

Avaliação do Efeito da Sazonalidade na Produção in vitro de Embriões da Raça Nelore no Acre

Antônia Kaylyanne Pinheiro¹, José Marques Carneiro Junior², Jennifer Teodoro Ferreira Gregianini³, Helton Aparecido Garcia Gregianini⁴, Rafael Carneiro Ranucci⁵ e Ramon Regis Carneiro da Silva⁶

¹Bióloga, doutoranda em Sanidade e Produção Animal, Universidade Federal do Acre, Rio Branco, AC.

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

³Biomédica, mestranda em Sanidade e Produção Animal, Universidade Federal do Acre, Rio Branco, AC.

⁴Médico-veterinário, doutorando em Sanidade e Produção Animal, Universidade Federal do Acre, Rio Branco, AC.

⁵Graduando em Medicina Veterinária, Universidade Federal do Acre, Rio Branco, AC.

⁶Graduando em Agronomia, Faculdade de Educação e Meio Ambiente, Ariquemes, RO.

Resumo – O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da sazonalidade na produção de embriões no Acre. Os dados utilizados foram de produção de embriões a partir de dez fazendas no Acre entre os anos de 2015 a 2018. Foi realizada análise estatística descritiva para obtenção de médias e desvios-padrão. Em seguida, utilizou-se o método de quadrados mínimos generalizados por meio do procedimento PROC GLM do programa estatístico SAS para verificar a significância do efeito fixo de ano e estação. Observou-se efeito significativo para ano em todas as variáveis avaliadas. As médias para número total de oócitos variaram de 24,57 a 31,60, para número total de embriões clivados de 11,23 a 23,64, para número total de embriões produzidos de 5,77 a 10,12 e para número total de prenhez de 1,39 a 3,09. Em relação ao efeito de estação do ano, a variação observada refletiu significativamente no número total de embriões clivados e número total de prenhez. Não houve efeito significativo para as variáveis número total de oócitos e número total de embriões produzidos. Conclui-se que o efeito de sazonalidade considerando o ano e estações do ano é significativo para produção de oócitos e embriões.

Termos para indexação: melhoramento genético, reprodução, efeitos fixos.

Introdução

A produção in vitro de embriões é uma biotécnica reprodutiva muito utilizada no Brasil e no mundo para uso em larga escala do potencial genético de fêmeas (Souza; Abade, 2019). De modo geral, essa biotécnica pode ser dividida em duas etapas, a obtenção dos oócitos da doadora e a laboratorial que está subdividida em maturação in vitro, fecundação in vitro e cultivo in vitro (Varago et al., 2008).

Na produção in vitro de embriões, os principais efeitos de estação e as variações de ano estão relacionados tanto aos parâmetros nutricionais quanto aos climáticos (Mello et al., 2016). No Brasil, os sistemas de criação de bovinos estão situados principalmente nas regiões tropicais, onde predominam animais da raça Zebuína devido à adaptabilidade a ambientes adversos.

Outro fator causador de estresse que interfere nos resultados da produção in vitro de embriões é a disponibilidade e qualidade dos alimentos, principalmente na produção a pasto (Almeida et al., 2007). Nesse sentido, as condições ambientais são um dos principais aspectos que afetam o comportamento dos animais e interferem diretamente nos índices reprodutivos e consequentemente na produção de oócitos e embriões (Azevedo et al., 2005; Peixoto et al., 2006; Veloso Neto et al., 2014).

Na literatura, trabalhos relatam a influência de estação do ano nos resultados da produção de embriões. Gama Filho et al. (2007), ao avaliar os efeitos da sazonalidade sobre a dinâmica folicular

ovariana e analisar a influência de temperaturas elevadas no desenvolvimento embrionário inicial em novilhas da raça Guzará, encontraram influência de efeito de época, em que temperaturas elevadas comprometeram a qualidade dos oócitos e a capacidade de desenvolvimento dos embriões. Fernandes et al. (2001) observaram efeito de sazonalidade na produção in vitro de embriões bovinos em doadoras Nelore, com maiores índices de concepção devido à estação chuvosa.

Neves et al. (2016), avaliando doadoras Nelore, constataram diferença significativa na porcentagem de produção de embriões de acordo com a estação do ano, em que o período mais quente conduziu à menor taxa de embriões (35%) em relação ao período mais ameno (55%). Peixoto et al. (2007), ao avaliar taxa de prenhez de doadora Zebuína, entre 1992 e 1999, obtiveram efeito significativo em relação ao ano e estação.

No Acre a pecuária de corte é uma atividade que apresenta grande expressão econômica, principalmente na geração de emprego e renda para pequenos e médios produtores (Barbosa et al., 2015).

