

# ESTUDO DA EVOLUÇÃO DAS BIOTÉCNICAS DE TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES E FERTILIZAÇÃO *IN VITRO* NA RAÇA NELORE NO BRASIL<sup>1</sup>

RENATO TRAVASSOS BELTRAME<sup>2</sup>, CÉLIA RAQUEL QUIRINO<sup>3</sup>, LUIS GUSTAVO BARIONI<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Recebido para publicação 20/11/09. Aceito para publicação em 15/03/2010.

<sup>2</sup>Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias (CCTA), Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF), Rua Itaquari, 300 apto. 901/B, CEP 29101-902, Vila Velha, ES, Brasil. Bolsista do CNPq. E-mail: [rtbeltrame@yahoo.com.br](mailto:rtbeltrame@yahoo.com.br)

<sup>3</sup>CCTA, UENF, Av. Alberto Lamego, 2000, CEP 28.013-600, Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil.

<sup>4</sup>Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Cerrados (EMBRAPA - Cerrados) Rod. Brasília-Fortaleza BR 020 Km 18, CEP 73301-970, Planaltina, DF, Brasil.

**RESUMO:** Arquivos da Associação Brasileira dos Criadores de Zebu foram utilizados para traçar um panorama da evolução das biotécnicas de transferência de embriões e fertilização *in vitro* dos anos de 1997 a 2007 para a raça Nelore no Brasil. Registros de 109.775 coletas de embriões e de 73.121 aspirações foram disponibilizadas para análise. Observou-se a supremacia da técnica de transferência de embriões até o ano de 2004 com posterior crescimento da fertilização *in vitro*. As regiões Sudeste e Centro Oeste se destacaram na execução de ambas as biotécnicas. As médias de embriões viáveis produzidos pelas duas biotécnicas no decorrer dos anos nas regiões do país se encontram próximas as relatadas pela literatura (entre cinco e sete embriões por coleta ou aspiração).

Palavras-chave: banco de dados, biotecnologia, embriões, histórico

## EVOLUTION STUDIES FROM EMBRYO TRANSFER AND *IN VITRO* FERTILIZATION IN NELORE CATTLE AT BRAZIL

**ABSTRACT:** Data from Brazilian Association of Zebu Breeders were used to show the evolution of conventional embryo transfer (ET) and *in vitro* fertilization techniques between 1997 and 2007 for the Nelore cattle in Brazil. Data from 109.775 conventional embryo transfer and 73.121 ovum pick-up (OPU) were used. The embryo transfer supremacy was observed until 2004 when a considerable increase of OPU number over ET occurred. More ET and OPU were carried out in Southeast and Mid-West than in others Brazilian regions. The average number of viable embryo along the analysis period is close to that reported by literature (between 5 and 7 embryos per flushing or OPU session).

Key words: data bank, biotechnology, embryo, historic

## INTRODUÇÃO

Nos últimos 25 anos uma série de descobertas ocorridas em relação aos aspectos da fisiologia da reprodução em bovinos possibilitou o desenvolvimento de tecnologias capazes de aumentar a velocidade e a eficiência da disseminação do material genético de fêmeas zootecnicamente superiores (CHRISTIANSEN, 1991), promovendo assim uma maior

contribuição das mesmas para o melhoramento genético da espécie (FORTUNE *et al.*, 1991; GINTHER *et al.*, 1997).

Neste período, o impacto econômico para a pecuária foi significativo em termos de evolução genética e produção de carne bovina. Novas biotecnologias surgiram e foram incorporadas modificando um conceito único de transferência de

embriões (TE) antigamente restrito à produção de embriões por superovulação convencional, ou *in vivo* (VIANA e CAMARGO 2007). Neste contexto, a raça Nelore responde por mais de 70 % das atividades envolvendo tais biotecnologias.

Mais recentemente, a revolução observada pelo uso da técnica de produção de embriões em laboratório, conhecida como fertilização *in vitro* (FIV), somada ao desempenho da TE produzidos *in vivo* elevou o país a maior produtor mundial de embriões bovinos e a condição de exportador desta biotecnologia (VIANA e CAMARGO, 2007). Contudo, mesmo diante de toda evolução tecnológica, a eficiência dos índices produtivos e reprodutivos resultantes destas ferramentas em bovinos parecem não ter sofrido modificações nos últimos anos (BELTRAME 2006).

