

Repetibilidade da resposta superovulatória em vacas da raça Holandesa

(Repeatability of the superovulatory responses in Holstein cows)

H. Tonhati¹, R.B. Lôbo²

¹Depto de Melhoramento Genético Animal - UNESP
14870-000 - Jaboticabal, SP

²Depto de Genética e Matemática Aplicada à Biologia - Fac. Medicina de Ribeirão Preto

RESUMO

Utilizaram-se 486 superovulações e respectivas colheitas de embriões em 94 vacas de uma fazenda particular, com o objetivo de estimar a repetibilidade do número de embriões viáveis em vacas da raça Holandesa, e estudar os fatores ambientais que afetam o número de estruturas totais, viáveis, inviáveis e óvulos e suas correlações. Observou-se efeito significativo ($P < 0,01$) do ano sobre as características consideradas. Ordem da superovulação afetou somente o número de estruturas totais ($P < 0,01$) e embriões inviáveis ($P < 0,05$). A estimativa de repetibilidade para número de embriões viáveis foi de 0,28 e as correlações entre número de estruturas totais com número de óvulos e embriões viáveis foram de 0,51 e 0,73, respectivamente.

Palavras-chaves: Embrião, raça Holandesa

ABSTRACT

The purpose of this study was to estimate the repeatability of transferable embryos in Holstein cows and to evaluate the effects of the year, season and order of the superovulation on the number of total structures, transferable embryos, non-transferable embryos and ovules. Four hundred and eighty-six superovulations were used in the analysis. The year of superovulation affected significantly all traits ($P < 0.01$); however, we did not find effects of the season of the year. Superovulation order affected the total

structures ($P<0.01$) and non-transferable embryos ($P<0.05$). The repeatability of the transferable embryo was 0.28 ± 0.05 . Positive correlations were found among total structures and transferable embryos (0.73) and total structure and ovule (0.51).

Keywords: Embryo, Holstein cows

INTRODUÇÃO

Desde que Villet et al., (1951) comunicaram a primeira transferência de embriões em bovinos, o desenvolvimento de novas drogas e metodologias possibilitaram a utilização comercial dessas técnicas como instrumento para aumento da taxa reprodutiva das fêmeas superiores. O sucesso desses programas estão diretamente ligados ao número de embriões viáveis que são produzidos a cada ciclo superovulatório e segundo Armstrong (1993), a imprevisibilidade da resposta aos tratamentos com gonadotrofinas exógenas assim como o alto número de embriões inviáveis resultantes das falhas de fertilização ou degeneração são fatores que causam problemas no planejamento, além de contribuírem para a elevação dos custos nos programas de transferência de embriões.

Vários autores estudando as causas que afetam a produção de embriões viáveis (Bastidas & Randel, 1987a, b; Moraes, 1990; Totey, et al. 1991), mostraram resultados contraditórios sobre os efeitos da estação e ano de colheita, idade da vaca ou ordem de superovulação.

Existem evidências de que as vacas previamente superovuladas não respondem da mesma maneira que as primíparas. Hawk (1988) infere que a redução da eficiência dos espermatozoides pode diminuir a taxa de fertilização em torno de 20% com a estimulação, em função de uma aparente inibição de transporte de espermatozoides em vacas previamente ovuladas, como consequência das alterações nos padrões de secreção de hormônios esteróides. Outra hipótese é que, após a primeira estimulação, há uma quebra de sincronismo desde a formação de oócitos até a maturação folicular (Callesen et al., 1987; Loos, 1991), com reflexos no número de estruturas não fecundadas ou degeneradas.

Mais recentemente, nota-se maior interesse em se conhecerem os efeitos genéticos ligados à capacidade das vacas para a produção de embriões. Na hipótese de que haja razoável variação genética entre os indivíduos, poder-se-ia indicar a seleção das melhores fêmeas ou famílias, como forma de aumentar a eficiência nesta característica. Na literatura, as estimativas de repetibilidade do

número de embriões viáveis variou de 0,06 a 0,35 (Lamberson & Lamberth, 1986; Bastidas & Randel 1987b; Wichman 1990) indicando que, no máximo, 35% das diferenças na capacidade de produzir embriões transferíveis entre indivíduos são de origem genética. O objetivo do presente trabalho foi estudar a variação do número de embriões viáveis e associa-la ao número de estruturas totais, óvulos e estruturas degeneradas assim como estudar os fatores ambientais que atuam sobre essas características.

MATERIAL E MÉTODOS

As informações utilizadas no presente trabalho foram provenientes do arquivo zootécnico da Fazenda Fortaleza, Município de Nova Odessa, SP, onde mantinham-se animais de alta produção leiteira. O rebanho recebia bom manejo nutricional e sanitário. As novilhas e vacas eram alimentadas no cocho com silagem de milho, aveia ou alfafa e concentrado à base de farelo de soja e algodão. Os animais recebiam sal mineralizado regularmente e dispunham de piquetes com "coast-cross" (*Cynodon dactylon* L. Pers) para pastejo e exercícios.

