TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES EM BOVINOS: REVISÃO DE LITERATURA

FRIGO, André Ricardo<sup>1</sup> GUEIROS, Euler Marcio Ayres<sup>2</sup>

ARAUJO, Alyson Liberali<sup>3</sup>

**RESUMO** 

Esse trabalho abordará o tema sobre transferência de embriões em bovinos, sendo revisadas as técnicas utilizadas para realização, as vantagens e desvantagens de cada uma delas no cenário nacional. A transferência convencional de embriões é uma excelente técnica para obtenção de progênie de uma fêmea e um macho de alta genética utilizando-se de uma vaca receptora (barriga de aluguel). Esse processo ocorre quando se tem uma fêmea de alto valor zootécnico e pretende-se retirar da mesma vários descendentes em um curto período de tempo. A finalidade dessa pesquisa é

proporcionar um entendimento atualizado de como se realiza a transferência de embriões no Brasil, bem como as

mudanças e melhorias que estão ocorrendo nesse mercado da reprodução bovina.

PALAVRAS-CHAVE: Progênie. Reprodução. Genética. Brasil.

1. INTRODUÇÃO

A transferência de embrião é uma atividade em ascensão, havendo uma demanda para se

multiplicar mais eficiente e rápido o rebanho pra que se obtenha mais precocemente animais de

grande potencial genético, e também ganhos de heterose (aumento de qualidades biológicas) com

esses cruzamentos em um rebanho específico.

Então, a transferência busca rapidamente ganhos genéticos que só ocorreria de forma natural

em inúmeras gerações, bem como na Inseminação artificial (IA), justificando assim, cada fez mais o

avanço destas técnicas de transferência de embriões, fazendo com que o rebanho apresente alto

valor genético em um curto período de tempo, bem como alto valor econômico.

Há diversas maneiras de se realizar a transferência de embriões, uma delas é induzir na vaca

doadora uma superovulação, onde ao invés de se produzir somente um óvulo, a mesma produz

vários, sendo posteriormente inseminados através de inseminação artificial (IA) com sêmen de um

macho de alto valor genético, gerando vários embriões, que serão coletados após uma semana e

verificado a viabilidade dos mesmos, caso estejam viáveis, serão implantados cada um em uma vaca

receptora diferente, ou congelados para posterior utilização. As vacas receptoras realizarão a função

de sustentar o embrião até o nascimento, gerando assim, progênies da vaca doadora inseminada.

<sup>1</sup>Formando do Curso de Medicina Veterinária do Centro Universitário da Fundação Assis Gurgacz. E-mail:

andrericardofrigo@hotmail.com

<sup>2</sup>Orientador - Médico Veterinário e docente do Centro Universitário da Fundação Assis Gurgacz E-mail: assiveteulermarcio@gmail.com

<sup>3</sup>Coorientador - Médico veterinário Mestrando em ciência animal com ênfase em produtos bioativos (UNIPAR). E-mail:

liberalialyson@gmail.com

No brasil, a transferência de embrião é uma técnica não muito difundida, devido à grande exigência de uma boa técnica juntamente com um conhecimento aprimorado, sanidade e manejo nutricional adequados, bem como chances iguais de ser um sucesso ou um fracasso, no entanto, essas técnicas permitem com que se obtenha o melhor potencial genético tanto do macho, quanto da fêmea.

# 2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

## 2.1. FISIOLOGIA DA REPRODUÇÃO

A transferência de embriões é uma técnica que surgiu no final do século XIX e foi aprimorada no século XX, tornando-se uma ferramenta bastante útil no comércio de embriões, graças aos avanços nas áreas de produção, manipulação, conservação e a própria transferência em si. Atualmente, o sucesso de uma TE depende do controle dessas variáveis, e caso haja erros, os resultados são seriamente comprometidos (ALVAREZ, 2008).

Para se entender a transferência de embriões, é necessário saber a fisiologia dos bovinos, portanto, as vacas são caracterizadas como poliéstricas anuais, com intervalos de estro com aproximadamente 21 dias. Os ciclos se repetem até o momento da luteólise, que é interrompida pela gestação. Para as fêmeas, o processo de foliculogênese produz os folículos ainda em sua vida fetal, predefinindo o número de folículos primordiais nas gônadas (ovários), onde os mesmos serão destruídos pela própria fisiologia do ciclo e poucos irão ser fecundados (GONÇALVES *et al*, 2008).