O objetivo deste trabalho foi estudar a evolução e o panorama da produção de embriões *in vivo* e *in vitro* na raça Nelore a partir de registros obtidos da Associação Brasileira de Criadores de Zebu (ABCZ) entre os anos de 1997 e 2007.

## MATERIAIS E MÉTODOS

O presente trabalho tomou por base arquivos de dados concedidos pela ABCZ relativo à TE e FIV em doadoras da raça Nelore.

Foi utilizada uma base de dados com arquivos eletrônicos em formato "txt", contendo dados de embriões FIV e TE apresentando na linha, o evento, e nas colunas a seguinte padronização: código da doadora; código do touro; UF da fazenda; data da aspiração / coleta; data da transferência; embriões produzidos; embriões transferidos e embriões perdidos.

As informações foram organizadas em planilhas do Microsoft Excel 2003 e a partir deste ponto foram analisadas através da ferramenta SAS (1999). Registros de 109.775 coletas de embriões e 73.121 aspirações foram disponibilizadas pela ABCZ. Destes registros foram utilizados para o estudo as TE realizadas entre os anos de 1997 à 2007 e as aspirações realizadas entre os anos de 2002 à 2007. Registros das cinco regiões do Brasil (Centro-Oeste, Norte, Nordeste, Sul e Sudeste) foram estudados.

Foram retiradas da análise as aspirações e TE onde o número de embriões obtidos e/ou perdidos

informados eram superiores a 30 e os que apresentavam datas do procedimento inconsistentes e/ou inexistentes.

A aplicação da restrição resultou em um banco de dados de FIV com 71.013 aspirações e 490.849 embriões. Para TE o banco foi composto por 108.327 coletas e 765.094 embriões.

Foi realizada a análise de variância do número de embriões viáveis para verificar os efeitos fixos de ano, região e a interação entre ambos. O teste SNK foi realizado para verificar se existiam diferenças entre as médias do número de embriões (Proc GLM - SAS, 1999). Não houve interação ano x região e, portanto foi excluída da análise final dos dados.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

No final dos anos 90 a TE foi pioneira na disseminação de genética nos rebanhos zebuínos no Brasil. Durante o período de 1997 a 2007 foram comunicadas 108.327 coletas de embriões na raça Nelore no país. Ao final do ano de 1997 haviam sido comunicadas 640 coletas de embriões na raça Nelore no país. Posteriormente, instituições privadas, públicas e profissionais de biotecnologia da reprodução animal contribuíram para que em 2004 fosse verificado um crescimento vertiginoso desta biotecnologia, que foi de aproximadamente 4000% em relação às coletas de embriões realizadas no ano de 1997 (Figura 1). Pode-se observar que 26.271 coletas de embriões foram realizadas somente no ano de 2004.

Ao estudar a evolução destas biotecnologias nas diferentes regiões do Brasil, verificou-se que a disseminação da técnica de TE para produção de embriões *in vivo* concentrou-se nos estados do Sudeste e Centro-Oeste (Figura 2). Seja devido à localização, à maior concentração de profissionais, à maior aporte genético ou mesmo decorrente de massivo trabalho publicitário, no ano de 2004 os Estados do Sudeste e Centro-Oeste foram os responsáveis por aproximadamente 77,8% de todos os embriões coletados *in vivo* (Tabela 1).

O número total de embriões recuperados a partir da TE na raça Nelore merece destaque. De 1997 a 2007 aproximadamente 765.094 embriões viáveis foram obtidos. Os estados do Sudeste e Centro-Oeste se destacaram na produção, como pode ser observado na Tabela 1.

