



**Universidade Federal de Pelotas**  
**Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária**



# **Protocolos de IATF, Transferência de Embrião e Fertilização *in vitro* em bovinos leiteiros, corte e ovinos**

**Apresentadores: Camila Pizoni**  
**Márcio Erpen Lima**

**Pelotas, 12 de maio de 2011**

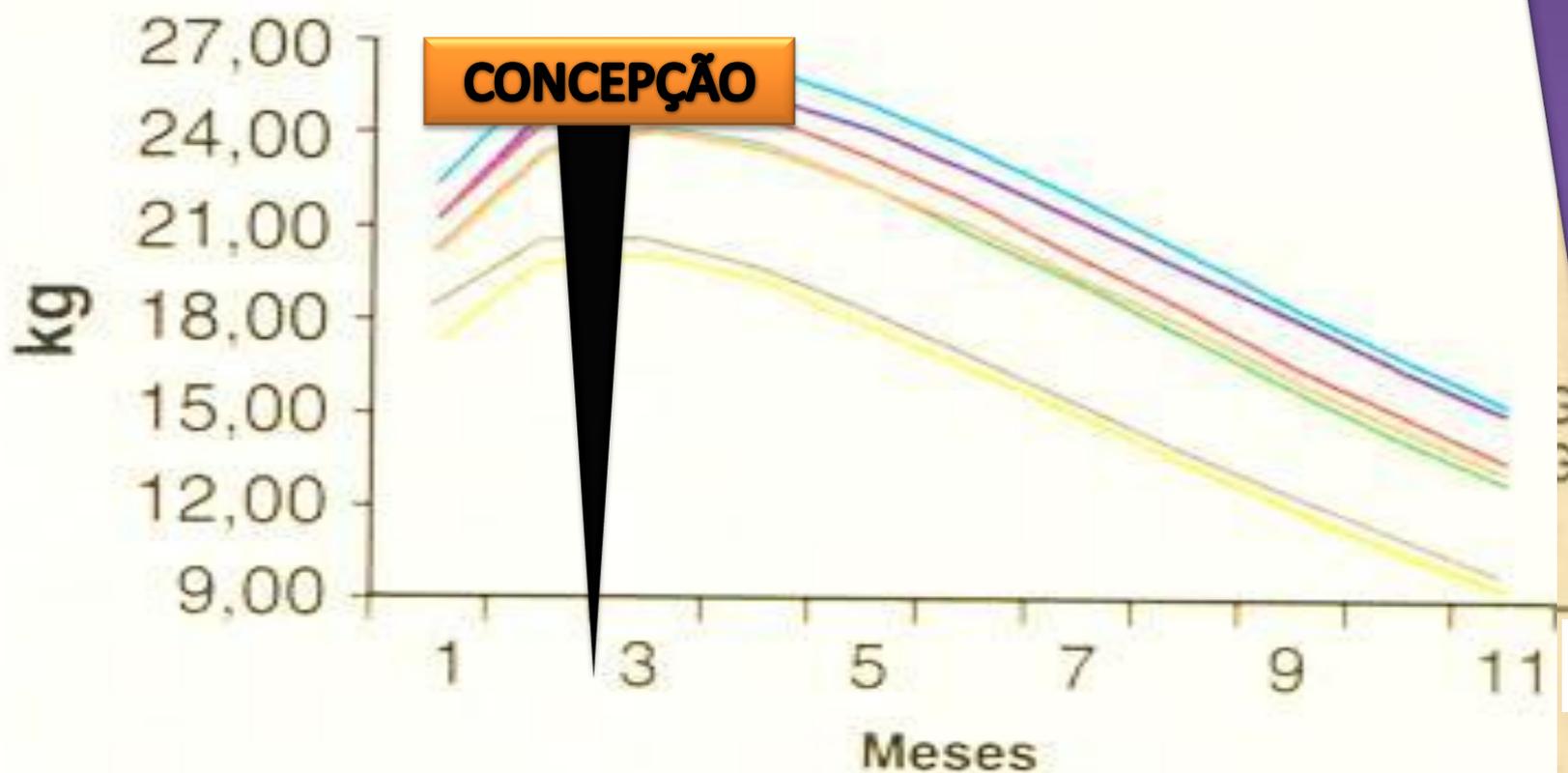
# BIOTÉCNICAS REPRODUTIVAS

**OBJETIVO**



## GRÁFICO 2

### COMPARATIVO DE PERSISTÊNCIA ENTRE VACAS PURAS E CRUZADAS



# MANIPULAÇÃO HORMONAL

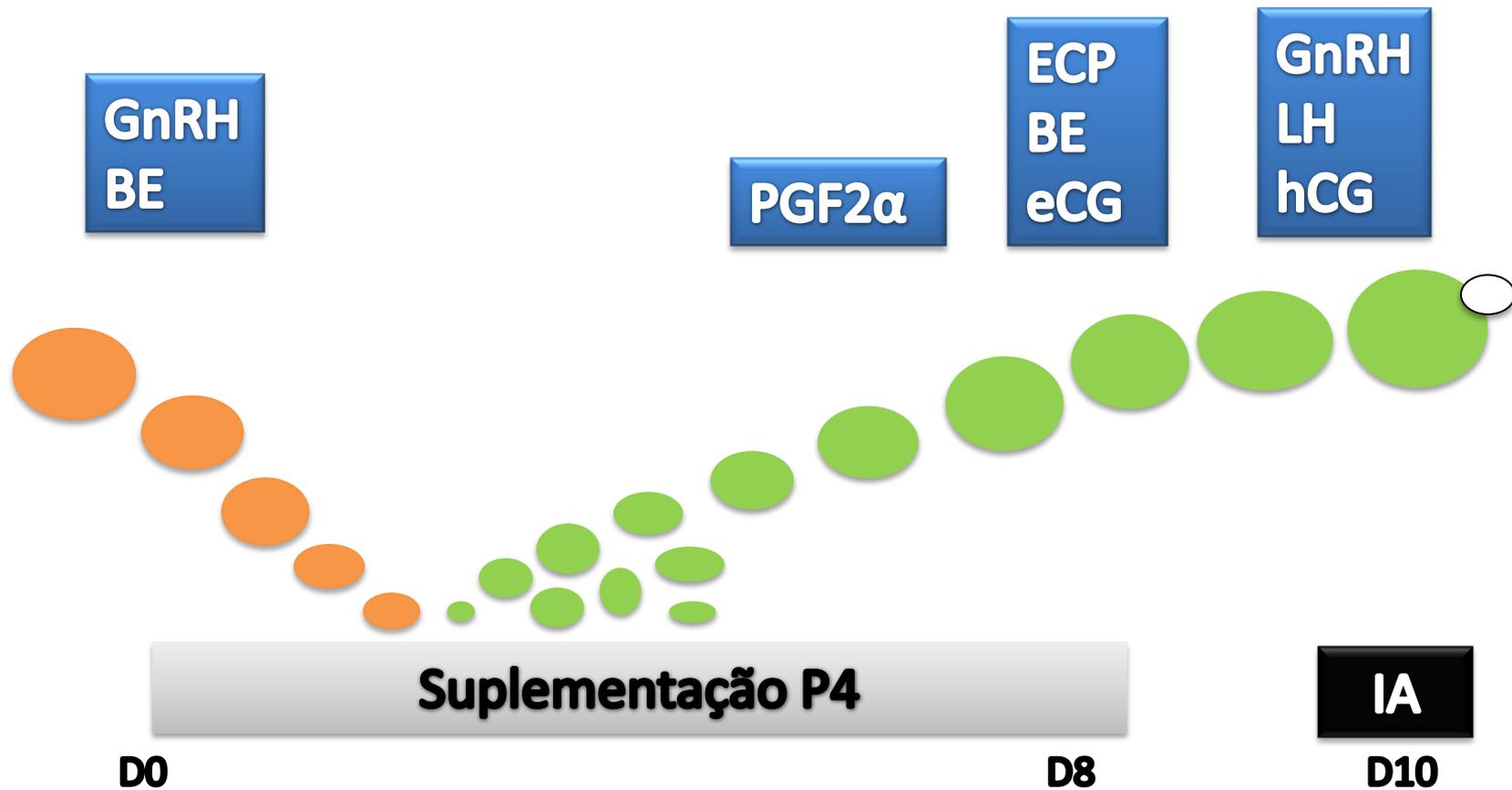
## Alternativas

Os programas para sincronização da ovulação têm como princípio básico controlar a vida do corpo lúteo (CL) com utilização de  $\text{PGF}_{2\alpha}$ , induzir o desenvolvimento folicular e a sincronização da ovulação, prevenindo o estro durante o tratamento hormonal com a utilização de progesterona exógena (Thatcher et al., 2006).