O folículo primordial quando ativado entra na fase de crescimento, avançando para o folículo primário. Então, inicia-se a fase de formação da zona pelúcida (camada acelular de glicoproteínas originadas de secreção das células da granulosa, localizada entre ovócito e as células foliculares) onde o folículo permanece durante seu desenvolvimento até iniciar a fase do desenvolvimento embrionário. O folículo secundário é formado com o aumento do ovócito, a caracterização da zona pelúcida, as primeiras células da teca (células recrutadas para se diferenciarem posteriormente) e pelo menos duas camadas da granulosa. Com a formação do folículo secundário, temos a cavidade antral, formada pela passagem liquido folicular (originado pelo plasma periférico) através da membrana basal folicular. Finalizando esse estágio, temos folículos dependentes de gonadotrofinas (HAFEZ, 2004).

O estágio mais avançado do crescimento folicular se da por duas ou três ondas de crescimento folicular durante cada ciclo estral. Cada onda de crescimento é caracterizada pelo recrutamento de

um grupo de folículos, que continuam a crescer até aproximadamente 6 a 8 mm de diâmetro, quando passam pela seleção folicular (OLIVEIRA *et al*, 2011).

Na finalização do crescimento folicular, são expressos os receptores de LH (hormônio luteinizante) na camada de células da granulosa do folículo dominante, onde o mesmo secreta 55% da inibina liberada na circulação e 80% do estradiol (GONÇALVES *et al*, 2008).

A ovulação do folículo selecionado requer condições endócrinas certas, se ocorrer regressão luteal na fase de crescimento do folículo dominante, a queda dos níveis de progesterona permite o aumento da frequência dos pulsos de LH, estimulado pelo aumento da produção do estradiol do folículo dominante (feedback positivo). O aumento dos pulsos de LH permite um pico de LH, fazendo com que ocorra a ovulação e maturação ovocitária com retomada da meiose que tinha sido interrompida no inicio do desenvolvimento folicular. Caso não ocorra a luteólise enquanto o folículo dominante é viável, ele regride (atresia) e o FSH (hormônio folículo estimulante) continua sendo secretado, possibilitando que ocorra outra onda folicular (BURATI, 2006).

O hipotálamo é localizado na base do cérebro, responsável por secretar hormônios peptídicos, nos quais, através do sistema circulatório (sistema-porta-hipotalâmico-hipofisário), vão até a hipófise para regular a atividade dessa glândula, que na reprodução, tem o hormônio GnRH (hormônio liberador da gonadotrofina), responsável pela liberação de FSH e LH na adenohipófise (subdivisão da hipófise) para manutenção funcional dos ovários (FERREIRA, 2010).

Os ovários são as gonodas responsáveis por duas funções: produzir e liberar ovócitos e produzir hormônios (estrógeno e progesterona). O estrógeno atua no desenvolvimento sexual (características sexuais secundárias e órgãos sexuais) e a progesterona que faz o preparo do útero para manter a gestação, inibição do cio e o pico de LH pré-ovulatório, sendo secretada no CL (corpo lúteo) (HAFEZ, 2004).

O útero tem como função principal a produção de prostaglandina (PGF2α), responsável pela lise do CL, possibilitando o inicio de um novo ciclo, também aumenta a motilidade uterina, estimula a contração do miométrio no trabalho de parto e na ovulação facilita o transporte de espermatozoides e ovócitos (FERREIRA, 2010).

#### 2.2. FASES DO CICLO ESTRAL

A fase folicular se caracteriza entre a regressão do CL até a ovulação, durante essa fase a estrutura primária do ovário é o folículo dominante que produz estrógeno e pequenos pulsos de hormônio liberador das gonadotrofinas (GnRH) ocorrem a cada 1,5-2 horas. Nessa fase estão presentes o estro e o proestro. O estro corresponde a aceitação da fêmea ao macho, com locomoção

mais ativa, expressão vocal, nervosismo, e monta da fêmea em outras fêmeas. Corresponde ao dia de cio, variando de 6 a 21 horas. O folículo dominante produz estrógeno, induzindo sinais de cio, como útero túrgido, cérvix relaxada, vagina e vulva com sinais de hiperemia e edema, além de corrimento e muco límpido (FERREIRA, 2010).

O proestro se caracteriza por preceder o estro, ocorrendo o luteólise e o sistema genital perde a influência da progesterona e cessa o feedback negativo sobre o GnRH, liberando as gonadotrofinas, sendo o hormônio folículo estimulante (FSH) e o hormônio luteinizante (LH), onde os mesmos são hormônios glicoproteicos sintetizados pela hipófise anterior que regulam a função ovariana estimulando um novo crescimento folicular. Esse período varia entre 3-5 dias, onde ocorre aumento gradual do estrógeno, com pico no início do estro (FERREIRA, 2010).