Nos últimos anos, a pecuária de corte no Acre passou por avanços significativos e a criação de animais puros, por meio da técnica de produção in vitro de embriões, tem sido intensamente utilizada para formação da base genética do rebanho e melhoria do padrão genético dos animais. Características relacionadas à produção in vitro de embriões envolvem processos biológicos complexos e vários estudos apontam fatores que interferem na produção, dentre eles o efeito de sazonalidade (estação e ano). Nesse sentido o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da sazonalidade na produção in vitro de embriões no estado do Acre.

Material e métodos

Os dados utilizados neste trabalho referem-se a sessões de aspirações foliculares realizadas em 571 doadoras Nelore em dez fazendas localizadas no estado do Acre, no período de 2015 a 2018, fornecidos pela empresa In Vitro Acre localizada em Rio Branco, Acre.

Os oócitos foram coletados por meio da técnica de aspiração folicular por via transvaginal guiada por ultrassonografia (ovum pick-up – OPU). Após seleção, os oócitos foram encaminhados ao laboratório para maturação in vitro, fertilização in vitro e cultivo in vitro. Após essa etapa os embriões foram transferidos a receptoras aptas e sincronizadas para o processo de inovulação e aos 30 dias foi realizado o diagnóstico de gestação.

Foram analisadas as seguintes variáveis: número total de oócitos, total de embriões clivados, total de embriões produzidos e total de prenhez.

Na variável relacionada ao número total de oócitos foi considerado o número total de oócitos viáveis; na variável total de embriões clivados, o total de embriões clivados em relação aos oócitos viáveis; na variável total de embriões, o total de embriões produzidos em relação aos embriões clivados; e na variável total de prenhez, o total de prenhez em relação aos embriões produzidos.

Foi realizada análise estatística descritiva para obtenção de médias e desvios-padrão. 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 do efeito fixo de ano e estação, considerando a produção in vitro de embriões entre a época chuvosa, seca e transição seca/chuva e os anos de 2015 a 2018.

Resultados e discussão

Na Tabela 1 estão descritos as médias e os respectivos desvios-padrão de número total de oócitos, número total de embriões clivados, número total de embriões produzidos e número total de prenhez por aspiração/vaca/ano.

Tabela 1. Número de aspiração folicular (N_{AF}), médias (\bar{X}) e desvios-padrão (DP) de número total de oócitos (NT_{OOC}) número total de embriões clivados (NT_{CLIV}), número total de embriões produzidos (NT_{EMB}) e número total de prenhez (NT_{PREN}) por aspiração/vaca/ano.

Ano	N_{AF}	NT_{OOC}	NT_{CLIV}	NT_{EMB}	NT_{PREN}
		$\bar{X} \pm DP$	$\bar{X} \pm DP$	$\bar{X} \pm DP$	$\bar{X} \pm DP$
2015	253	31,60 \pm 21,32	23,64 \pm 15,92	10,12 \pm 9,31	3,09 \pm 3,77
2016	376	32,22 \pm 19,92	22,13 \pm 15,04	9,47 \pm 8,16	3,18 \pm 3,75
2017	606	25,96 \pm 18,55	17,35 \pm 13,29	8,31 \pm 7,90	2,48 \pm 3,42
2018	56	24,57 \pm 18,65	11,23 \pm 12,42	5,77 \pm 5,02	1,39 \pm 2,03
Total	1.291	28,83 \pm 19,75	19,71 \pm 14,67	8,89 \pm 8,22	2,76 \pm 3,57
PR > F		< 0,0001*	< 0,0001*	0,0003*	0,0002*

*Diferença significativa a 5% de probabilidade.

Houve efeito significativo para o ano em todas as variáveis avaliadas ($p < 0,05$). As médias para NT_{OOC} variam de 24,57 a 31,60, para NT_{CLIV} teve variação entre 11,23 e 23,64, para NT_{EMB} foi de 5,77 a 10,12 e a variação para NT_{PREN} foi de 1,39 a 3,09. Verifica-se que as melhores produções ocorreram nos anos 2015 e 2016 com decréscimo entre 2017 e 2018. Entretanto, é difícil estabelecer com clareza quais fatores ocorreram nesses anos que poderiam explicar a significância desse efeito. Entretanto, o conhecimento da importância desse efeito permite sua inserção na modelagem estatística de forma mais acurada dos parâmetros genéticos desejados em possíveis avaliações genéticas regionais.

