

CARACTERÍSTICAS E TAXA DE RECUPERAÇÃO EMBRIONÁRIAS EM FUNÇÃO DA IDADE DO EMBRIÃO EM JUMENTAS DA RAÇA PÊGA

Kamilla Dias Paes Silva¹, Pedro Gama Ker², Maria Gazzinelli
Neves³, Cristian Silva Teixeira⁴, Lorraine Marcele Lopes da
Costa⁵, Thiago Vieira e Silva⁶

Resumo: O Brasil é o maior produtor de embriões equinos do mundo. Contudo, a aplicação dos protocolos de transferência de embriões (TE) em jumentas não tem revelado bons resultados, necessitando de mais estudos acerca do emprego dessa biotécnica nesta espécie. O objetivo desse estudo foi analisar o efeito do dia do lavado sobre as características e a taxa de recuperação embrionárias em jumentas da raça Pêga. Foram utilizadas seis jumentas, as quais foram inseminadas com sêmen de um mesmo jumento para obtenção dos embriões. Estes foram coletados por lavagem intrauterina nos dias 7, 8 e 9 pós-ovulação, totalizando em 90 embriões, avaliados conforme qualidade morfológica, estágio de desenvolvimento e diâmetro embrionário em função do dia do lavado. *Não houve diferença entre a taxa de recuperação e a qualidade dos embriões em função do dia do lavado. Os embriões mais velhos apresentaram maior diâmetro em relação aos mais jovens*, o que sugere facilitar sua recuperação na primeira fração do lavado. Quanto ao estágio de desenvolvimento, os embriões

¹ Graduanda em Medicina Veterinária – Universidade Federal de Viçosa (UFV). E-mail: kamilladipaess@gmail.com

² Doutor em Fisiologia e Reprodução animal pela UFV. E-mail: pedro.gama@ufv.br

³ Docente do Departamento de Medicina Veterinária – FACISA/UNIVIÇOSA. E-mail: mgazzinelli@gmail.com

⁴ Mestrando do Departamento de Zootecnia – UFV. E-mail: cristian.teixeira@ufv.br

⁵ Graduanda em Medicina Veterinária – UFV. E-mail: lorrainelopes96@hotmail.com

⁶ Graduando em Medicina Veterinária – UFV. E-mail: thiago.v.silva@ufv.br

coletados no dia 7 apresentavam-se em estádios mais iniciais do que aqueles recuperados nos dias 8 e 9. Do total de embriões recuperados, 68,25% estavam na forma de blastocisto expandido. Concluiu-se que o lavado intrauterino em jumentas pode ser realizado do sétimo ao nono dia pós-ovulação sem comprometer a qualidade e a taxa de recuperação embrionárias e que embriões de jumentas aparentam ter ótimo potencial para obter altas taxas de prenhez.

Palavras-chave: Lavado intrauterino, qualidade embrionária, reprodução asinina, transferência de embriões

Introdução

Embora a transferência de embrião (TE) seja amplamente utilizada na reprodução equina no Brasil, pouco ainda foi estudado sobre o emprego desta biotécnica em asininos, aplicando-se na maioria das vezes protocolos de TE de éguas para jumentas, o que reflete em baixas taxas de recuperações embrionárias (CAMILLO, 2010).

Uma etapa importante no programa de TE é a determinação no dia do lavado para colheita do embrião. Em éguas, sabe-se que o embrião alcança o corpo do útero entre o quinto e sexto dia após ovulação (GINTHER, 1992) e sua recuperação normalmente é realizada do sétimo ao nono dia pós-ovulação (Fleury & Alvarenga, 1999). Entretanto, em jumentas ainda não se determinou o período ideal para recuperação embrionária, sendo esta efetuada do sexto ao nono dia pós-ovulação (VENDRAMINI et al., 1997; CAMILLO et al., 2010; PANZANI et al., 2012).

Dessa forma, objetivou-se com esse estudo analisar a taxa de recuperação e as características morfológicas e morfométricas do embrião em função dos dias do lavado em jumentas da raça Pêga.