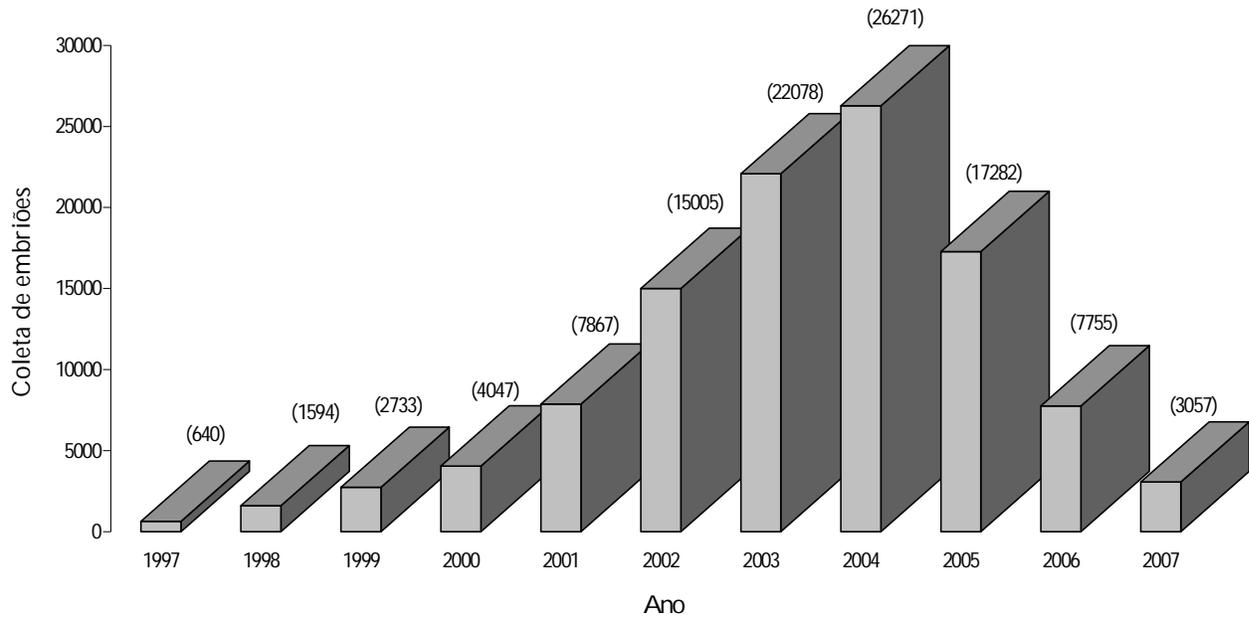


Figura 1. Número de coletas de embriões (entre parêntesis) na raça Nelore comunicadas à Associação Brasileira de Criadores de Zebu

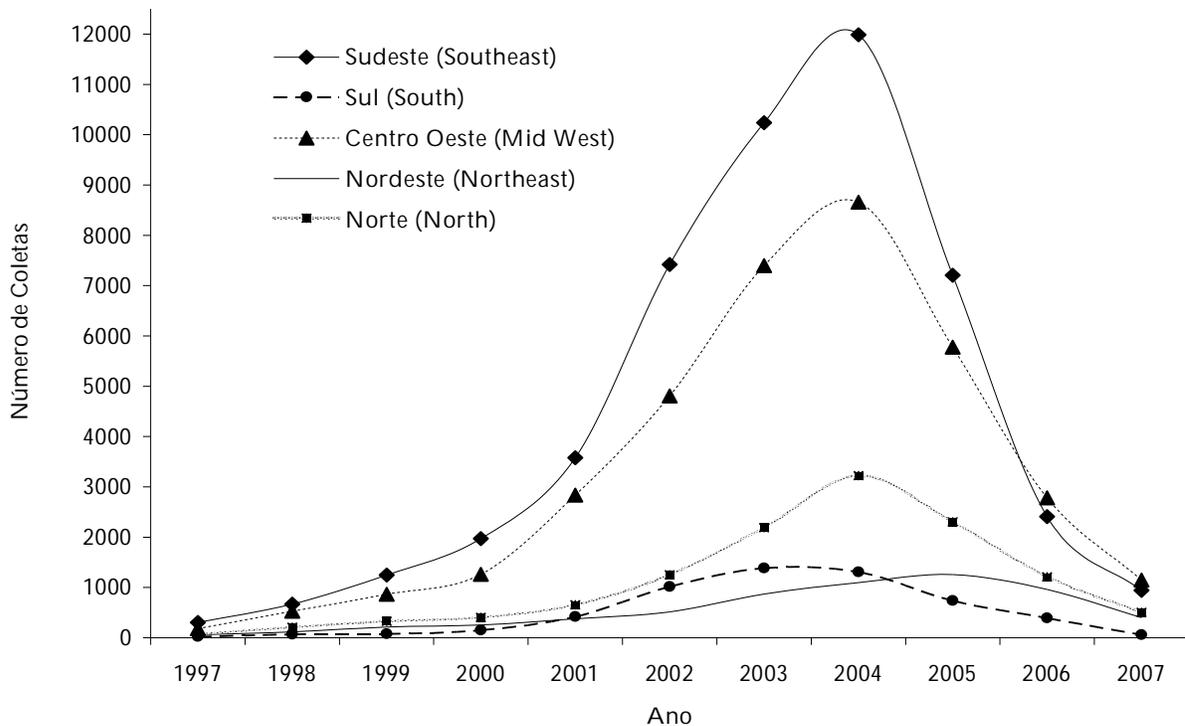


Figura 2. Distribuição do número de coletas de embriões em regiões do Brasil na raça Nelore