Foram tabuladas 486 superovulações e respectivas colheitas de embriões, realizadas em 94 vacas, que continham as informações referentes ao número de estruturas totais (ET), embriões transferíveis (EV), embriões inviáveis (EI) e óvulos (OV). Esses arquivos dispunham ainda das datas de superovulações e colheita dos embriões e os tipos de hormônios utilizados.

Os dados foram analisados pelo método dos quadrados mínimos de acordo com os procedimentos desenvolvidos por Harvey (1990), adotando-se o seguinte modelo estatístico:

$$Y_{ijklm} = \mu + n_i + E_j + A_k + H_l + OS_m + e_{ijklm},$$

onde:

Y_{ijklm} = variáveis dependentes (ET, EV, EI, OV)

μ = média geral

n_i = efeito aleatório da i -ésima vaca (1,...,94)

E_j = efeito fixo da j -ésima estação (1- janeiro, fevereiro e março; 2 - abril, maio e junho; 3 - julho, agosto e setembro; 4 - outubro, novembro e dezembro)

A_k = efeito fixo do k -ésimo ano (1982,...,1991)

H_1 = efeito fixo do l -ésimo hormônio utilizado (1 - FSH, 2 - PSMG)
 OS_m = efeito fixo da m -ésima ordem de superovulação (1,..., 12 e >12)
 e_{ijklm} = erro aleatório assumido normalmente e independentemente distribuído com média igual a zero e variância igual a σ^2 .

Estimaram-se as correlações fenotípicas (Pearson) entre as características consideradas e o coeficiente de repetibilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As médias do número de estruturas totais, embriões viáveis, embriões inviáveis e óvulos foram de $5,12 \pm 3,54$; $2,83 \pm 2,71$; $0,75 \pm 1,28$ e $1,55 \pm 2,72$, respectivamente. A média de embriões viáveis observada situa-se entre as citadas na literatura e parece ser razoável no sentido de contribuir para o aumento do número de descendentes das reprodutoras utilizadas nos programas de superovulação. A comparação dos resultados das colheitas de embriões em bovinos é bastante difícil em frente do número de variáveis envolvidas, incluindo as possíveis diferenças entre as raças e dentro delas quanto a sensibilidade às gonadotrofinas e na eficiência da colheita dos embriões. Os altos erros-padrão observados indicam a existência de grande variabilidade nas respostas individuais ao tratamento superovulatório.

Os resultados da análise de variância de acordo com o modelo adotado são apresentados na Tab. 1.

Tabela 1. Resumo da análise de variância pelo método dos quadrados mínimos.

Causas da variação	QM				
	GL	ET	EV	EI	OV
Vaca	93	28,09**	20,69**	2,29**	7,54 ^{NS}
Estação	3	16,57 ^{NS}	4,49 ^{NS}	1,46 ^{NS}	4,20 ^{NS}
Ano	9	34,47**	15,54*	5,03**	21,09**
Hormônio	1	0,66 ^{NS}	0,45 ^{NS}	0,02 ^{NS}	1,67 ^{NS}
Ordem superovulação	12	32,92**	11,05 ^{NS}	3,36*	6,89 ^{NS}
Resíduo	367	11,66	7,12	1,55	7,15

O efeito significativo ($P < 0,01$) de vaca sobre os números de ET, EV e EI evidenciam que as reprodutoras se diferenciam entre si, causando variação no

número dessas estruturas. A estação da superovulação e colheita não afetou as características estudadas. Contrariamente às observações deste estudo, Bastidas & Randel (1987b) e Totey et al. (1991) observaram em vacas da raça Brahman, que o número de embriões viáveis foi mais baixo nos meses de inverno. No entanto, Wichiman (1990) trabalhando em região de clima temperado não observou esta diferença. Para condições de criação no Brasil, Moraes (1990) mostrou que o número de embriões viáveis não sofreu efeito significativo das estações do ano, tanto para os zebuínos quanto para os taurinos. Embora o resultado do presente trabalho não tenha revelado influência da estação sobre as variáveis analisadas, há necessidade de se compreender melhor a possível interferência de fatores como luminosidade e temperatura, suplementação alimentar e oferta de forragens verdes nas características reprodutivas dos bovinos.

O ano de colheita afetou todas as variáveis estudadas indicando possíveis variações nos procedimentos superovulatórios.

Nos dados de literatura (Armstrong, 1993), verifica-se que em alguns trabalhos as preparações hormonais influenciaram tanto o número quanto a qualidade das estruturas. O presente estudo pouco acrescenta para esclarecer este fato, uma vez que a amostra dos dados é bastante desbalanceada, apresentando 458 superovulações com FSH e 31 com PSMG.