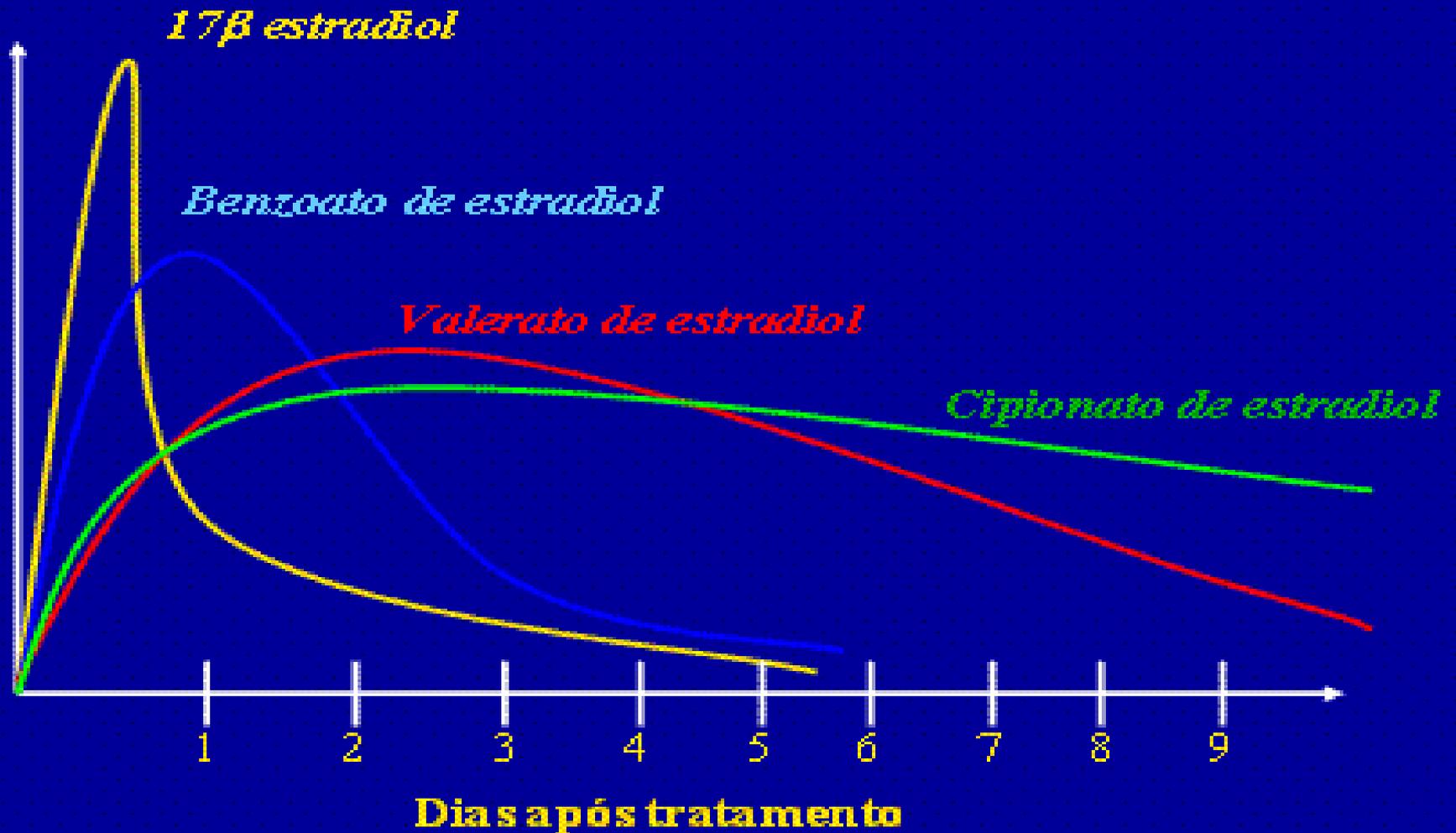
Suplementação P4

IA

# MANIPULAÇÃO HORMONAL



# MANIPULAÇÃO HORMONAL



# Dispositivos intravaginais de Progesterona



# MGA<sup>®</sup> PREMIX



**NA MONTA NATURAL,  
AGORA VOCÊ  
FAZ ACONTECER.**



**nupeec** **PID**

Programa Integrado de Diagnóstico

**Produto**



Progestágeno oral indicado para aumentar a eficiência reprodutiva de fêmeas bovinas de corte.

## **MGA<sup>®</sup> Premix**

### **ADMINISTRAÇÃO:**

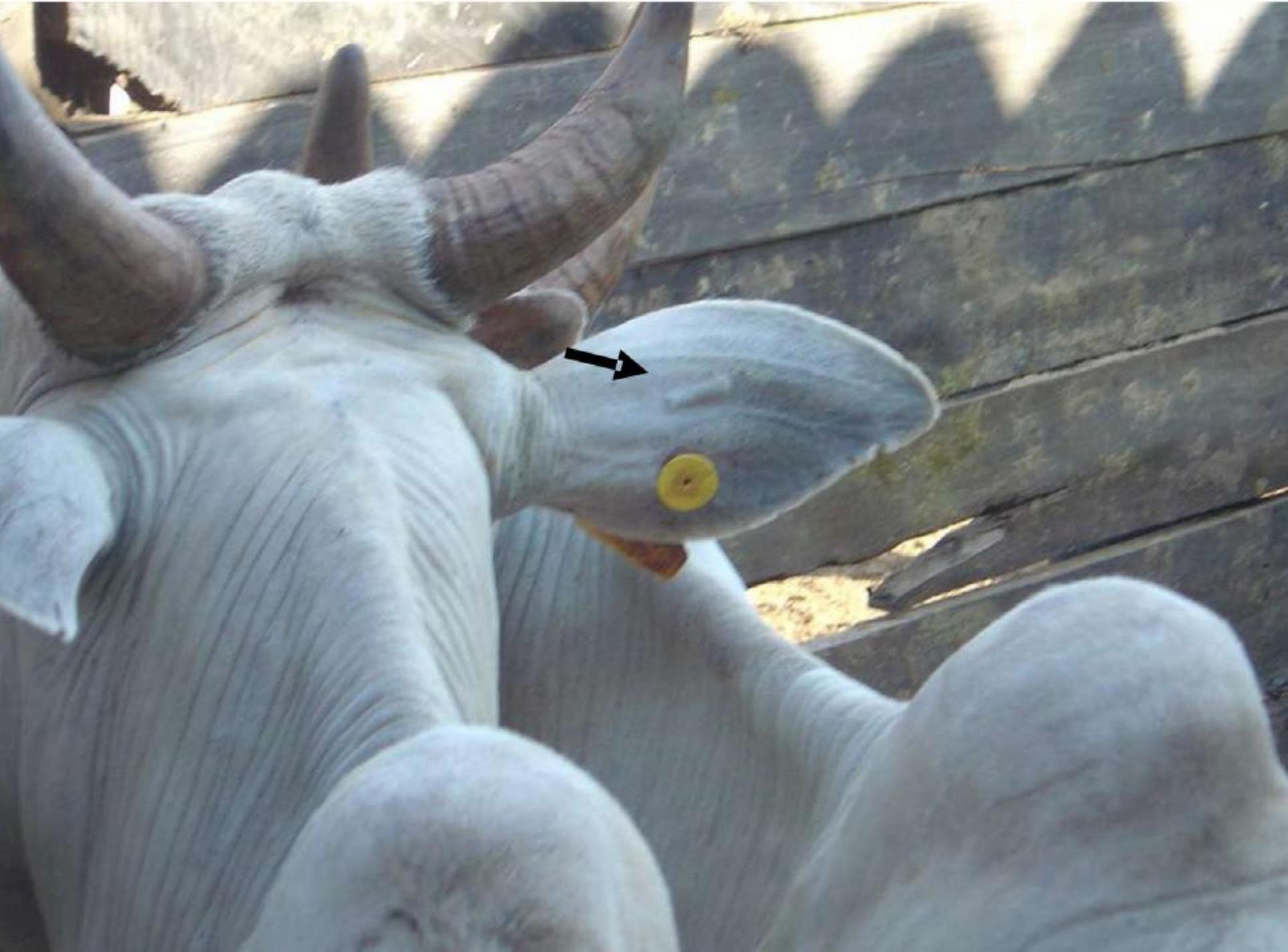
- Oral, fornecido no cocho saleiro, misturado no sal mineral.

### **Dose:**

- Cada animal deve ingerir 2,28g MGA<sup>®</sup> Premix/dia. A quantidade da mistura (sal mineral + MGA<sup>®</sup> Premix) a ser fornecida deve seguir a recomendação do fabricante.

### **Protocolo:**

- [Vide Programa de Sincronização de Cio.](#)



# Retirada dos dispositivos intravaginais de progesterona



# BIOTÉCNICAS REPRODUTIVAS

Níveis plasmáticos de progesterona após a inserção de CIDR®



# BIOTÉCNICAS REPRODUTIVAS

**Como utilizar..**

**Quando**

**Custos**

**ESSENCIAL**

- **Embasamento teórico**
  - **Aplicações**
    - **Riscos**
  - **Resultados**

Vacas Lactantes/Alta Ingestão de Mat. seca aumentam em mais de duas vezes o fluxo sanguíneo hepático.