**Tabela 1. Número total e médias de embriões obtidos por coleta nas diferentes regiões do Brasil de 1997 a 2007 através da transferência de embriões**

Regiões	Sudeste	Sul	C. Oeste	Nordeste	Norte	Geral
NTEOC	338.407	35.432	249.804	46.485	94.966	765094
Media	7,05 ±	6,28 ± 5,1b	6,90 ± 5,4c	7,58 ± 5,6d	7,6 ± 5,8d	6,55

Medias seguidas de letras diferentes diferem significativamente ( $p < 0,05$ ).

NTEOC- Número total de embriões viáveis obtidos por coleta.

A média de embriões produzidos por Região este teve entre 6,28 e 7,6 embriões. Produções similares são apresentadas nos trabalhos de Reincheinbach (2003) onde uma estimativa mundial de seis embriões foi apresentada e em BARUSELLI *et al.*, (2006) que avaliou protocolos de superovulação, produção e qualidade embrionária para doadoras Nelore e obteve em media de 6,2.

Ao comparar as regiões, fatores que expliquem as variações dos resultados da produção embrionária são de difícil determinação. Diversos autores citam a genética, idade, temperatura, estresse, raça, condição corporal, habilidade do técnico, como fatores que potencialmente podem influenciar o resultado da técnica (SLENNING *et al.*, 1989; GALLI *et al.* 2003; NASSER *et al.* 2004; FERREIRA *et al.*, 2006; LOONEY *et al.*, 2006; CARVALHO *et al.*, 2008; CHEBEL *et al.* 2008; JONES e LAMB 2008).

Como o número de embriões viáveis recuperados e o alto desvio padrão encontrado apresentaram valores muito próximos sugere-se que as variações nesta variável sejam naturais e inerentes ao processo biológico da TE (BARIONI *et al.*, 2007; BELTRAME *et al.*, 2007). Uma avaliação mais específica dentro de uma propriedade considerando a linhagem genética, época do ano e idade dos animais, dentre outros, poderia inferir o comportamento da produção de embriões para esta propriedade (BARIONI *et al.*, 2007; BELTRAME *et al.*, 2007).

Uma mudança no mercado da biotecnologia nacional com retração no número de coletas de embriões realizadas no país fica evidente a partir do ano de 2004 (Figura 1). Embora neste período uma série de problemas econômicos e sanitários (focos de febre aftosa) tenha ocorrido, esta retração decorre principalmente do avanço da técnica de fertilização *in vitro* no país.

De 2002 em diante expandia-se a técnica de FIV no país. Uma análise histórica da técnica de produ-

ção de embriões *in vitro* através dos anos na raça Nelore (Figura 3) mostra um vertiginoso crescimento a partir do ano 2004. Subsidiados por uma maior velocidade de avanço de resultados e sob uma perspectiva de menores custos, muitos produtores passaram a não utilizar a produção de embriões *in vivo*. Aliado a isso, a facilidade no procedimento de recuperação dos oócitos, quando comparada a TE, também contribuiu para tornar a FIV mais competitiva e mais executada (VIANA e CAMARGO, 2007). Muitas empresas de fertilização *in vitro* de embriões foram criadas em pouco mais de quatro anos tendo somente em 2006 sido comunicadas 21.439 aspirações na raça nelore. Já no ano de 2007 verificou-se uma diminuição do número de aspirações realizadas.

A possibilidade de produção de um maior número de prenhez em um menor intervalo de tempo foi responsável, já no ano de 2005, pela contenção dos números de realização de TE em contraste a crescente aplicação da FIV nos cenários dominados por leilões, exposições, marketing e especulações acerca do mercado de elite bovina. Fortunas foram disponibilizadas por animais de genética superior.