Materiais e Métodos

Foram utilizadas como doadoras de embriões seis jumentas da raça Pêga, com idade entre seis a 14 anos de idade, e um jumento da mesma raça, de sete anos de idade e fértil conforme exame andrológico. Todos os animais possuíam histórico reprodutivo conhecido e recebiam dieta de volumoso a base de capim Elefante (*Pennisetum purpureum*) picado e concentrado com 12% de proteína bruta e 2800 kcal/kg de energia digestível, além de acesso *ad libidum* ao sal mineral e à água de boa qualidade.

Inicialmente, as jumentas foram sincronizadas com dinoprost trometamina (Lutalyse®) para facilitar o manejo. Assim, a cada dois dias as jumentas eram rufadas e monitoradas por palpação transretal e ultrassonografia, e aquelas que apresentavam estro, folículo maior que 25 mm de diâmetro e condições uterinas desejáveis, passavam a ser avaliadas diariamente. Ao identificar um folículo maior ou igual que 35 mm de diâmetro, as jumentas eram inseminadas ou cobertas a cada 48 horas até sua ovulação.

Para o lavado intrauterino, as jumentas eram contidas em tronco de contenção e após remoção das fezes da ampola retal, realizava-se a limpeza da região perineal com água e sabão neutro e secagem com papel toalha.

As colheitas dos embriões ocorreram nos dias 7, 8 ou 9 após a ovulação por método não-cirúrgico intravaginal, totalizando em 90 embriões coletados (30 para cada dia). Para tanto, foram utilizados um cateter tipo Foley siliconizado nº 18 adaptado a mangueira extensora siliconizada e Ringer Lactato como meio para lavagem. O cateter era introduzido com o *cuff* desinflado via transcervical e posicionado no útero. Após inflar o *cuff* e tracioná-lo caudalmente para oclusão da cérvix, 1 litro de Ringer Lactato aquecido a 37°C era infundido por pressão no útero. Sob massagem vigorosa, todo o líquido era drenado por sifonagem e filtrado diretamente em filtro com malha de 80 µm, deixando no mínimo 40 mL no filtro. Este processo era

repetido uma vez. A cada lavado, inspecionava-se o filtro para possível identificação do embrião e classificava-se o aspecto do líquido drenado como: límpido, pouco turvo e muito turvo. Logo após a colheita, as jumentas doadoras recebiam 1 mL de Lutalyse® intramuscular para retornarem mais rápido ao estro.

O líquido do filtro era vertido em placa de Petri estéril descartável (100x20) quadriculada para rastreamento e classificação do embrião, realizados com auxílio de um estereomicroscópio com aumento de 10 e 40 vezes, respectivamente. O diâmetro dos embriões foi mensurado por uma ocular micrométrica adaptada ao estereomicroscópio.

Para a classificação morfológica adotou-se os parâmetros de qualidade descritos por McKinnon e Squires (1988), enquanto o estágio de desenvolvimento seguiu a classificação de McCue (2011).

Os resultados do número de embriões recuperados e o diâmetro embrionário foram avaliados em função do dia do lavado (dia 7, 8 e 9), da fração (primeira e segunda) e do aspecto do lavado por Análise de Variância (PROC ANOVA; SAS, 2002). O estágio de desenvolvimento e a qualidade dos embriões em função do dia do lavado e as taxas de recuperação embrionária por lavado e por ovulação foram analisados por tabela de contingência e pelo Teste de Fisher. O nível de significância definido foi $\alpha = 0,05$.

Resultados e Discussão

As taxas de recuperação embrionária por lavado e por ovulação foram de 70% e 58,88%, respectivamente, corroborando com os resultados apresentados por Camillo et. al. (2010) de 75,9% por lavado e 64,3% por ovulação, e confirmando a viabilidade da técnica não cirúrgica de recuperação embrionária para jumentas.

Não houve diferença na taxa de recuperação em função do dia

da colheita, apontando que o lavado para recuperação embrionária em jumentas pode ser efetuado dos 7 aos 9 dias sem sofrer prejuízo na taxa de recuperação. Em estudo com jumentas da raça Pantesca, Camillo et. al. (2010), obtiveram piores taxas de recuperação embrionária no dia 7 em relação aos dias 8 e 9 após a ovulação, tendo como possíveis causas o menor diâmetro dos embriões mais jovens, dificultando sua recuperação, e a inexperiência da equipe que realizou os lavados no dia 7 no início do experimento.