Fígado é o órgão responsável pela metabolização dos hormônios esteróides P4 e E2.



Menores concentrações séricas de P4 e E2



Alteração na pulsatilidade de LH

# Produção de Leite x baixas concentrações séricas de P4 e E2

- Baixa expressão de estro (Lopez 2004)
- Aumento da Taxas de Dupla ovulação (Vasconcelos 2005)
- Aumento do Tempo de Dominância/Diâmetro Folicular (Vasconcelos 2005)
- Aumento de Ciclos de duas ondas foliculares
- Aumento da perda de prenhes (Vasconcelos 1997)
- Baixa Fertilidade (Lucy 2001, Washburn 2002)

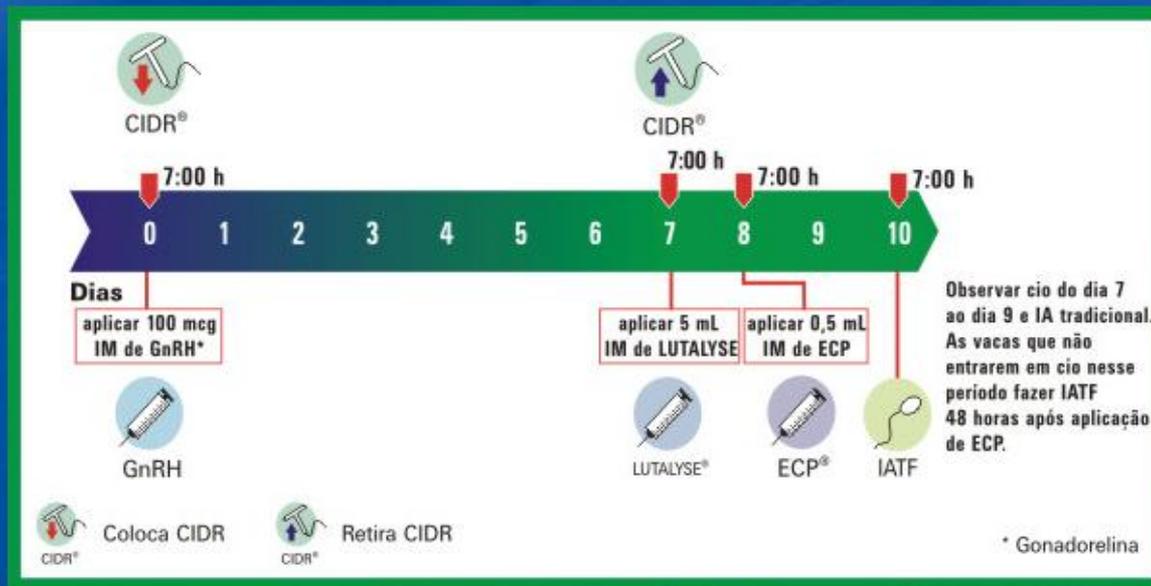
# BIOTÉCNICAS REPRODUTIVAS

## IATF

- Falhas detecção de cio;
- Antecipar concepção;
- Padronização parição;
- etc.

**Alguns exemplos..**

# CIDR®



Este sistema apenas apresenta uma simulação. Para conseguir um resultado satisfatório, você deve consultar um médico veterinário, que é o profissional mais indicado para ajudar no planejamento reprodutivo de seu rebanho.