Seguindo os passos da transferência de embriões convencional, os estados do Sudeste e Centro-Oeste se destacaram no número de comunicações de aspirações realizadas como demonstrado na Figura 4.

O número de embriões produzidos em laboratório seguiu o mesmo caminho conforme pode ser observado na Tabela 2. É interessante destacar que a produção de embriões em laboratório nos estados do Sul, Nordeste e Norte apresentou médias inferiores aos estados do Sudeste e Centro-Oeste. Embora os valores não se distanciem em muito da literatura consultada (PONTES *et al.*, 2009), as diferenças apresentadas podem ser decorrentes de uma maior seleção dos animais nas regiões, melhor processo de produção pelas fazendas e pelos laboratórios ou ainda em menor grau, devido a um menor número de observações informados nesses estados.

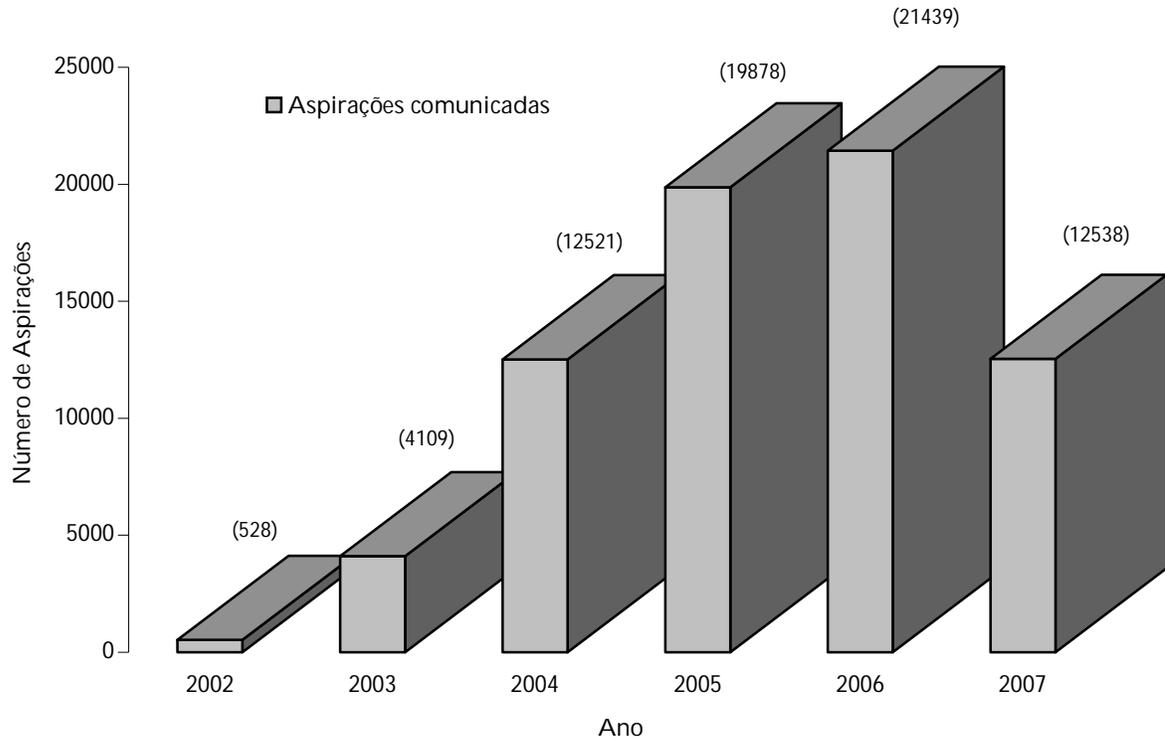


Figura 3. Número de aspirações (entre parêntesis) realizadas em doadoras da raça Nelore de 2002 à 2007 no Brasil