Já a fase luteal vai da ovulação até a regressão do CL, onde a estrutura dominante é o corpo lúteo, embora os folículos das ondas continuam a crescer, o hormônio progesterona domina. Nessa fase estão presentes o metaestro e o diestro. O metaestro é o período após o final do estro, onde o folículo amadurece, ovula e o CL começa a se desenvolver, chamado no início de corpo hemorrágico, não respondendo a prostaglandina por falta do desenvolvimento dos receptores específicos desse hormônio, mas já se tem inicio de uma pequena produção de progesterona. Nessa fase, a ovulação ocorre 24-48 horas após o cio, sendo o período do final do cio até o dia 5 do ciclo estral. O diestro é a fase do CL dominante, produzindo progesterona, indo do dia 5 até o dia 17 do ciclo, sendo a única fase em que haverá resposta do organismo a prostaglandina (FERREIRA, 2010).

# 2.3. FATORES QUE INFLUENCIAM NO SUCESSO DA TRANFERÊNCIA DE EMBRIÕES

O controle zootécnico é de extrema importância, pois a TE é um procedimento caro, portanto é de bom agrado a contestação do pedigree dos animais utilizados como doadores, sendo de extrema importância a ausência de distúrbios reprodutivos e um sêmen que tenha boa qualidade, bem como um manejo nutricional, que é responsável por todas as funções do animal, estando intimamente ligado a regulação adequada do ciclo estral na fêmea e a produção espermática do macho (SIMÃO, 2004).

No aspecto sanitário, as doadoras devem ser examinadas clinicamente pelo veterinário credenciado e estrem livres de doenças infectocontagiosas e serem provenientes de rebanhos livres de sinas clínicos de Febre Aftosa ou Estomatites Vesiculares nos 90 dias que antecedem a coleta, também os testes de Tuberculose e Brucelose 30 dias antes da coleta (PARRA *et al*, 2008).

Os procedimentos recomendados para se evitar a transmissão de doenças devem ser: lavar somente embriões de uma única doadora, lavar uma única vez um número menor que 10 embriões, lavar embriões apenas da zona pelúcida intactos, realizar no mínimo 10 lavagens e utilizar pipeta estéril a cada TE entre rebanhos. Ainda se recomenda o uso de antibiótico no meio de lavagem, e o tratamento com tripsina, onde as cinco primeiras lavagens serão com PBS (solução salina tamponada de Fosfato), antibióticos e 0,4% de BSA (albumina sérica bovina), em seguida duas lavagens com tripsina (enzima) a 0,25% durante 60-90 segundos cada. Para finalizar, mais cinco lavagens de PBS, antibióticos e 2% de soro, e de extrema importância o uso de materiais estéreis para todas as etapas (PARRA *et al apud* STRINGFELLOW, 1999).

#### 2.4. ETAPAS DA TRANFERÊNCIA DE EMBRIÕES

Após a seleção da doadora, da receptora e do macho doador do sêmen, se dá início ao processo para transferência. Inicia-se pela ovulação das doadoras, que é o aumento do número fisiológico de ovulações, provocada pela administração de FSH ou eCG (gonadotrofina coriônica equina), tendo o FSH meia-vida mais curta, portanto, administra-se a cada 12 horas por 3 a 4 dias, já o eCG uma dose basta. Após, a fêmea produz e matura vários folículos simultaneamente (HAFEZ, 2004).

Outra etapa é a sincronização do estro das receptoras e doadoras, seja de forma natural ou pela sincronização artificial do cio, para o melhor resultado, a diferença de ciclos entre doadora e receptora não deve variar mais que 12 horas. Para isso, durante o tratamento superovulatório é recomendado a aplicação de prostaglandina nas receptoras 12 horas antes do momento da aplicação nas doadoras, pois as doadoras mostram sinais de estro antes que as receptoras, devido a superovulação induzida (HAFEZ, 2004).