Imprimir

Próxima

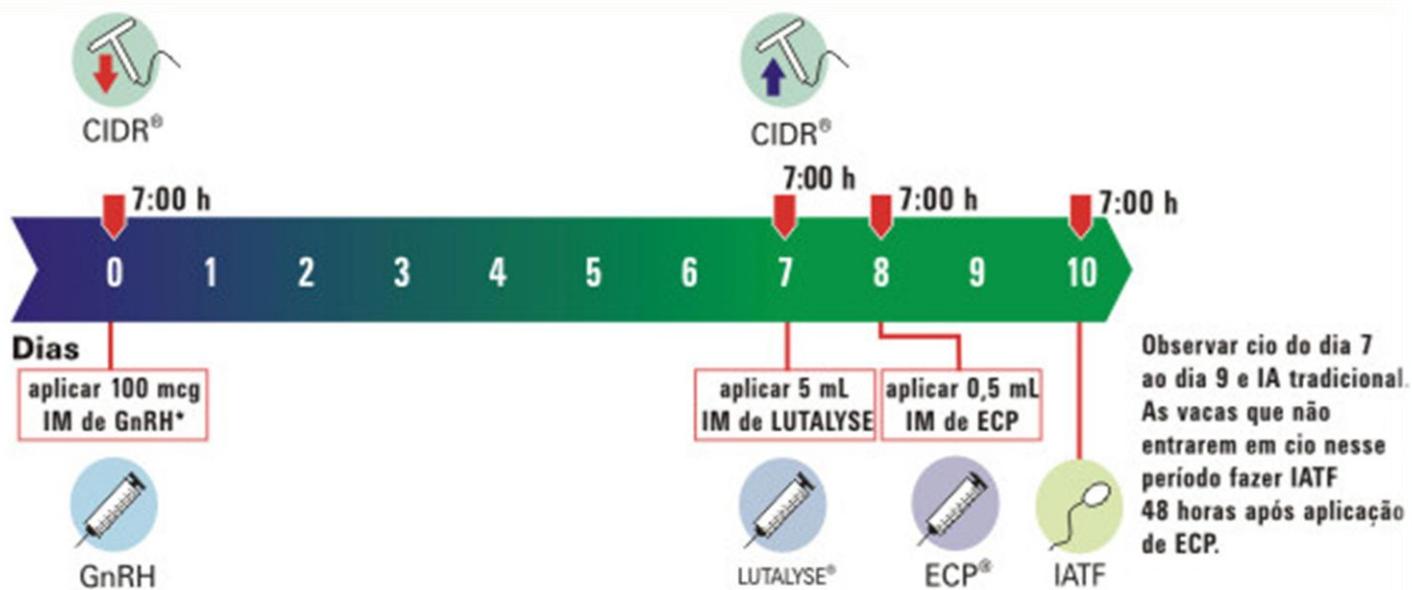
Sair

Pfizer

Saúde Animal

# DISCUSSÃO

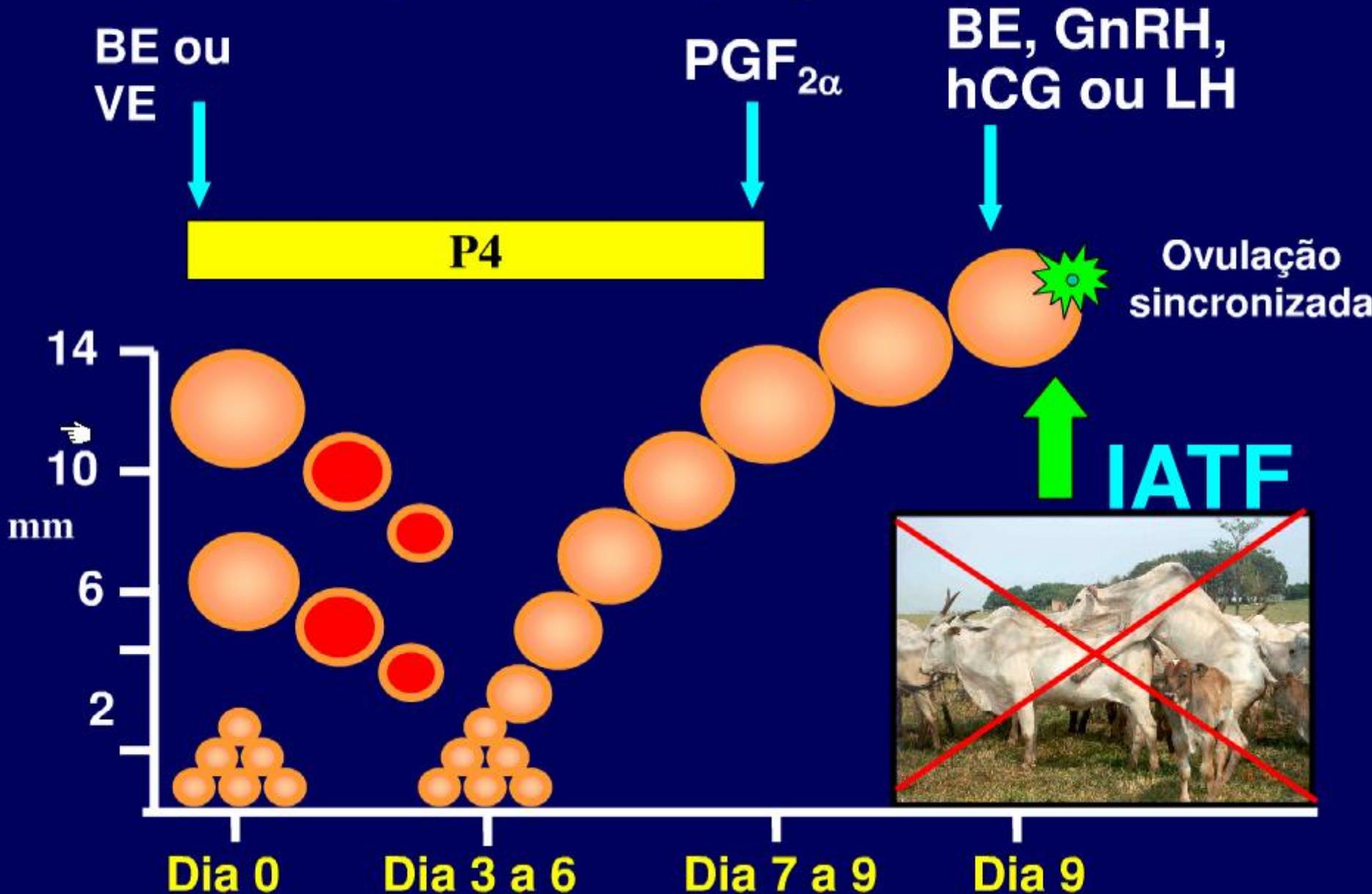
## Base Protocolos IATF



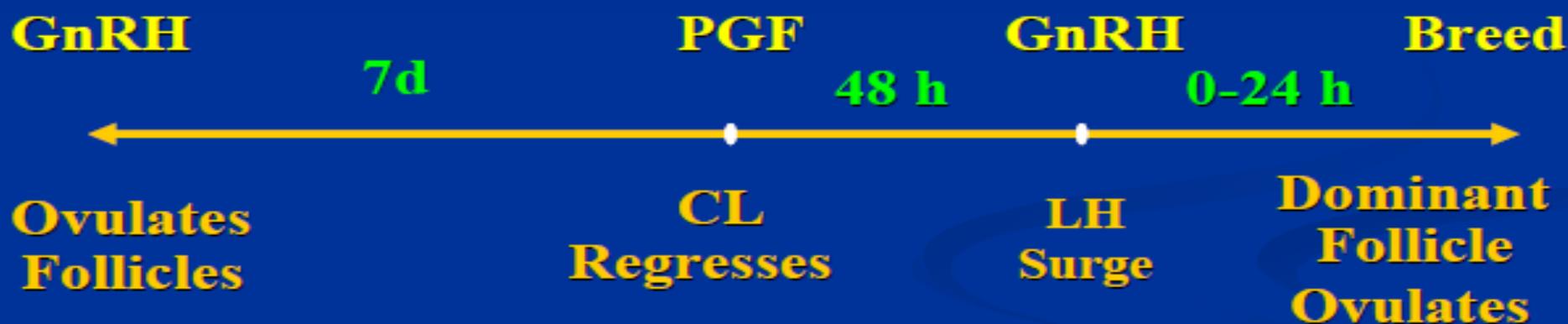
\* Gonadorelina

- D0
- Período P4
- D8 (ECP, BE)
- Intervalo – retirada/IA
- Indutor?

# Dinâmica folicular durante o tratamento com dispositivo de progesterona



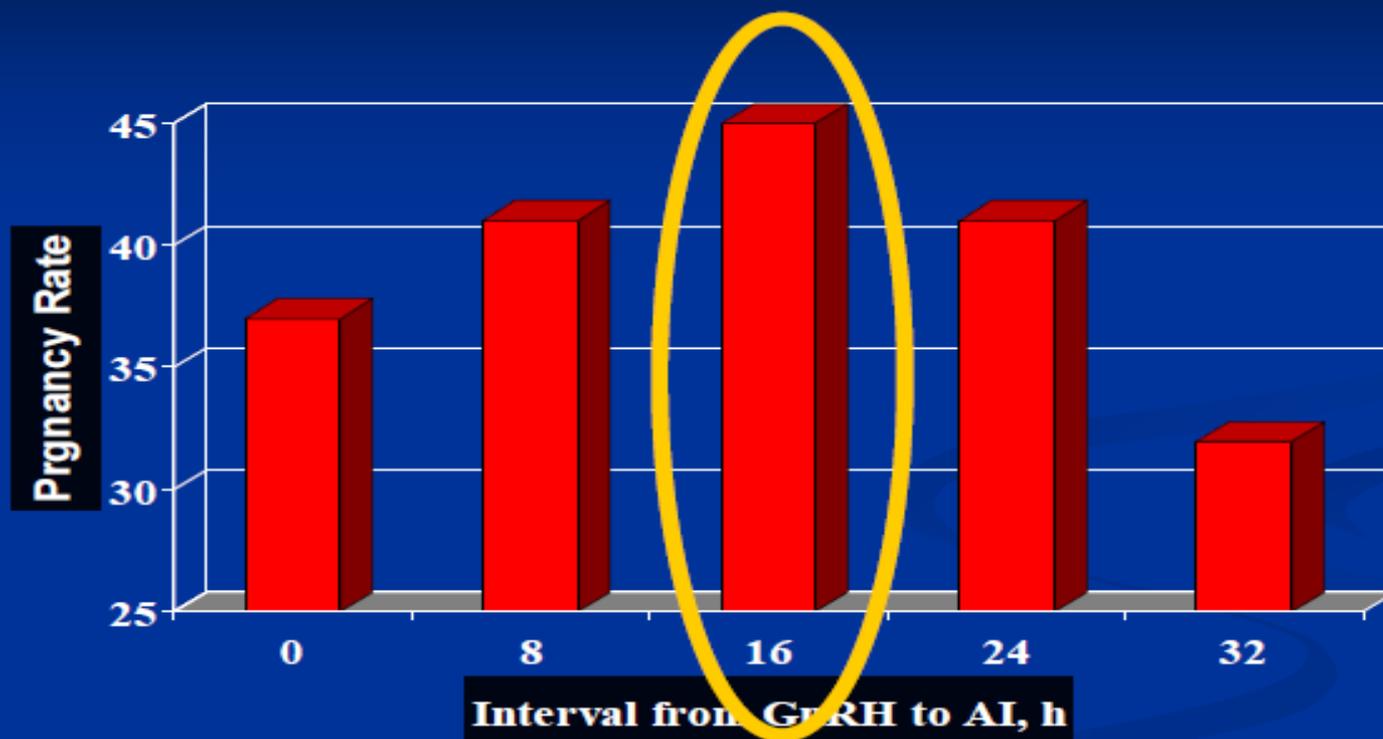
## Ovsynch<sup>R</sup> / TAI Program



Até 30% das vacas podem não sincronizar (*Vasconcelos 1999, Pusterley 2003*)

# DISCUSSÃO

*INSEMINE VACAS NO MOMENTO ÓTIMO...*



# DISCUSSÃO

GNRH  
(20mcg)

PGF2

GNRH  
(10mcg)

7 DIAS

2 DIAS

**IA 16  
Horas**

GNRH  
(10mcg)

PGF2

GNRH  
(10mcg)

7 DIAS

2 DIAS

**IA 16  
Horas**

GNRH  
(20mcg)

BE(1mg)

PGF2

7 DIAS

24Horas

**IA 30 Horas**

GNRH  
(10mcg)

BE(1mg)

PGF2

7 DIAS

24Horas

**IA 30 Horas**

**Tabela 1 - Taxa de prenhez à IATF em vacas holandesas de alta produção tratadas com Ovsynch ou Heatsynch em duas diferentes doses iniciais de GnRH (10 e 20 µg) associados ou não com aplicação de bST, Paraná, 2007.**

|           |         |            | TAXA DE PRENHEZ<br>28 DIAS APÓS IATF (%) | TAXA DE PRENHEZ<br>56 DIAS APÓS IATF (%) |
|-----------|---------|------------|--|--|
| Heatsynch | Sem bST | 10 µg GnRH | 41.8 (33/79)                             | 39.2 (31/79)                             |
|           |         | 20 µg GnRH | 37.3 (35/91)                             | 32.9 (30/91)                             |
|           | Com bST | 10 µg GnRH | 32.7 (18/55)                             | 29.1 (16/55)                             |
|           |         | 20 µg GnRH | 48.2 (27/56)                             | 33.9 (19/56)                             |
| Ovsynch   | Sem bST | 10 µg GnRH | 46.7 (42/90)                             | 42.2 (38/90)                             |
|           |         | 20 µg GnRH | 46.1 (40/89)                             | 41.6 (37/89)                             |
|           | Com bST | 10 µg GnRH | 40.6 (28/69)                             | 34.8 (23/69)                             |
|           |         | 20 µg GnRH | 50.0 (26/52)                             | 46.2 (24/52)                             |