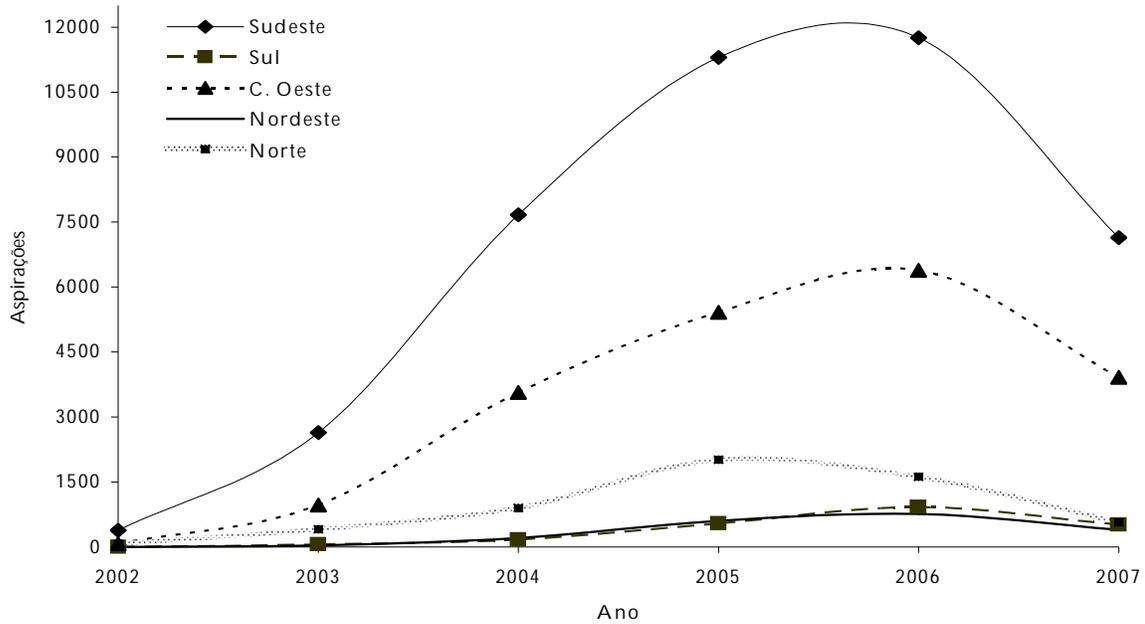


Figura 4. Número de aspirações realizadas nas regiões brasileiras de 2002 à 2007 na raça Nelore

**Tabela 2. Número total e médias de embriões obtidos nas diferentes regiões de 1997 a 2007 - através da técnica de FIV**

Região	Sudeste	Sul	C. Oeste	Nordeste	Norte	Total
NTEV	301.503	12.789	133.542	10.613	32.402	490.849
Media	7,37 ± 6,13a	5,79 ± 5,22b	6,57 ± 5,72c	5,29 ± 5,05d	5,8 ± 5,65b	6,9

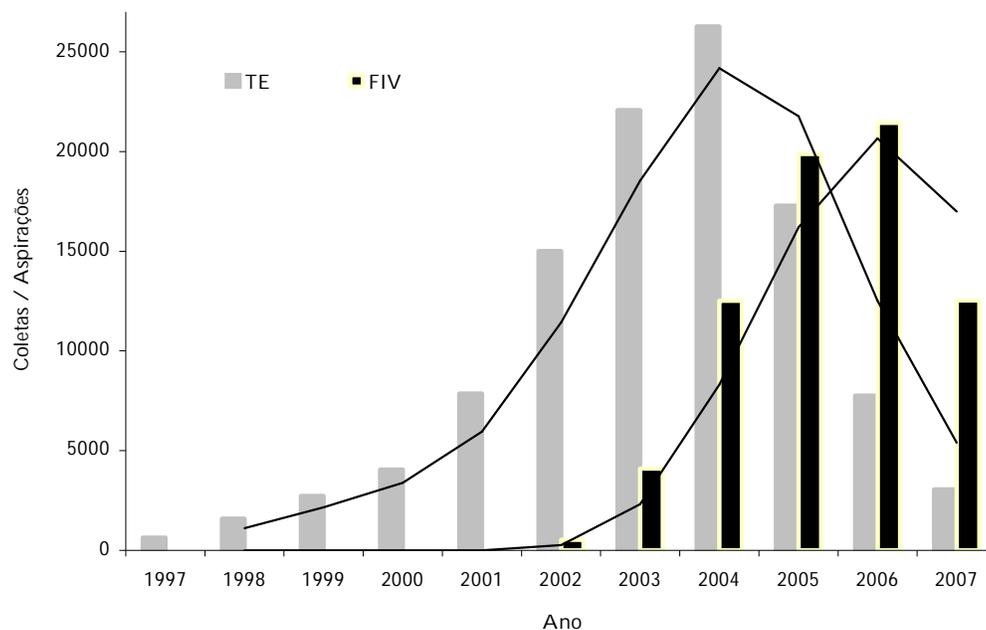
Medias seguidas de letras diferentes diferem significativamente ( $p < 0,05$ ).  
NTEVOA- Número total de embriões viáveis.