A inseminação artificial das doadoras consiste em dois esquemas básicos. O primeiro, se caracteriza por inseminar o animal a partir da detecção do estro superovulatório, em média 48 a 72 horas após o uso do agente luteolítico, e deverão ser inseminadas 2 a 3 vezes durante o estro, sendo a primeira assim que a doadora mostre os primeiros sinais de estro e as seguintes em intervalos de 8 a 12 horas após a primeira inseminação artificial. O segundo esquema se caracteriza por inseminar a doadora independentemente da detecção desse estro superovulatório, ou seja, em tempo fixo (GONÇALVES *et al*, 2008).

A coleta de embriões se realiza entre o dia 6 e o 8 após a primeira inseminação das doadoras, nesse período os embriões estão flutuando num filme liquido no lúmen da ponta dos cornos uterinos, permitindo a captação pelo método transcervical de lavagem. Os embriões obtidos são em

estágio de mórula ou blastocisto, que estão prontos para transferência imediata, bipartição ou criopreservação (GONÇALVES *et al*, 2008).

Para realização da técnica o animal deve estar devidamente contido evitando riscos tanto para o animal, quanto para o operador. Deve ser feia a correta higienização da vulva, ânus e inserção da calda, em seguida faz-se a anestesia epidural, para promover relaxamento do reto e útero, facilitando passagem da sonda (cateter de foley) através da cérvix, inflando-se o balão localizado na extremidade da sonda com cerca de 10 a 20mL de ar, para fixação da mesma. Inicialmente colocamos um mandril de metal no lúmen da sonda para torna-la rígida (SANTOS, 2011).

O método transcervical com sistema fechado de coleta, impede que o meio de lavagem entre em contato com o ambiente exterior. O meio de lavagem é introduzido e recolhido do corno uterino, através de um sistema composto por dois tubos de plástico flexíveis, sendo que um é o recipiente contendo o meio de coleta e o outro, um filtro para a obtenção dos embriões. Nesse método, o meio de coleta deve ser aquecido em uma temperatura de 25 à 30°C, fluindo por gravidade cerca de 40 a 50 ml através do cateter em direção ao corno uterino, fazendo a lavagem e posteriormente também através do cateter, esse meio volta em direção ao tubo acoplado no filtro, para retenção dos embriões juntamente com 10 a 30 ml de meio. Para isso devemos posicionar o recipiente que contém o meio de coleta cerca de 1 metro acima da garupa do animal (GONCALVES *et al.*, 2008).

## 2.5. QUALIDADE DO EMBRIÃO

A busca dos embriões no liquido restante que ficou no filtro inicia-se após colocar em placas de Petri com diâmetro de 12 cm, então, com auxílio de uma lupa, os embriões são transferidos para outra placa de Petri com 3,5 cm, contendo o PBS (solução salina tamponada de Fosfato) acrescido de BSA (Albumina sérica bovina) para em seguida serem classificados de acordo com a tabela proposta pelo IETS (International Embryo Transfer Society) (Tabela 1) (Figura 1) (figura 2) (STRINGFELLOW; SEIDEL, 1998).

Tabela 1 – Critérios para a avalição dos embriões de acordo com o IETS.

Código da IETS	Avaliação	Características morfológicas
1	Excelente ou bom	Embriões simétricos e esféricos, com blastômeros apresentando tamanho, coloração e densidade uniformes, presença de poucas células de extrusão no espaço perivitelínico, com cerca de 85% do material celular intacto.
II	Regular	Embriões apresentando irregularidades moderadas no formato ou tamanho, na mesma cor e densidade dos blastômeros, no entanto mínimo 50% do material celular devem estar intactos.
Ш	Pobre	Grandes irregularidades no formato ou tamanho do embrião, com alterações evidentes na coloração e densidade dos blastômeros, no mínimo 25% do material celular devem estar intactos.
IV	Degenerado ou não fecundado	Sem forma definida com estágio de desenvolvimento pouco evidente e grande desorganização celular ou oócito não fecundados

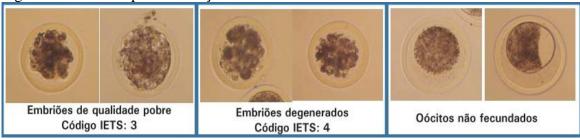
Fonte: Viana (2009).

Figura 1 – Critérios para a avalição dos embriões de acordo com o IETS.



Fonte: Viana (2009).

Figura 2 – Critérios para a avalição dos embriões de acordo com o IETS.



Fonte: Viana (2009).

Após a seleção dos embriões saudáveis, os mesmos devem serem lavados em um meio de cultura, como o objetivo de impedir a transmissão de agentes que possam causar uma infecção. Cada banho deve permitir uma diluição de 1:100 em relação ao banho anterior, utilizando um micropepetador para tal ação (VIANA, 2009).