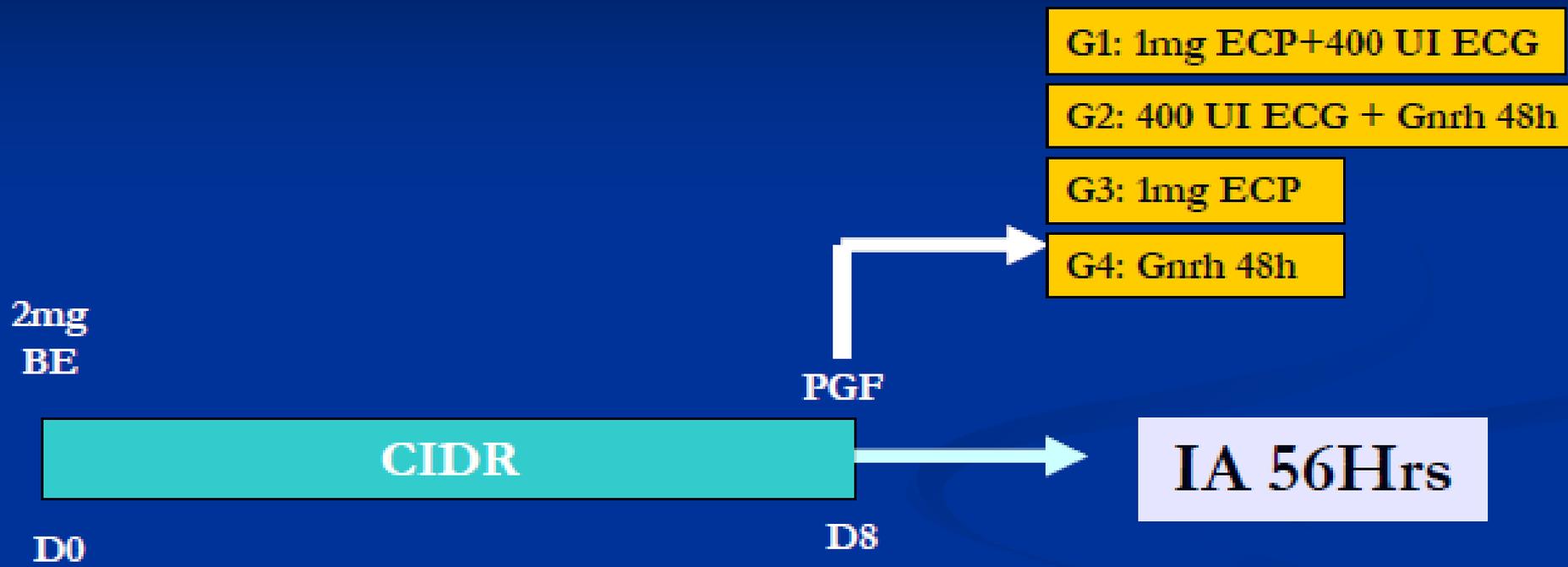
### EFEITOS PRINCIPAIS

|           |         |                  |                  |
|-----------|---------|------------------|------------------|
| Heatsynch |         | 39.1 (112/281)*  | 35.2 (96/281)*   |
| Ovsynch   |         | 46.5 (137/300)** | 43.3 (123/300)** |
|           | Sem bST | 43.4 (150/349)   | 40.6 (136/349)   |
|           | Com bST | 42.1 (99/232)    | 37.9 (83/232)    |
|           |         | 10 µg GnRH       | 40.7 (121/293)   |
|           |         | 20 µg GnRH       | 44.9 (128/288)   |

\* ≠ \*\* P<0.09

\* ≠ \*\* P<0.06

# DISCUSSÃO



## RESULTADOS

| GRUPOS    | N ANIMAIS | PRENHES | TX. CONCEPÇÃO |
|-----------|-----------|---------|---------------|
| ECP + ECG | 97        | 25      | 25,8%         |
| ECG       | 99        | 32      | 32,3%         |
| ECP       | 96        | 27      | 28,1%         |
| GNRH      | 96        | 28      | 29,2%         |

# DISCUSSÃO



## Programa IATF Tecnopec - Vacas Leiteiras de Alta Produção



*Obs: Em vacas cíclicas o uso de Folltropin é opcional.*

**Tabela 6** - Taxa de prenhez de vacas Nelore (*Bos indicus*) lactantes tratadas com implante auricular contendo progestágeno (Crestar), com ou sem eCG na retirada do implante e com ou sem GnRH no momento da IATF.

| <b>ECG</b>                | <b>GnRH</b> | <b>N</b> | <b>Taxa de Prenhez (%)</b>  |
|---------------------------|-------------|----------|-----------------------------|
| S/ eCG                    | S/ GnRH     | 152      | 27,6 (42/152) <sup>c</sup>  |
|                           | C/ GnRH     | 147      | 40,1 (59/147) <sup>b</sup>  |
| C/ eCG                    | S/ GnRH     | 151      | 47,7 (72/151) <sup>ab</sup> |
|                           | C/ GnRH     | 149      | 55,7 (83/149) <sup>a</sup>  |
| <b>EFEITOS PRINCIPAIS</b> |             |          |                             |
| S/ eCG                    |             | 299      | 33,8 (101/299) <sup>b</sup> |
| C/ eCG                    |             | 300      | 51,7 (155/300) <sup>a</sup> |
|                           | S/ GnRH     | 303      | 37,6 (114/303) <sup>b</sup> |
|                           | C/ GnRH     | 296      | 48,0 (142/296) <sup>a</sup> |

a ≠ b ≠ c na mesma coluna (P < 0,05)

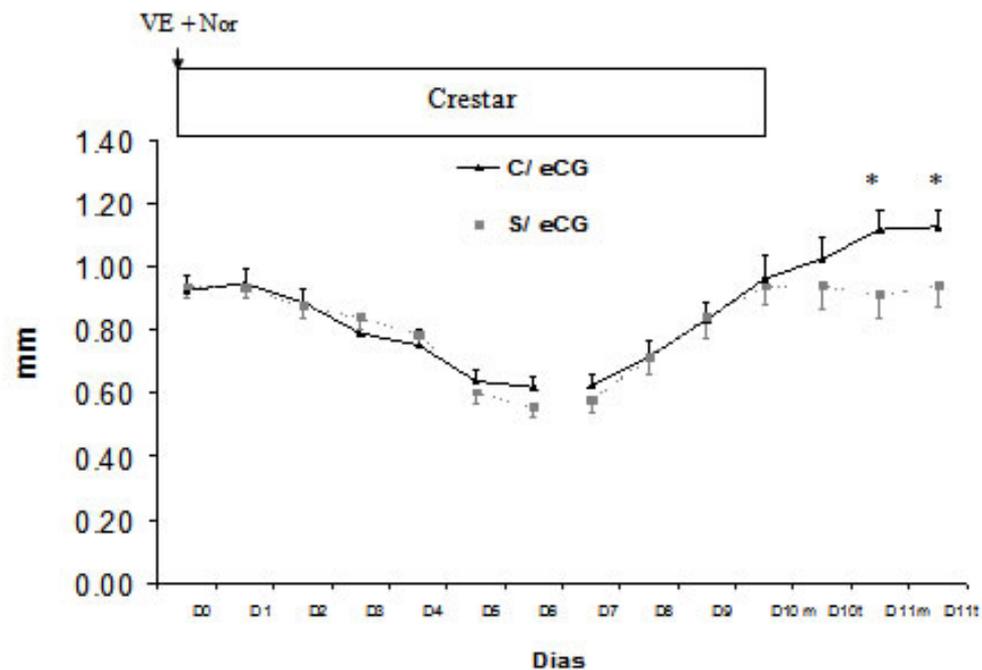
# DISCUSSÃO

Tabela 7 - Dinâmica folicular de vacas Nelore (*Bos indicus*) lactantes em anestro tratadas com implante auricular contendo progestágeno (Crestar) associado ou não ao eCG.

|   | <b>Com eCG<br/>(n=26)</b> | <b>Sem eCG<br/>(n=24)</b>    | <b>P</b> |
|---|---------------------------|------------------------------|----------|
| Taxa de ovulação (%)                              | 73,1 (19/26) <sup>a</sup> | 50,0<br>(12/24) <sup>b</sup> | 0,04     |
| Intervalo entre a retirada da P4 e a ovulação (h) | 72,0 ± 1.1                | 73,0 ± 1,9                   | 0,72     |
| Diâmetro máximo do folículo dominante (mm)        | 1,22 ± 0,06               | 1,04 ± 0,07                  | 0,04     |
| Diâmetro máximo do folículo ovulatório (mm)       | 1,24 ± 0.05               | 1,21 ± 0.04                  | 0,70     |
| Taxa de concepção (%)                             | 46,2 (12/26) <sup>a</sup> | 20,8 (5/24) <sup>b</sup>     | 0,02     |
| Taxa de concepção dos animais que ovularam (%)    | 63,2 (12/19)              | 41,7 (5/12)                  | 0,12     |

