

AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DE REUTILIZAÇÃO DO CIDR® EM PROTOCOLOS DE SUPEROVULAÇÃO DE OVELHAS

(Evaluation of efficiency of the reuse of CIDR® in sheep superovulation protocols)

Ingryde Paula Aragão LEITÃO^{1*}; Francisca Jéssica Silva BEZERRA¹; Leda Maria Costa PEREIRA¹; Monalisa Sousa Dias LIMA¹; Jeferson Ferreira da FONSECA²; Maria Emília Franco OLIVEIRA³; Dárcio Ítalo Alves TEIXEIRA¹

¹Laboratório de Diagnóstico por Imagem Aplicado à Reprodução da Universidade Estadual do Ceará (UECE), Av. Dr. Silas Munguba, 1700. Campus do Itaperi, Fortaleza/CE. CEP: 60714-903. ²Universidade de São Paulo (UNESP); ³EMBRAPA Gado de Leite, Campo Experimental de Coronel Pacheco.

*E-mail: ingryde.aragao@aluno.uece.br

ABSTRACT

Sheep farming is an area of veterinary medicine of great importance at regional and national level, among the easily found breeds of economic relevance in northeastern Brazil are Morada Nova and Santa Inês. In addition, ultrasonography has been used systematically in animals superovulatory response to the sheep superovulation protocols. In order to assess, based on the number of yellow bodies and number of viable embryos produced, the efficiency of the reuse of CIDR® in superovulation protocols in sheep using ultrasonography in color Doppler mode, a superovulatory protocol was performed in a total 40 sheep, with G-USED when 10 Morada Nova ewes and 10 Santa Inês ewes received reused CIDR® and G-NOVO when 10 Morada Nova ewes and 10 Santa Inês ewes received new CIDR®. The mean and standard error of yellow bodies was 10.35±1.33 for G-USED and 9.25±1.65 for G-NOVO, while the number of viable embryos was 6.50±2, 54 for G-USED and 8.25±1.49 for G-NEW. Thus, the reuse of CIDR® demonstrated efficiency in superovulation and did not interfere with the development of corpus luteum and the production of quality transferable embryos in sheep.

Key words: Superovulation of sheep, reuse of CIDR®, corpus luteum, viable embryos.

INTRODUÇÃO

A utilização da Múltipla Ovulação e a Transferência de Embriões – MOTE e da ultrassonografia é de grande relevância para melhorar indicadores reprodutivos de ovinos. As raças Morada Nova e Santa Inês são muito utilizadas como modelos experimentais, com relevância econômica no nordeste brasileiro, tanto para produção de carne como de pele.

Em um protocolo de MOTE, Brasil (2016) explica que há sincronização de estro da ovelha com uso de dispositivos liberadores de progesterona (P₄) (como o dispositivo controlador de droga interna (CIDR®)) e, antes de sua retirada, aplicação de gonadotrofinas, como o hormônio folículo estimulante (FSH). Geralmente, o protocolo é dito curto quando os dispositivos intravaginais permanecem por 5, 6 ou 7 dias (BRASIL, 2016); longos, por 10, 12 ou até 14 dias (NASCIMENTO *et al.*, 2013), e, de média duração, por 8 ou 9 dias. Nesse contexto, a ultrassonografia é utilizada na avaliação da resposta superovulatória dos animais, como para avaliação e quantificação dos corpos lúteos (CL) e de embriões viáveis. Dentre os modos de ultrassom, o Modo B permite a avaliação bidimensional da estrutura reprodutiva e o Modo Doppler Colorido, avaliar sua circulação sanguínea.

De fato, muitos autores avaliaram a eficiência do reuso do CIDR® em ovinos, mas não em um protocolo de MOTE. Dessa forma, a fim de reduzir custos, avaliou-se a eficiência da

reutilização do CIDR[®] em protocolos superovulatórios de ovinos, por meio de Ultrassonografia em modo Doppler colorido, a partir do número de corpos lúteos e de embriões viáveis.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado de setembro a novembro de 2019, na Fazenda da Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral/CE; aprovado pelo Comitê de Ética para Uso de Animais (CEUA) da Embrapa Gado de Leite, número 2512100516. Foram utilizadas 40 ovelhas, sendo 20 da raça Santa Inês e 20 Morada Nova, sexualmente adultas, não gestantes e lactantes, pluríparas e cíclicas, com 2 a 8 anos de idade e peso médio de 41,5kg. Em criação intensiva, recebiam água *ad libitum*, 200g de concentrado por ovelha (duas vezes ao dia) e silagem de milho.