Ao comparar as Tabelas 1 e 2 com relação ao número de embriões viáveis obtidos, não se observaram grandes discrepâncias entre as técnicas utilizadas. Embora muito se tenha evoluído nos últimos dez anos nas áreas da fisiologia e reprodução animal, poucas modificações ocorreram na média do número de embriões viáveis produzidos por doadoras nas técnicas estudadas. Estes números normalmente se encontram entre 5 e 7 embriões produzidos por coleta e/ou por aspiração.

Números similares são apresentados nos estudos já descritos de REICHENBACH (2003) com registros mundiais de seis embriões, MERTON *et al* (2003) comparando produção embrionária em vacas (5,4 + 0,5) e novilhas (4,0 + 0,4) de diversas raças e VISINTIN *et al* (1999) com cinco embriões trabalhando com novilhas Nelore. SLENNING *et al* (1989), analisando 39 estudos publicados relatou média e desvio padrão 4,4 + 2,8. Já BARUSELLI *et al* (2006) descrevem produções variáveis com máximo de 9,8 + 0,9 na raça Nelore. Em comum, todos os autores afirmam que a variabilidade

de respostas em termos de embriões viáveis existe mesmo diante de situações ideais e similares de trabalho.

A Figura 5 apresenta uma comparação entre a evolução das biotécnicas de TE e FIV. Percebe-se claramente o momento de desenvolvimento e crescimento das tecnologias e seus respectivos momentos de contração. Também uma preferência pela técnica de FIV fica evidenciada a partir do ano de 2005 devido a uma maior velocidade de multiplicação da produção. No ano de 2007, observou-se uma retração ou redução no crescimento do número das FIV's realizadas, acompanhando a tendência já observada nos anos de 2005 e 2006 na técnica de TE. É importante destacar que os motivos dessa retração são diferentes entre as biotécnicas. No caso da TE sugere-se que a retração foi devida a supremacia da técnica de FIV, enquanto na biotécnica de FIV esta pode ter decorrido de alterações e dificuldades nos cenários agropecuários.

**Figura 5. Comparação entre Transferência de Embriões e Fertilização *in vitro* de 1997 a 2007 na raça Nelore no Brasil**

Em contraste a outros países, onde existe uma limitação para a produção de embriões *in vitro*, restrito às doadoras que não respondam a superovulação tradicional, no Brasil os entraves à produção de embriões *in vitro* não são evidentes. A idéia de execução das técnicas *in vitro* e *in vivo* de forma conjunta, exibida por alguns trabalhos (FARIN *et al*, 1999; PONTES *et al*, 2009), não é representada numericamente em território nacional, já que ocorreu uma inversão numérica no total de coletas de embriões e aspirações no período analisado no país.

Outro fator a considerar foi que a modificação no mercado de trabalho associado à transferência de embriões acompanhou as mudanças decorrentes do avanço da FIV. Nas diferentes regiões do país observou-se uma necessidade de terceirização dos procedimentos de aspiração folicular e transferência propriamente dita, antes fornecidas somente pelos laboratórios. Visualizou-se, também, a migração de muitos profissionais exclusivos da TE que foram incorporados à rotina das diversas etapas da FIV. A concentração de ações características da produção *in vivo* de embriões foi substituída pela associação de diversos profissionais em um mesmo processo, com maior grau de especialização e necessidade de maior controle em cada atividade.

A predição futura ainda é incerta. Em 2008 e 2009 embora dados não tenham sido analisados, o cenário nacional mostrou sucessivos momentos de crise na agropecuária. Estas situações podem ser sugestivas de estagnação ou mesmo decréscimo das biotécnicas realizadas.

## CONCLUSÃO

Até 2004 prevaleceu a biotécnica de TE. A partir de 2005 foi mais utilizada a FIV.

Ocorreu uma transformação na escolha pela biotécnica utilizada no cenário nacional entre os anos de 1997 e 2007.

Não houve alterações na produção média de embriões ao longo do período estudado para ambas biotécnicas.

As regiões Sudeste e Centro-Oeste se destacaram na execução de ambas biotécnicas.