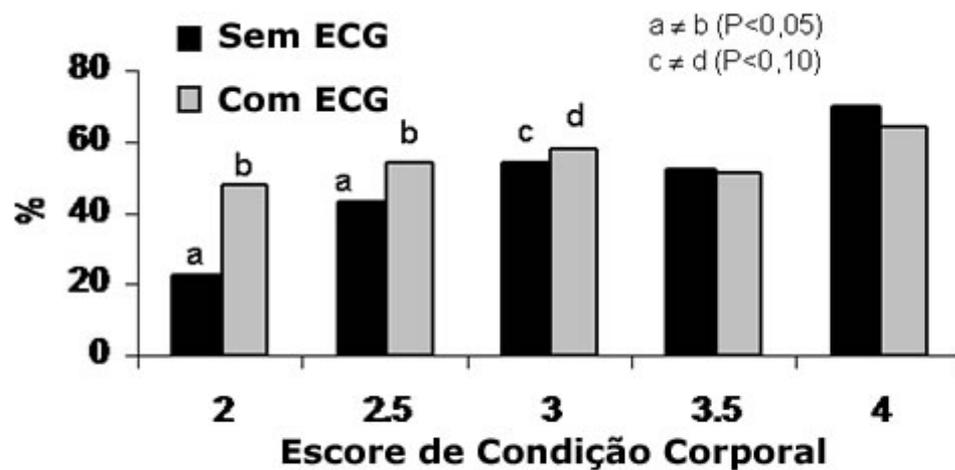
Sá FILHO et al., 2004

# DISCUSSÃO



**Gráfico 3.** Dinâmica folicular de vacas Nelore em anestro tratadas com protocolo Crestar associado ou não a 400 UI de eCG no momento da retirada do implante auricular (dia 9).

Sá FILHO et al., 2004



**Gráfico 4.** Taxa de concepção de vacas *Bos indicus* (Nelore) lactantes (n= 1.984) tratadas com e sem eCG no momento da retirada do dispositivo intravaginal de progesterona conforme o escore de condição corporal.

Baruselli et al., 2004

## Protocolo de Sincronização de Cio

*n = 20 vacas*

| Item     | Princípio Ativo | Preço Dose | Unidades | Frascos | Apresentação | Valor Unitário | Subtotal | Valor Total |
|----------|-----------------|------------|----------|---------|--------------|----------------|----------|-------------|
| Gonadiol | BE              | 0,60       | 20       | 1       | 100ml        | 28,60          | 28,6     | 28,6        |
| CIDR     | P4              | 9,66       | 20       | 2       | 10U          | 289,80         | 579,6    | 608,2       |
| Lutalyse | PGF2            | 7,30       | 60       | 10      | 30ml         | 37,80          | 378      | 986,2       |
| ECP      | ECP             | 0,50       | 20       | 1       | 10ml         | 10,00          | 10       | 996,2       |

**18,06/VACA**

**+ Sêmen**

eCG  
GnRH  
LH  
hCG

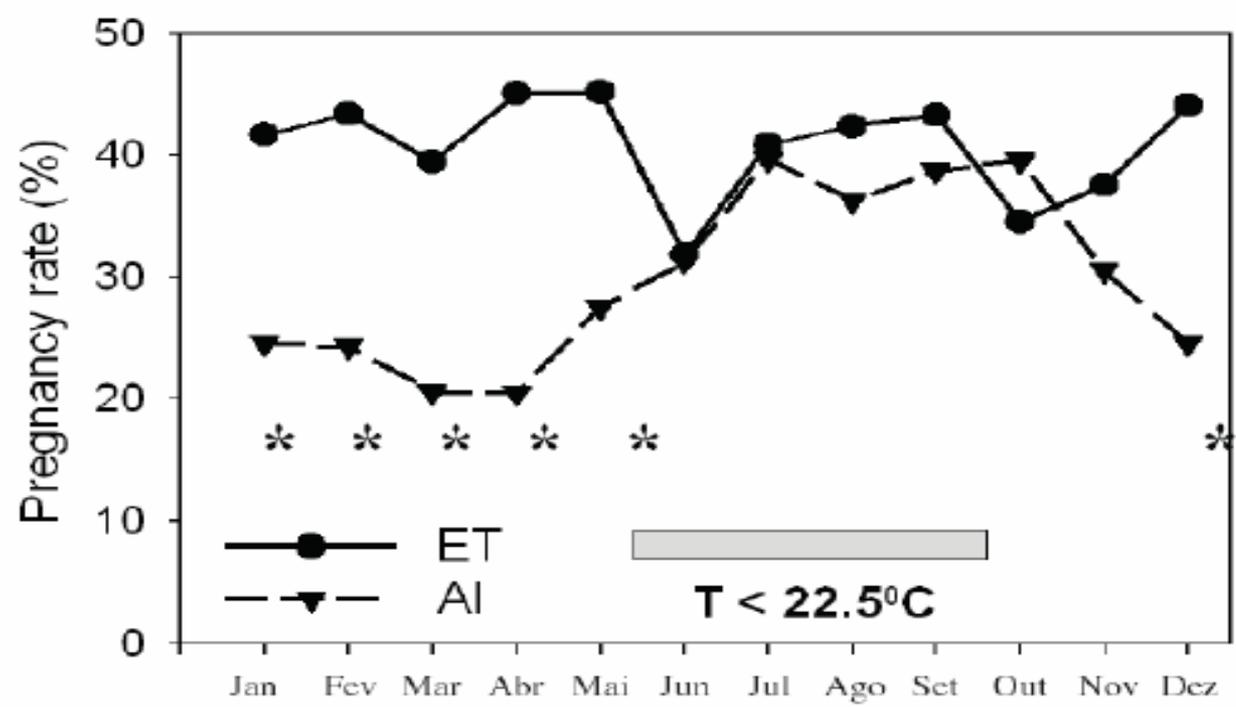
## Novos estudos

**Suplementação P4 pós IA;  
Gordura protegida;  
TE.**

**Alguns exemplos..**

# DISCUSSÃO

## TE vrs IA EM REBANHO NO BRASIL



# Transferência de Embriões

## VANTAGENS



Facilita transporte e estocagem de material genético;



Multiplicação rápida de um genótipo superior



Permite controle de doenças



Controle do sexo do produto



Produção de descendentes de um animal jovem.

