de Bagé, RS. As vacas pertencentes ao trabalho eram não lactantes e foram mantidas em pastejo de azevém (*Lolium multiflorum*) e trevo branco (*rifolium repens*) tendo livre acesso a água e uma mistura mineral.

A CC de cada animal foi registrada por um mesmo técnico no momento da de cada AF baseado na escala de 1 a 5 (sendo 1 extremamente magra e 5 extremamente gorda) conforme proposto por Wildman et al. (1982).

A coleta dos oócitos foi realizada através de aspiração folicular como foi descrito previamente por IMAI et al. (2006). Brevemente, todos os folículos visíveis com  $\geq 2$  mm diâmetro foram aspirados usando um ultrassom scanner B-mode (Aloka SSD 500, Tokyo, Japan) ligado a transdutor de 5.0 MHz convexo fixo a uma guia transvaginal. O diâmetro e a distribuição de todos folículos aspirados foram registrados para cada animal. Todos os complexos cumulus oócitos foram maturados, fertilizados e cultivados *in vitro* como descrito previamente (MATOBA et al., 2010).

A partir dos dados da CC registrados no momento da AF foram formados três grupos experimentais, sendo o grupo **ECC  $\leq 2$**  (ECC =  $2 \pm 0,08$ ; n = 20), **ECC 3** (ECC =  $3 \pm 0,08$ ; n = 35) e **ECC  $\geq 4$**  (ECC =  $2 \pm 0,08$ ; n = 32).

A análise estatística foi realizada no programa NCSS (2005) por análise de variância e ajustes por contrastes ortogonais polinomiais. Considerou-se como fator fixo o grupo de CC dos animais no momento da AF e como variáveis dependentes o número de folículos ovarianos, oócitos recuperados e oócitos viáveis, como também a PIV de embriões de cada unidade experimental.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos conforme a categorização de CC estão dispostos na Tabela 1. Apesar do nosso estudo ter sido realizado durante 5 sessões de AF, nem todas vacas participaram das 5 sessões consecutivas, portanto, de acordo com as 29 vacas que foram aspiradas, obtivemos uma média de 3 aspirações por doadora no período compreendido pelas avaliações.

**Tabela 1.** Respostas reprodutivas de vacas Jersey de acordo com a CC submetidas a 5 sessões de aspirações foliculares consecutivas em intervalos de 14 dias.

	Condição Corporal			Polinomial <sup>c</sup>	
	$\leq 2$	3	$\geq 4$	L	Q
Nº Folículos	14,4 $\pm$ 1,57	16,9 $\pm$ 1,19	16,2 $\pm$ 1,24	0,37	0,32
Nº Oócitos recuperados	7,8 $\pm$ 1,57	11,3 $\pm$ 1,18	9,7 $\pm$ 1,25	0,33	0,11
Nº Oócitos viáveis	6,7 $\pm$ 1,46	9,9 $\pm$ 1,10	8,4 $\pm$ 1,15	0,36	0,10

<sup>c</sup>L = efeito linear do tratamento; Q = efeito quadrático do tratamento

Neste estudo, as variações entre a CC das doadoras no momento da AF não afetaram significativamente as respostas reprodutivas avaliadas ligadas a PIV de embriões. Em contrapartida, essa relação já foi observada em outros estudos, como no de DOMINGUEZ et al. (1995) que encontrou uma relação entre a CC e a qualidade de oócitos de vacas leiteiras. Da mesma forma, vacas com uma menor condição nutricional evidenciada pelo score de CC e recebendo dieta com baixa energia reduziram a produção de leite, concentrações de progesterona e

qualidade dos oócitos aspirados (KENDRICK et al., 1999). Essa diferenciação metabólica é um ponto crucial, pois na grande maioria dos casos a baixa na CC é reflexo de um déficit nutricional, ocorrendo simultaneamente ao decréscimo nas concentrações de IGF-I que são essenciais para o desenvolvimento folicular (SILVA et al., 2009).