A temperatura anual máxima média entre os anos de 2015 a 2018 foi de 32,3 °C \pm 1,8 °C; 32,7 °C \pm 1,5 °C; 32,3 °C \pm 1,4 °C; e 31,8 °C \pm 1,4 °C, respectivamente, a temperatura anual mínima média de 22,5 °C \pm 1,7 °C; 23,2 °C \pm 4,3 °C; 21,9 °C \pm 1,8 °C; e 21,6 °C \pm 2,1 °C, respectivamente, e a precipitação média total anual foi de 167,60 mm; 140,14 mm; 187,04 mm; 187,25 mm. Apesar de 2016 ter sido o período mais seco, mais quente e com maior variação de temperatura, isso não afetou negativamente a produção de embriões in vitro (Pive) em relação aos anos de 2017 e 2018. Peixoto et al. (2007), analisando efeitos que afetam a taxa de prenhez em 6.806 doadoras da raça Zebuína entre 1992 e 1999, encontraram efeito de ano para as variáveis estudadas. Esses fatores foram atribuídos principalmente às condições ambientais como ar, temperatura e umidade.

Em relação ao efeito de estação do ano, a variação observada refletiu significativamente no NT_{CLIV} e NT_{PREN} ($p < 0,05$) no decorrer do ano (Tabela 2).

A época que apresentou menores índices de prenhez foi a chuvosa. Uma possível explicação para esse resultado é que o efeito significativo obtido para a variável prenhez está relacionado também à categoria da receptora que é muito afetada pelas condições de ambiente. Não foi observado efeito significativo para a estação do ano nas variáveis NT_{OOC} e NT_{EMB} ($p > 0,05$), contudo, ao escolher a época da aspiração folicular deve-se considerar a mais favorável à conversão de oócitos em prenhez. Na literatura há relatos de significância para o efeito de estação do ano. Peixoto et al. (2007), avaliando a taxa de prenhez de doadora Zebuína, obtiveram efeito significativo para estação de ano, com as melhores taxas no outono. Da mesma forma, Neves et al. (2016), ao avaliar

influências climatológicas em vacas Nelore, constataram correlação entre a estação do ano e a taxa de Pive, sendo produzida a menor taxa de embriões no período mais quente.

Tabela 2. Número de aspiração folicular (N_{AF}), médias (\bar{X}) e desvios-padrão (DP) de número total de oócitos (NT_{OOC}), número total de embriões clivados (NT_{CLIV}), número total de embriões produzidos (NT_{EMB}) e número total de prenhez (NT_{PREN}) por aspiração/vaca/estação.

Época	N_{AF}	NT_{OOC}	NT_{CLIV}	NT_{EMB}	NT_{PREN}
		$\bar{X} \pm DP$	$\bar{X} \pm DP$	$\bar{X} \pm DP$	$\bar{X} \pm DP$
Chuvosa	314	29,39 \pm 19,79	18,47 \pm 15,17	8,01 \pm 7,76	2,15 \pm 2,93
Seca	732	27,98 \pm 19,41	19,41 \pm 13,87	9,20 \pm 8,48	2,97 \pm 3,82
Seca/chuva	245	30,65 \pm 20,60	22,05 \pm 16,10	9,10 \pm 7,96	2,89 \pm 3,46
Total	1.291	28,83 \pm 19,75	19,71 \pm 14,67	8,89 \pm 8,22	2,76 \pm 3,57
PR > F		0,1575 ^{ns}	0,0245*	0,0916 ^{ns}	0,0024*

^{ns} e *Diferença não significativa e significativa a 5% de probabilidade, respectivamente.

Conclusões

Quanto ao efeito de ano e das estações de ano, a sazonalidade apresenta relação direta na produção de oócitos e embriões, devendo dessa forma ser considerada em avaliações que tenham por objetivo a estimação ou predição de parâmetros genéticos no Acre.