# Transferência de Embriões

## Desvantagens



Metodologia cirúrgica e colheita de embriões



Custo operacional



Doadoras geneticamente superiores



Nutrição e reprodução



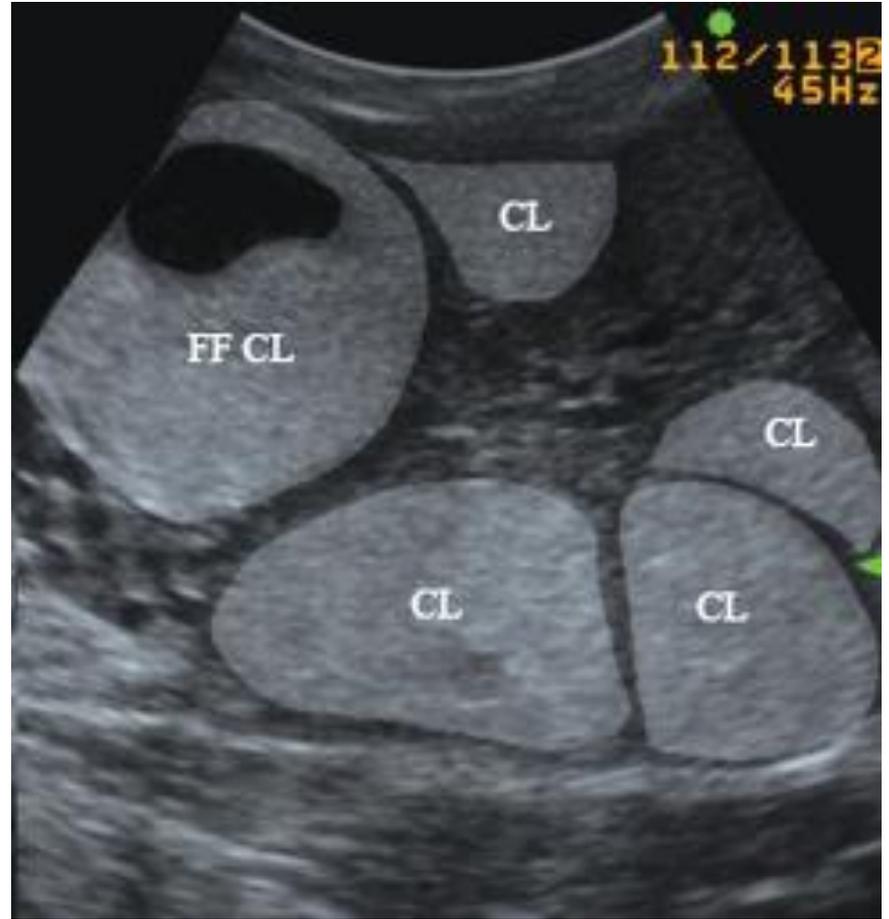
Aspecto sanitário do rebanho

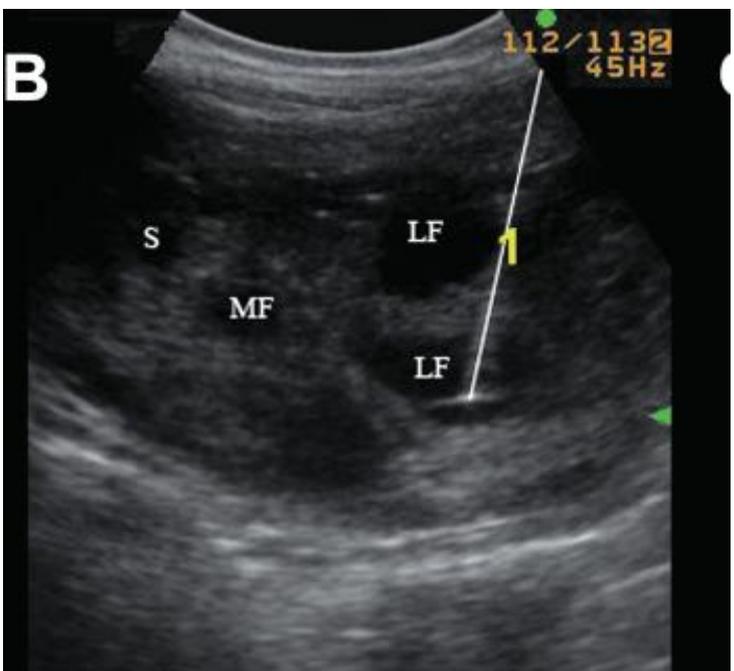
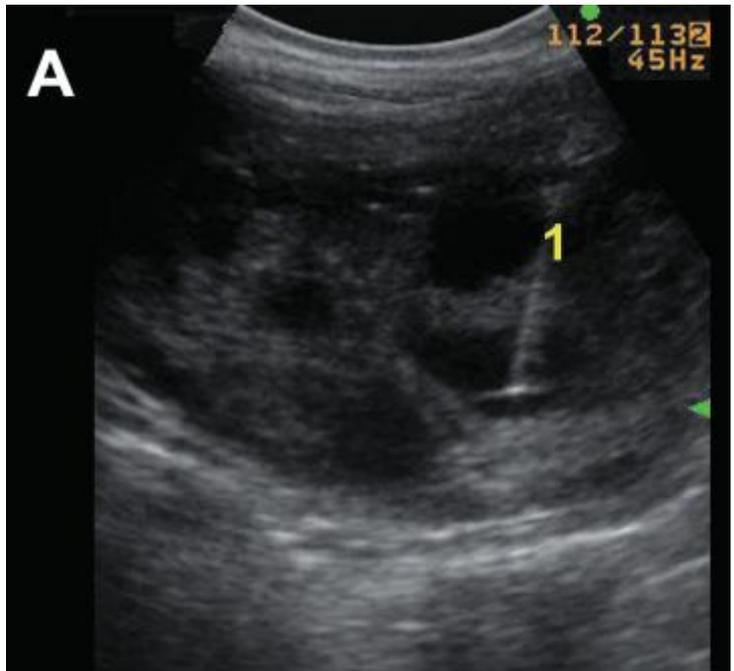
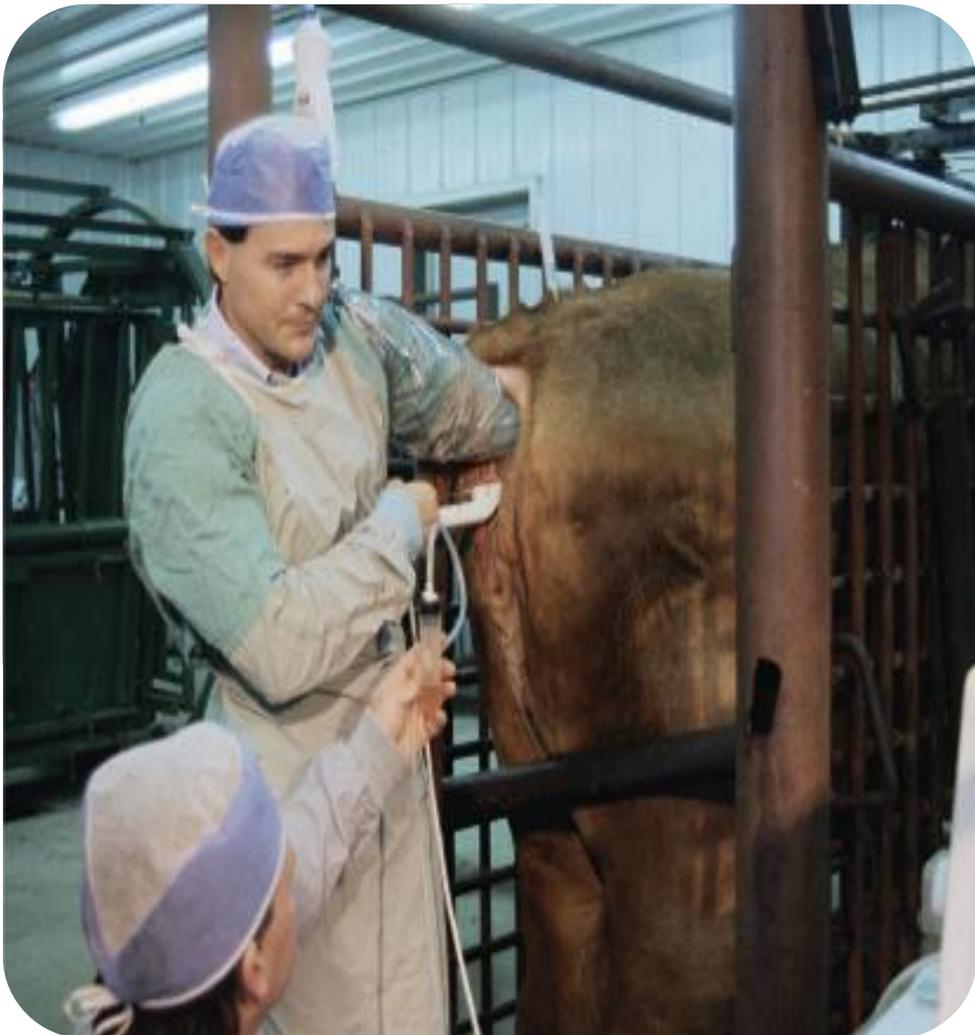


Mão-de-obra

# TE / FIV







## **BOVINOS E OVINOS**

- Seleção de doadoras:
  - Geneticamente superior;
  - Não apresentar anomalias congênitas e/ou hereditárias;
  - Histórico de boa fertilidade;
  - Boa condição corporal;
  - Livre de doenças infecto-contagiosas;
  - Estresse reduzido;
  - Ciclando regularmente.

# Transferência de Embriões

## BOVINOS

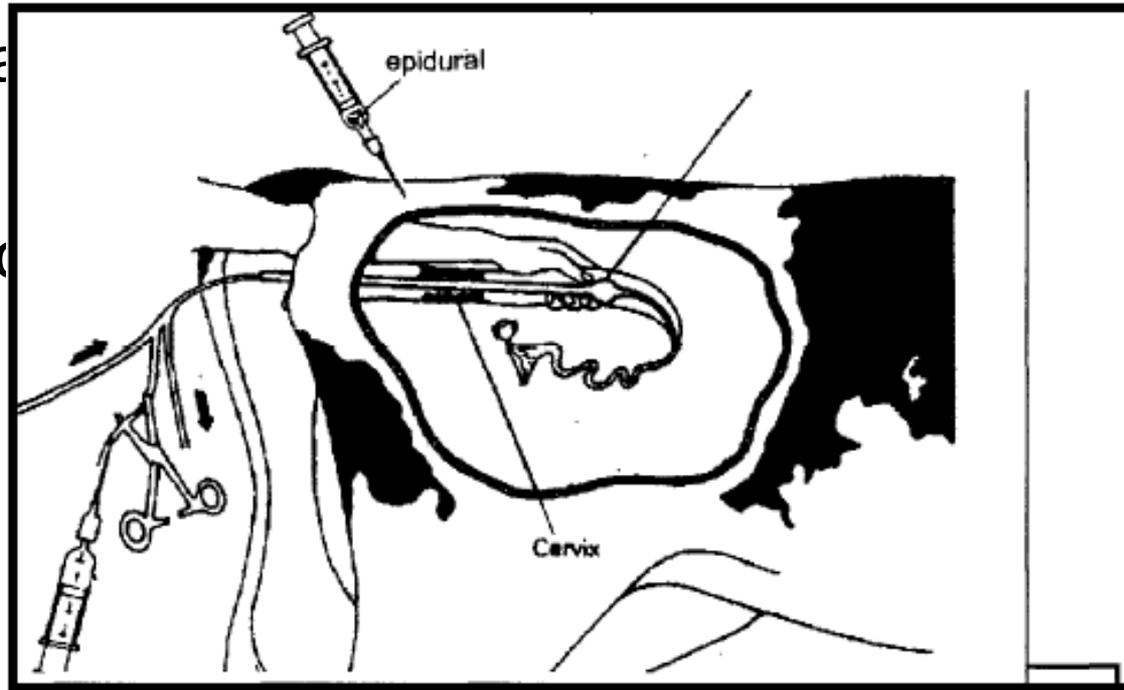
### Superovulação

Produzir um grande número de ovulações e obter um número correspondente de embriões viáveis, que resultem em uma elevada taxa de gestação nas receptoras.