Protocolo de sincronização do estro e superovulação

Os animais foram alocados em quatro grupos experimentais de acordo com a raça e o estado do CIDR[®]: 10 ovelhas Morada Nova e 10 Santa Inês com CIDR[®] usado por uma vez, 10 ovelhas Morada Nova e 10 Santa Inês com CIDR[®] novo. O protocolo de sincronização do estro e superovulação teve duração total de 15 dias e o CIDR[®] permaneceu por 9 dias. No dia zero (D0), o CIDR[®] impregnado com 0,33mg de P4 foi introduzido intravaginalmente e logo foi induzida a superovulação com a aplicação de 133mg (i.m.) de p-FSH (Folltropin V[®], Vetoquinol, Brasil) entre D7 e D9 – seis doses decrescentes a cada 12 horas (33-33-20-20-13-13mg) e, no D9, foram aplicadas duas doses de 0,5 mL (i.m.) de d-cloprostenol também a cada 12 horas (37.5 g, Prolise[®], Agener União, Brasil). Então, o CIDR[®] foi retirado e a monta natural pôde ser feita por um carneiro considerado fértil de mesma raça entre o D10 e o D13. Em D12 e D13, receberam duas doses de 1,5mL de flunixinina meglumina (24.9 mg; Banamine[®], MSD, São Paulo, Brasil) e, no D15, foi injetado 0,5 mL (i.m.) de d-cloprostenol, 1,5mL de flunixinina meglumina e 1mL (i.m.) de um análogo ao estradiol (Estrogin[®], São Paulo, Brasil). Ovelhas com pelo menos 4 CLs foram submetidas à recuperação não cirúrgica dos embriões.

Avaliação ultrassonográfica

Para avaliação das dinâmicas folicular e lútea, a ultrassonografia (US) foi realizada em D0 e D15 (primeiro e último dia do protocolo), em D7 e D9 (aplicação da prostaglandina) e D11 (após início da monta natural), cujo exame foi realizado por via transretal, a visualização do útero e dos ovários foi feita com o Modo B e, logo após, pelo modo Doppler colorido com uso de transdutor multifrequencial de 5-10 MHz (Mindray[®], modelo Z5Vet, Digital Ultrasonic Diagnostic Imaging System, Brasil). Para tal, foi introduzido no reto das ovelhas 10-20mL de gel à base de água e, logo, o transdutor. Imagens capturadas dos vídeos gravados da US dos ovários foram processadas no software Adobe Photoshop (os pixels correspondentes à estrutura dos CL foram selecionados e excluídos os correspondentes a outras estruturas ovarianas) e analisadas pelo programa Image J (contabilização dos pixels). A área de cada estrutura folicular foi calculada pela equação $D = (A+B) / 2$, em que “A” indica o diâmetro maior e “B”, o menor.

Análise estatística

O software R (Foundation for Statistical Computing, Viena, Áustria - Versão 3.61, 2019) foi usado para análise dos dados em um desenho completamente aleatório (CRD) com parcelas subdivididas no tempo. As variáveis número de corpos lúteos e de embriões viáveis foram testadas quanto à normalidade (teste exato de Fisher). Sendo significativos, o teste do qui quadrado ou de Tukey eram usados para comparações pareadas. Os resultados foram apresentados como média \pm erro padrão e significativos quando $p < 0,05$ (5%).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Fig. 01 mostra média \pm erro padrão do número de CL e do total de embriões recuperados nos tratamentos experimentais. Não houve diferença significativa entre os tratamentos ($p > 0,05$) quanto ao número de CL e número de embriões viáveis (EVs). No entanto, o G-USADO demonstrou melhor concentração no número de CL em comparação ao G-NOVO ($10,35 \pm 1,33$ e $9,25 \pm 1,65$, respectivamente: média \pm erro padrão). Para o número de EVs, o G-USADO apresentou valores de $8,25 \pm 1,49$ e, o G-NOVO, $6,50 \pm 2,54$ (média \pm erro padrão).

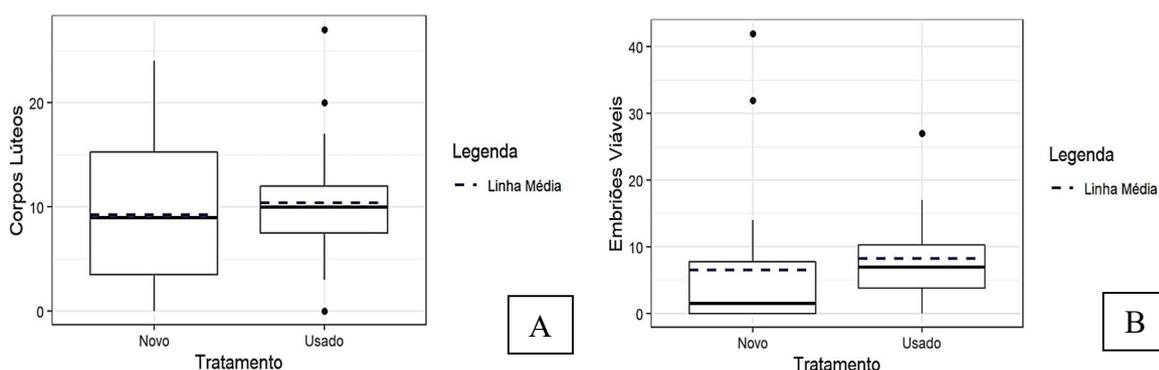


Figura 01: O gráfico Boxplot mostra (A) o número de CL e (B) o total de embriões recuperados nos tratamentos experimentais de ovelhas do grupo novo e do usado para programas MOTE.