Referências

- ALMEIDA, A. P.; SOUZA, A. L.; MENEZES, E. S. B.; ARRUDA, I. J.; RONDINA, D. Recentes avanços na relação entre nutrição e reprodução em ruminantes. **Revista Brasileira de Nutrição Animal**, v. 1, n. 2, p. 34-65, 2007.
- AZEVEDO, M.; PIRES, M. F. A.; SATURNINO, H. M.; LANA, A. M. Q.; SAMPAIO, I. B. M.; MONTEIRO, H.; MORATO, L. E. Estimativa de níveis críticos superiores do índice de temperatura e umidade para vacas leiteiras $1/2$, $3/4$ e $7/8$ Holandês-Zebu em lactação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n. 6, p. 2000-2008, dez. 2005. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1516-35982005000600025>.
- BARBOSA, F. A.; FILHO, B. S. S.; MERRY, F. D.; AZEVEDO, H. O.; COSTA, W. L. S.; COE, M. T.; BATISTA, E. L. S.; MACIEL, T. G.; SHEEPERS, L. C.; OLIVEIRA, A. R.; RODRIGUES, H. O. **Cenários para a pecuária de corte na Amazônia**. Belo Horizonte: Ed. IGC/UFMG, 2015. 146 p.
- FERNANDES, C. E.; DODE, M. A. N.; GODOY, K.; RODOVALHO, N. Efeito estacional sobre características ovarianas e produção de oócitos em vacas *Bos indicus* no Mato Grosso do Sul. **Brazilian Journal of Veterinary Research Animal Science**, v. 38, n. 3, p. 131-135, 2001. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1413-95962001000300007>.
- GAMA FILHO, R. V.; FONSECA, F. A.; UENO, V. G.; FONTES, R. S.; QUIRINO, C. R.; RAMOS, J. L. G. Sazonalidade na dinâmica folicular ovariana e produção embrionária em novilhas da raça Guzerá. **Brazilian Journal of Veterinary Research Animal Science**, v. 44, n. 6, p. 422-427, 2007. Disponível em: <https://www.revistas.usp.br/bjvras/article/download/26607/28390#:~:text=Houve%20efeito%20sazonal%20no%20n%C3%BAmero,ocorrendo%20maior%20persist%C3%A2ncia%20no%20ver%C3%A3o>. Acesso em: 10 maio 2021.
- MELLO, R. R. C.; FERREIRA, J. E.; SOUSA, S. L. G.; MELLO, M. R. B.; PALHANO, H. B. Fatores ligados à doadora que influenciam na produção de embriões in vitro (PIVE). **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 40, n. 2, p. 51-57, abr./jun. 2016. Disponível em: [http://www.cbpa.org.br/pages/publicacoes/rbra/v40/n2/p51-57%20\(RB604\).pdf](http://www.cbpa.org.br/pages/publicacoes/rbra/v40/n2/p51-57%20(RB604).pdf). Acesso em: 10 maio 2021.

- NEVES, S.; CAVALIERI, F. L. B.; EMANUELLI, I. P. Influência das condições climatológicas nas variáveis reprodutivas de fêmeas bovinas da raça Nelore. In: MOSTRA INTERNA DE TRABALHOS DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 8.; MOSTRA INTERNA DE TRABALHOS DE INICIAÇÃO TECNOLÓGICA E INOVAÇÃO, 1., 2016, Maringá. **Anais...** Maringá: Unicesumar, 2016.
- PEIXOTO, M. G. C. D.; BERGMANN, J. A. G.; FONSECA, C. G.; PENNA, V. M.; PEREIRA, C. S. Effects of environmental factors on multiple ovulation of zebu donors. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, n. 4, p. 567-574, ago. 2006. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-09352006000400019>.
- PEIXOTO, M. G. C. D.; BERGMANN, J. A. G.; SUYAMA, E.; CARVALHO, M. R. S.; PENNA, V. M. Logistic regression analysis of pregnancy rate following transfer of *Bos indicus* embryos into *Bos indicus* × *Bos taurus* heifers. **Theriogenology**, v. 67, n. 2, p. 287-292, Jan. 2007. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.06.012>.
- SOUZA, N. S.; ABADE, C. C. Produção *in vitro* de embriões bovinos: etapas de produção e histórico no Brasil. **Ciência Veterinária UniFil**, v. 1, n. 3, p. 95-108, mar. 2019. Disponível em: <http://periodicos.unifil.br/index.php/revista-vet/article/view/988>. Acesso em: 10 maio 2021.
- SAS Institute. **User's guide**: statistics. Cary, NC, 2002. 525 p.
- VARAGO, F. C.; MENDONÇA, L. F.; LAGARES, M. A.; Produção *in vitro* de embriões bovinos: estado da arte e perspectiva de uma técnica em constante evolução. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 32, n. 2, p. 100-109, abr./jun. 2008. Disponível em: <http://cbra.org.br/pages/publicacoes/rbra/download/RB152%20Varago%20pag100-109.pdf>. Acesso em: 10 maio 2021.
- VELOSO NETO, H. F.; SILVA, J. C. F.; PEREIRA, L. C.; ANDRADE, J. C. O.; MOURA, M. T.; BARTOLOMEU, C. C.; LIMA, P. F.; OLIVEIRA, M. A. L. Parâmetros que afetam a taxa de prenhez de receptoras bovinas de embriões produzidos *in vitro*. **Medicina Veterinária**, v. 8, n. 3, p. 31-35, 2014. Disponível em: <http://www.journals.ufrpe.br/index.php/medicinaveterinaria/article/view/1188/993>. Acesso em: 10 maio 2021.