Embora no presente estudo tenha-se encontrado uma tendência ( $P=0,11$  e  $P=0,10$ ) de um efeito quadrático da CC no número de oócitos recuperados e viáveis respectivamente, pode-se inferir que há uma provável influência da maior condição corporal sobre a resposta reprodutiva das doadoras. Neste contexto, esse comportamento pode ser justificados pelas características de vacas obesas possuírem um excessivo acúmulo de lipídios citoplasmáticos nos oócitos, podendo prejudicar sua viabilidade e sendo associado com a síndrome de vacas repetidoras de cio (AWASTHI et al., 2010). Da mesma forma, oócitos de camundongos alimentados com uma dieta de busca a indução de obesidade, exibiram uma notável disfunção mitocondrial com alteração da composição do DNA, do potencial de membrana e de biogênese, evidenciando o estresse oxidativo e resultando na redução do seu potencial de desenvolvimento *in vitro* (IOGSHEVA et al., 2010). Ainda em relação vacas obesas, outro estudo de ADAMIAK et al. (2005) observou uma diminuição na qualidade de oócitos e produção de blastocistos em vacas com elevada CC, bem alimentadas e/ou hiperinsulinêmicas, podendo relacionar os prejuízos da obesidade com a resistência a insulina aos tecidos periféricos.

#### 4. CONCLUSÕES

Os resultados desse estudo demonstram que a PIV de embriões não foi influenciada pela condição corporal no momento da AF. Entretanto, existe uma relação quadrática entre a CC e o número de oócitos recuperados e viáveis de doadoras não lactantes da raça Jersey.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMIAK SJ, MACKIE K, WATT RG, WEBB R, SINCLAIR KD (2005): Impact of nutrition on oocyte quality: cumulative effects of body composition and diet leading to hyperinsulinemia in cattle. **Biol. Reprod.** 73: 918–926.

DE VRIES, M. J., AND R. F. VEERKAMP. 2000. Energy balance of dairy cattle in relation to milk production. **J. Dairy Sci.** 83:62–69.

DOMINQUEZ MM. Effects of body condition, reproductive status and breed on follicular population and oocyte quality in cows. **Theriogenology** 1995;43:1405-18

STROUB, B. IETS 2011 Statistics and Data Retrieval Committee Report: The year 2010 worldwide statistics of embryo transfer in domestic farm animals. Disponível em: <<http://www.iets.org/pdf/December2012.pdf>>. Acesso em: 06/07/2013.

IMAI, K., M. TAGAWA, H. YOSHIOKA, S. MATOBA, M. NARITA, Y. INABA, Y. AIKAWA, M. OHTAKE, AND S. KOBAYASHI. 2006. The efficiency of embryo production by ovum pick-up and in vitro fertilization in cattle. **J. Reprod. Dev.** 52(Suppl.):S19–S29.

LEROY JLMR, VAN SOOM A, OPSOMER G, GOOVAERTS IGF AND BOLS PEJ 2008. Reduced fertility in high-yielding dairy cows: are the oocyte and embryo indanger? Part II. Mechanisms linking nutrition and reduced oocyte and embryo quality in high yielding dairy cows – Review. **Reproduction in Domestic Animals**.

MATOBA, S., T. FAIR, AND P. LONERGAN. 2010. Maturation, fertilisation and culture of bovine oocytes and embryos in an individually identifiable manner: A tool for studying oocyte developmental competence. **Reprod. Fertil. Dev.**22:839–851.

MARTINS, C. F. O impacto da transferência de embriões (TE) e da fecundação in vitro (FIV) na produção de bovinos no Brasil. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2010. Disponível em: <<http://www.cpac.embrapa.br/noticias/artigosmidia/publicados/243/>>. Acesso em: 25 out. 2010.

PALMA G.A. 2008. Producción in vitro de embriones. IN: PALMA G.A. (ED). Biotecnología de la reproducción. 2.ED. CÓRDOBA: Pugliese y Siena, PP. 120-139.

RUBIN, K.C.P.; PONTES. J.H.F.; NONATO, J.R.; ERENO JR, J.C.; PANSARD, H.; SENEDA, M.M. Influência do grau de sangue Nelore na produção in vivo de oócitos. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 33, p.183, 2005 (Abstract).

SILVA JR, FIGUEIREDO JR, VAN DEN HR, 2009. Involvement of growth hormone (GH) and insulin-like growth factor (IGF) system in ovarian folliculogenesis. **Theriogenology** 71, 1193–1208.

WILDMAN, E. E., G. M. JONES, P. E. WAGNER, R. L. BOMAN, H. F. TROUTT JR., AND T. N. LESCH. 1982. A dairy cow body condition scoring system and its relationship to standard production characteristics. **J. Dairy Sci.** 65:495– 501.