Nascimento *et al.* (2013), com uso do CIDR[®] por 14 dias em ovelhas Santa Inês, obtiveram menor número de CLs ($6,85 \pm 6,87$), mas em um protocolo longo, em contrapartida ao deste trabalho que foi de 9 dias (média duração). Maciel (2016) explica que, quando a permanência do dispositivo é maior que 10 dias, resulta em uma menor concentração de P₄, provocando, por exemplo, alteração no crescimento folicular. Em dois trabalhos realizados por Brasil (2016), no primeiro, encontrou-se valor próximo ($12 \pm 8,2$ CLs) ao deste estudo, utilizou CIDR[®] durante 7 dias em 72 ovelhas, a mesma dose de pFSH e uso da IA. No segundo, utilizou 44 ovelhas Santa Inês, também 133mg de pFSH e obteve $6,0 \pm 3,8$ e $10,3 \pm 5,3$ CLs, respectivamente para ovelhas com baixa e alta resposta ovulatória, estas com valores próximos aos nossos. O uso da IA em contrapartida à monta natural é uma possível explicação aos valores inferiores das ovelhas com baixa resposta.

Quanto ao número de EVs, em comparação com Brasil (2016) e Maciel (2016), foram obtidos números superiores nos dois tratamentos. Maciel (2016) obteve $1,5 \pm 2,51$ EVs, com um menor número amostral ($n=24$) em protocolos de curto, médio ou longo prazo, uso do CIDR[®] e 133mg de pFSH. Brasil (2016), alcançou $2,8 \pm 3,1$ e $4,1 \pm 4,2$ EVs (média \pm desvio padrão) respectivamente para ovelhas com baixa ou alta resposta ovulatória, CIDR[®] por 7 dias e reuso

após a segunda IA. Maciel (2016) explica que esta diferença provavelmente ocorreu em virtude de outros fatores além da dose do FSH exógeno e que a duração do tratamento com P4 tem efeito sobre a fecundação dos oócitos. Lopes Júnior *et al.* (2006) trabalharam com 20 ovelhas Morada Nova de 1 a 2 anos (G1) e 3 a 4 anos (G2) em protocolo de MOTE, esponjas de acetato de medroxiprogesterona (MAP) e pFSH, obtiveram número inferior de EVs ($3,5\pm 0,7$) nas ovelhas de G2 (como as deste estudo) e valor semelhante nas mais jovens ($5,6\pm 1,1$). Os autores explicam que a MOTE é eficiente em ovelhas desta raça com idade igual ou menor que 2 anos, pois as mais jovens são tão responsivas quanto às mais velhas.

CONCLUSÕES

A reutilização do CIDR[®] anteriormente utilizado por 9 dias em protocolo superovulatório de média duração em ovelhas demonstrou eficiência na superovulação e não interferiu no número de corpos lúteos e de embriões transferíveis de qualidade, indicando uma boa possibilidade para redução dos custos na utilização dos protocolos de MOTE.

REFERÊNCIAS

- BRASIL, O.O. Alternativas para o aumento da produção embrionária de ovelhas deslanadas. 2016. 87p. (Tese de Doutorado em Ciência Animal). Programa de Pós-graduação em Ciências Animais, Universidade de Brasília, 2016.
- LOPES JÚNIOR, E.S.; MAIA, E.L.M.M.; PAULA, N.R.O.; TEIXEIRA, D.I.A.; VILLARROEL, A.B.S.; RONDINA, D.; FREITAS, V.J.F. Effect of age of donor on embryo production in Morada Nova (white variety) ewes participating in a conservation programme in Brazil. *Tropical Animal Health and Production*, v.38, n.7-8, p.555-561, 2006.
- MACIEL, G.S. Resposta superovulatória e produção *in vivo* de embriões em ovelhas Santa Inês em função da dosagem de FSH. 2016. 66p. (Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária). Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista, 2016.
- NASCIMENTO, I.M.R.; SOUSA JÚNIOR, A.; BRANCO, M.A.C.; CARVALHO, Y.N.T.; MOTA, L.H.C.M.; FERREIRA, S.B.; SOUZA, I.O.T.; MORAES JÚNIOR, F.J.; LEAL, T.M.; SOUZA, J.A.T. Qualidade do corpo lúteo e do embrião de ovelhas Santa Inês superovuladas com FSH associado à rbST. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.65, n.5, p.1376-1382, 2013.