A ordem de superovulação influenciou o número de estruturas totais e embriões inviáveis, Tab. 2.

O resultado encontrado para número de embriões inviáveis (Tab. 2), suporta as teorias anteriormente discutidas sobre a quebra de sincronismos no ciclo ovulatório (Callesen et al., 1987; Loos et al., 1991) e dificuldades no transporte dos gametas masculinos no aparelho reprodutor da doadora (Hawk, 1988). Observa-se que a repetição das superovulações causa aumento do número de estruturas degeneradas.

O número de estruturas totais foi significativo ($P < 0,01$) e positivamente correlacionado com o número de embriões viáveis e óvulos, (Tab. 3), indicando que as doadoras que produziram grande número de estrutura possivelmente deixaram maior número de descendentes no rebanho, apesar de terem também produzido mais estruturas não fecundadas.

Tabela 2. Médias de estruturas totais e embriões inviáveis em função da ordem de superovulação.

Superovulação	n	Estruturas totais	Embriões inviáveis
1	94	4,23	0,30
2	88	4,82	0,45
3	60	4,83	0,59
4	45	5,67	0,91
5	39	6,66	0,68
6	36	8,50	1,34
7	33	7,24	1,80
8	24	7,61	1,32
9	19	7,19	1,43
10	13	6,28	1,82
11	12	6,17	1,61
12	09	8,03	1,83
≥13	14	6,31	1,55

Tabela 3. Correlações fenotípicas entre as características estruturas totais, embriões viáveis, embriões inviáveis e óvulos.

Características	Coefficiente de correlação
estruturas totais x embriões viáveis	0,73
estruturas totais x embriões inviáveis	0,33
estruturas totais x óvulos	0,51
embriões viáveis x embriões inviáveis	0,14
embriões viáveis x óvulos	- 0,12
embriões inviáveis x óvulos	- 0,14

A estimativa do coeficiente de repetibilidade obtida por correlação intraclasse para o número de embriões viáveis foi igual a $0,28 \pm 0,05$. Autores como Lamberson & Lambeth (1986); Bastidas & Randel (1987_b); e Wichman (1990), observaram valores que variaram de 0,11 a 0,35.

CONCLUSÕES

Desse modo, concluiu-se que a estimativa de repetibilidade do número de embriões produzidos em cada superovulação sugere que a seleção baseada no desempenho anterior deve ser cautelosa, dadas as diferenças fenotípicas entre vacas.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Médico Veterinário Roberto Jorge Chebel (*In memoriam*) pela cessão dos dados deste estudo, destacando a valiosa contribuição do seu trabalho no desenvolvimento das técnicas de superovulação e transferência de embriões em nosso país.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARMSTRONG, D. T. Recent advances in superovulation of cattle. *Theriogenology*, v. 39, p.7-24, 1993.
- BASTIDAS, P. R., RANDEL, R. D. Effects on repeated superovulation and flushing on reproductive performance of *Bos indicus* cows. *Theriogenology*, v.28, p.827-835, 1987b.
- BASTIDAS, P. R., RANDEL, R. D. Seasonal effects on embryo transfer results in brahman cows. *Theriogenology*, v.28, p.531-540, 1987b.
- CALLESEN, H., GREVE, T., HYTTEL, P. Premature ovulations superovulated cattle. *Theriogenology*, v. 28, p.155-166, 1987.
- HARVEY, W. R. User's guide for LSMLMW Least Squares Model and Maximum Likelihood Computer Program. Ohio: Ohio State University, 1990. 55p.
- HAWK, H. M. Gamete transport in the superovulated cow. *Theriogenology*, v.29, p. 125-142, 1988
- LAMBERSON, W.R., LAMBERTH, V.A. Repeatability of response to superovulation in Brangus cows. *Theriogenology*, v.26, p.643-648, 1986.
- LOOS, F.A.M., BEVERS, M.M., DIELEMAN, S.J., et al. Follicular and oocyte maturation in cows treated for superovulation. *Theriogenology*, v.35, p.537-546, 1991
- MORAES, G.V. Avaliação quali-quantitativa da transferência de embriões em bovinos. Jaboticabal: FCAV/UNESP, 1990. 170p. Tese (Doutorado em Produção Animal)
- TOTEY, S.M., SINGH, G., TANEJA, M., et al. Effect of season on superovulation and embryo recovery in Sahiwal and crosses of Holstein x Sahiwal donor cows. *Indian J. An. Reprod.*, v. 12, p. 179-181, 1991.

- VILLET, E.L., BLACK, W.G., CASIDA, L.E. et al. Successful transplantation of a fertilized bovine ovum. *Science*. v.113, p.247, 1951.
- WICHMANN, V. Investigations of environmental and genetic effects on the suitability of donor cows for embryo transfer., Hannover: Tierärztliche Hochschule Hannover, 1990. 97p. Thesis.