Quanto ao diâmetro dos embriões, os mais novos tiveram menor diâmetro que os mais velhos conforme o esperado, apresentando médias de $291,86 \pm 29,41 \mu\text{m}$, $627,48 \pm 73,00 \mu\text{m}$ e $1274,85 \pm 151,96 \mu\text{m}$ para os dias 7, 8 e 9, respectivamente. Estes resultados foram superiores aos descritos por Vendramini et. al. (1997) para os dias 7 e 8 e Panzani et. al. (2012) para o dia 9, sendo, entretanto, inferiores aos relatos de Panzani et. al. (2012) e Camillo et. al. (2010) para o dia 8. Essas diferenças para os valores de embriões recuperados no mesmo dia, podem ser devido a diferença de idade das doadoras, raças estudadas e manejo nutricional empregado.

A qualidade do embrião não variou conforme os dias do lavado, sendo que 90,51% dos embriões recuperados apresentaram graus I e II, concordando com os dados relatados por Camillo et. al. (2010) e Panzani et. al. (2012). Esses resultados são satisfatórios para um programa de TE e sugerem bom potencial de fertilidade. Contudo, ainda é necessário estudar se a morfometria do embrião de jumentas da raça Pêga influencia na taxa de gestação de receptoras.

Em relação ao estágio de desenvolvimento, 68,25% dos embriões recuperados eram blastocistos expandidos, sendo que os embriões coletados no dia 7 estavam em estágio mais iniciais (mórula, blastocisto inicial e blastocisto) do que aqueles recuperados nos dias 8 e 9 (blastocistos expandidos).

Não houve diferença entre o número de embriões recuperados entre as duas frações avaliadas, entretanto, os embriões coletados

na primeira fração tinham um diâmetro maior que os recuperados na segunda fração. Em seu estudo, Fleury et. al. (2001) observou que embriões maiores foram coletados em maior porcentagem na primeira fração do lavado, sugerindo que o tamanho do embrião interfere na sua facilidade de recuperação no lavado.

Conclusões

Os lavados intrauterinos em jumentas podem ser realizados do sétimo ao nono dia pós-ovulação sem causar prejuízos para as taxas de recuperação e qualidade embrionárias, proporcionando maior flexibilidade ao veterinário de campo no manejo reprodutivo do programa de TE.

Referências Bibliográficas

CAMILLO, F.; PANZANI, D.; SCOLLO, C.; et al. Embryo recovery rate and recipients' pregnancy rate after nonsurgical embryo transfer in donkeys. **Theriogenology**, v.73, p.959-965, 2010.

FLEURY, J.J.; ALVARENGA, M.A. Effects of collection day on embryo recovery and pregnancy rates in a nonsurgical equine embryo transfer program. **Theriogenology**, v.51, n.1, p.261, 1999.

FLEURY, J.J.; PINTO, A.J.; MARQUES, A.; LIMA, C.G.; ARRUDA, R.P. Fatores que afetam a recuperação embrionária e os índices de prenhez após transferência transcervical em eqüinos da raça Mangalarga. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.** 38:29-33, 2001.

GINTHER, O.J. Reproductive biology of the mare: basic and applied aspects (2nd ed). *EquiServices, Cross Plains, WI*, p.299-300, p. 499-545, 1992.

MCCUE, P.M. Transferência de Embriões em Equinos – Recuperação do Embrião / *Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP / Journal of Continuing Education in Animal Science of CRMV-SP*. São Paulo: Conselho Regional de Medicina Veterinária, v. 9, n. 3 (2011), p. 94–98, 2011.

MCKINNON, A.O.; SQUIRES, E.L. Morphological assessment of the equine embryo. **Journal of American Veterinary Medicine Association**, v.192, p.406-416, 1988.

PANZANI, D.; ROTA, A.; CRISCI, A., et al. Embryo quality and transcervical technique are not the limiting factors in donkey embryo transfer outcome. **Theriogenology**, v.77, p.563-569, 2012.

VENDRAMINI, O.M. *Contribution a la sauvegarde du Baudet du Poitou par la mise au point d'une technique de transfert d'embryon*. Tese de doutorado. **Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes**, 217p, 1997.