### 2.6. TRANSFERÊNCIA DO EMBRIÃO

Anteriormente ao processo de transferência, a vaca doadora e receptora deve estar com o cio sincronizado, através do protocolo de inseminação artificial em tempo fixo (IATF), e após classificação entre 1 e 3 segundo os parâmetros do IETS, o embrião deve ser colocado ao centro de uma palheta com meio de cultivo, de forma que o envase seja consistido por uma coluna central com o embrião, separadas das colunas de cultivo das extremidades por duas colunas de ar (GONÇALVES et al, 2008).

Após a seleção dos embriões viáveis para implantação e avaliação da receptora por palpação retal para determinar qual ovário tem o CL. Em seguida, se realiza uma anestesia epidural para restringir movimentação durante o procedimento, e então o animal é higienizado, e a palheta que contém o embrião é colocada em um inovulador, posteriormente deve ser revestida por uma bainha estéril e uma camisa sanitária, afim de se evitar contaminações. Em seguida será introduzido via transcervical sendo que na entrada da cérvix se rompe a camisa sanitária e por eficiente manipulação retal deverá ser guiado até o corno uterino ipsilateral do corpo lúteo cíclico, onde finalmente o embrião deverá ser depositado (HAFEZ, 2004).

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

O presente trabalho utilizou como forma de pesquisa por artigos, livros, publicações em revistas, anuários, comunicados técnicos e manuais através das ferramentas Google e Google Acadêmico. As buscas por palavras chave foram: progênie, reprodução, genética e barriga de aluguel.

# 4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante de todos os argumentos presentes nessa revisão bibliográfica, podemos verificar que a transferência de embriões pode proporcionar resultados bons ou frustrantes, tudo dependera de como os animais estão sendo nutridos, a disponibilidade de mão de obra nas fazendas, a habilidade

e o entendimento técnico de médico veterinário, diante desse fato, é de extrema importância a constante atualização do profissional a respeito do tema, pois novas tecnologias estão sendo constantemente implantadas.

As doadoras utilizadas devem possuir um bom histórico de produção de embriões, em cada protocolo que será realizado, para que futuramente as doses de hormônios utilizados sejam ajustadas, obtendo resultados ainda melhores, o que significa diminuição de custos de produção e maiores lucros, tornando a transferência de embriões cada vez mais prestigiada no cenário nacional.

### REFERÊNCIAS

ALVAREZ, R. H. Fatores determinantes do sucesso de um programa de transferência de embriões em bovinos, 2008.

BURATI, J. Foliculogênese em bovinos. **In: Simpósio internacional de reprodução animal aplicada.** Londrina, 2006. p. 55-62.

FERREIRA, A. M. **Reprodução da Fêmea Bovina**: Fisiologia aplicada e problemas mais comuns (causas e tratamentos). Juiz de Fora, MG: Editar, 2010. p. 420.

GONSALVES, P. B. D; FIGUEIREDO, J. R; FREITAS, V. J. F. **Biotécnicas:** Aplicadas à Reprodução Animal. 2. ed. São Paulo: Roca, 2008. p. 395.

HAFEZ, E.S.E; HAFEZ, B. Reprodução animal. 7. ed. Barueri: Manole, 2004.

OLIVEIRA, M.E.F; FERREIRA, R.M; MINGOTI, G.Z. Controle do crescimento e da seleção folicular por fatores locais e sistêmicos na espécie bovina. **Revista brasileira de reprodução animal**, v.35, n.4, Belo Horizonte. 2011. p. 418 – 432.

PARRA, B. C. PARRA, B. S. ZANGIROLAMI FILHO, D. BUENO, A. P. Aspecto sanitário na transferência de embriões de bovinos. **Revista científica eletrônica de medicina veterinária.** Ano 4, n. 10, janeiro. 2008.

SANTOS, G.M. Curso de transferência de embriões em bovinos. CPT Cursos Presenciais. Apostila. 2011.

SIMÃO, G. Exportação de genética revoluciona o zebu. Anuário DBO, São Paulo, 2004. p. 46.

STRINGFELLOW, D. A.; SEIDEL, S.M. Manual da Sociedade Internacional de Transferência de Embriões. 3º edição. Illinois: IETS, 1998. p. 180.

VIANA, J. H. M. Classificação de embriões bovinos produzidos *in vivo*. **Comunicado técnico.** Juiz de Fora - Minas Gerais, novembro, 2009.