## AGRADECIMENTOS

À ABCZ em nome do Sr. Carlos Henrique Cavallari, pela concessão dos dados deste trabalho e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de estudo de Renato Travassos Beltrame.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARIONI, L.G. et al. Modelos determinista e estocástico em programas de transferência de embriões em bovinos. **Archivos Latinoamericanos de Producción Animal**, v. 15, p.107-113, 2007.
- BARUSELLI, P.S. et al. Superovulation and embryo transfer in *Bos indicus* cattle. **Theriogenology**, v. 65, n. 1, p. 77-88, 2006.
- BELTRAME, R.T. **Simulação bioeconômica da transferência de embriões em bovinos da raça Nelore**. 2006. 86f. Dissertação (Mestrado), Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF), Campos dos Goytacazes, 2006.
- BELTRAME, R.T. et al. Economic optimization of the number of recipients in bovine embryo transfer programs. **Scientia Agricola**, v. 64, p.221-226, 2007.
- CARVALHO, J. B. P. et al. Effect of early luteolysis in progesterone-based timed AI protocols in *Bos indicus*, *Bos indicus* × *Bos taurus*, and *Bos taurus* heifers. **Theriogenology**, v. 69, p.167-175, 2008.
- CHEBEL, R.C.; DEMETRIO, D.G.B.; METZGER, J. Factors affecting success of embryo collection and transfer in large dairy herds. **Theriogenology**, v. 69, p. 98-106, 2008.
- CHRISTIANSEN, L.G. Use of embryo transfer in future cattle breeding schemes. **Theriogenology**, v. 35, p.141-149, 1991.
- FARIN, P.W.; SLENNING, B.D.; BRITT, J.H. Estimates of pregnancy outcomes based on selection of bovine embryos produced *in vivo* or *in vitro*. **Theriogenology**, v. 52, p.659-670, 1999.
- FERREIRA, R.M. et al. Effect of synchronizing ovulation in cattle administered a norgestomet ear implant in association with eCG and estradiol treatments on pregnancy rate after fixed-time embryo transfer. **Animal Reproduction**, v. 3, p. 370-375, 2006.
- FORTUNE, J.E. et al. Follicle selection in domestic ruminants. **Journal of Reproduction Fertility**, v. 43, p.187-198, 1991.

- GALLI, C. et al. Bovine embryo technologies. **Theriogenology**, v. 59, p.599-616, 2003.
- GINTHER, O.J. et al. Emergence and deviation of follicles during the development of follicular waves in cattle. **Theriogenology**, v. 48, p.75-87, 1997.
- JONES, A.L.; LAMB, G.C. Nutrition, synchronization, and management of beef embryo transfer recipients. **Theriogenology**, v. 69, p.107-115, 2008.
- LOONEY, C. R. et al. Improving fertility in beef cow recipients. **Theriogenology**, v. 65, n.1, p. 201-209, 2006.
- MERTON, J. S. et al. Factors affecting oocyte quality and quantity in commercial application of embryo technologies in the cattle breeding industry. **Theriogenology**, v. 59, n.2, p. 651-674, 2003.
- NASSER, L.F. et al. Comparison of four synchronization protocols for fixed-time bovine embryo transfer in *Bos indicus* \_ *Bos taurus* recipients. **Theriogenology**, v. 62, p.1577-1584, 2004.
- PONTES, J. H. F. et al. Comparison of embryo yield and pregnancy rate between in vivo and in vitro methods in the same Nelore (*Bos indicus*) donor cows. **Theriogenology**, v. 71, n.4, p. 690-697, 2009.
- REICHENBACH, H.D, Avanços na superovulação, transferência, sexagem e criopreservação de embriões bovinos. In: REUNIÃO ANUAL DA SBTE, 27., Ceará, 2003. **Anais...**Ceará: SBTE, 2003.
- SLENNING, B. D.; WHEELER, M.B. Risk evaluation for bovine embryo transfer services using computer simulation and economic decision theory. **Theriogenology**, v. 31, n.3, p.653-673, 1989.
- VIANA, J.H.M.; CAMARGO, L.S.A. A produção de embriões bovinos no Brasil: Uma nova realidade. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 35, p.915-924, Suplemento 3, 2007.
- VISINTIN, J.A. et al. Superovulação de novilhas da raça Nelore com diferentes doses de FSH/LH e congelação de embriões pelo método one-step com etilenoglicol. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 36, n.5, 1999.