## BOVINOS

- Coleta de embriões:
  - Não cirúrgico;
  - Avaliação da superovulação por palpação retal ou US;
  - Anestesia epidural
  - Higienização;
  - Cateter introduzido
  - Lavagem: 5 a 7x
  - Prostaglandina
  - Antibiótico ?!

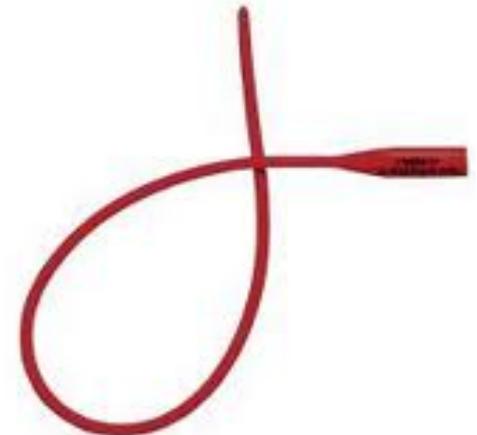


## **BOVINOS**

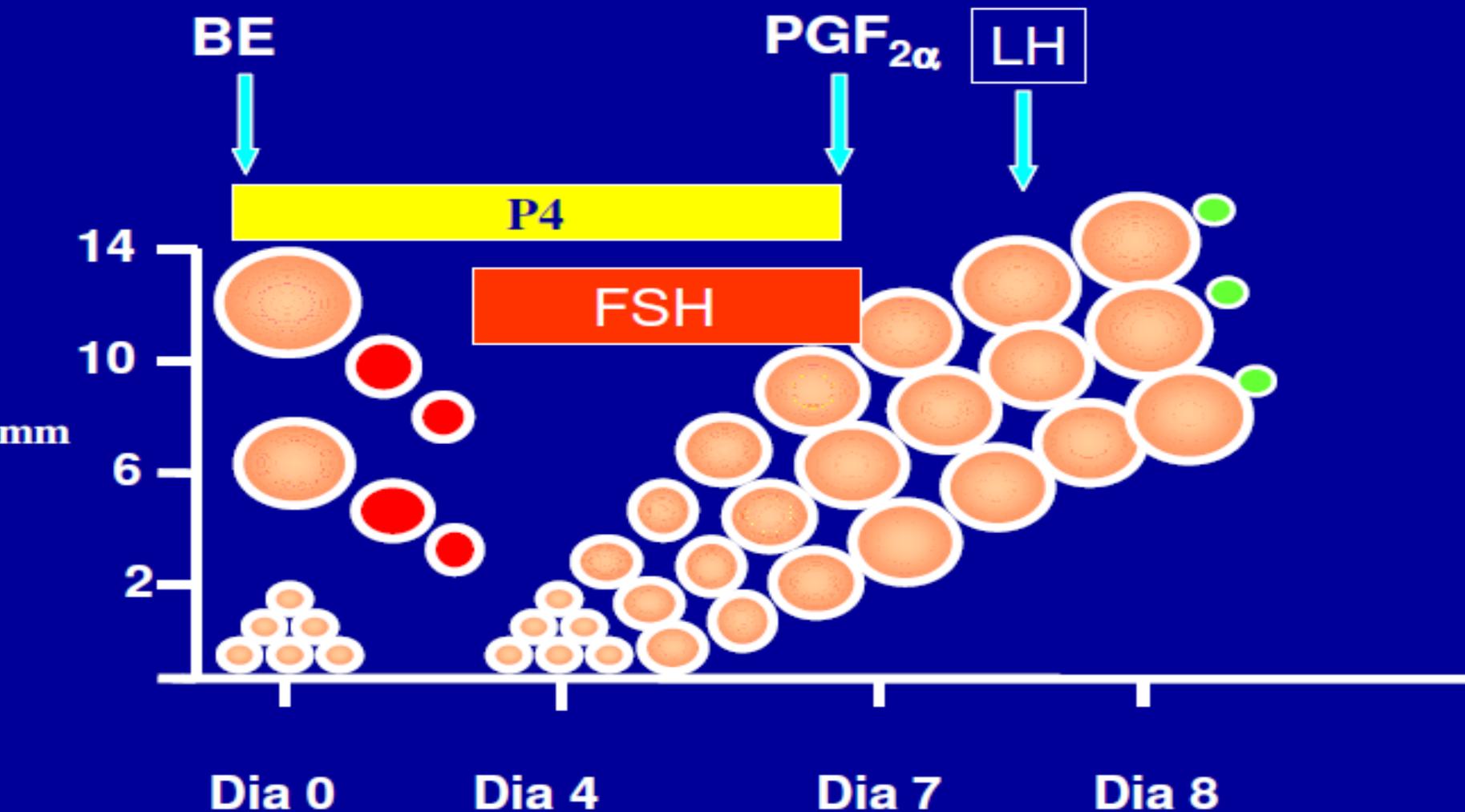
- Transferência:
  - Após análise dos embriões:
    - Com os embriões nas palhetas, estas são montadas nos aplicadores, sendo então transferidos para as respectivas receptoras.

## OVINOS

- Coleta de embriões:
  - Cirúrgico e laparoscópico;
  - Transcervical;
    - O lavado é recolhido e mantido em temperatura ambiente (25 a 30°C).
- Transferência:
  - Semi-laparoscópico
  - Xilasina e ketamina
  - Exposição do corno – material injetado.



## Superovulação em tempo fixo



# PROTOKOLO SINCRONIZAÇÃO

|                   |      |          |     |      |
|-------------------|------|----------|-----|------|
| RECEPTORAS<br>HPB | CIDR | LUTALYSE | ECP | TETF |
|                   | BE   |          |     |      |
| DIA               | ZERO | 7        | 8   | 17   |

# PROTOKOLO SUPEROVULAÇÃO

VACA HPB

|      |       |     |     |                  |                        |             |                |    |
|------|-------|-----|-----|------------------|------------------------|-------------|----------------|----|
| CIDR | 08:00 | FSH | FSH | FSH+<br>LUTALYSE | FSH                    | IA1         | COLETA<br>TETF |    |
| BE   | 18:00 | FSH | FSH | FSH+<br>LUTALYSE | FSH<br>RETIRAR<br>CIDR | GNRH<br>IA2 |                |    |
| DIA  | ZERO  | 4   | 5   | 6                | 7                      | 8           | 9              | 16 |

# BIOTÉCNICAS REPRODUTIVAS

|                              |                 | <b>Custo do Protocolo</b> |                     |
|------------------------------|-----------------|---------------------------|---------------------|
|                              |                 | Individual                | lote                |
| Folltropin                   | FSHp            | R\$ 83,33                 | R\$ 833,33          |
| Prolise                      | Prostaglandina  | R\$ 3,70                  | R\$ 37,00           |
| PRIMER                       | Progesterona    | R\$ 10,00                 | R\$ 100,00          |
| RIC-BE                       | Benz. Estradiol | R\$ 1,36                  | R\$ 13,64           |
| Lutropin                     | LHp             | R\$ 28,50                 | R\$ 285,00          |
|                              | <b>total</b>    | <b>R\$ 126,90</b>         | <b>R\$ 1.268,97</b> |
| <b>Custo Produto +Coleta</b> |                 | <b>R\$ 126,90</b>         | <b>R\$ 1.268,97</b> |

## **BOVINOS E OVINOS**

Técnica de punção folicular guiado por ultra-som:

Maximizar o aproveitamento dos óvulos produzidos nos ovários, levando-os a um sistema de produção *in vitro* de embriões.

## **BOVINOS E OVINOS**

- **VANTAGENS**

- Aumento e da maior velocidade de produção de crias e conseqüentemente ganho genético;
- Formação de banco de ovócitos criopreservados;
- Recuperação de material genético - problemas reprodutivos adquiridos;
- Produção de embriões a partir de fêmeas imaturas, diminuindo assim o intervalo entre gerações;
- Pode ser realizada durante todo o ano;
- Não são necessários protocolos extensos no preparo das doadoras;
- Uma única dose de sêmen é capaz de fecundar os oócitos de várias doadoras.

## **BOVINOS E OVINOS**

- Em que casos utilizar:
  - Matrizes com aderência, obstrução de trompas e outros problemas;
  - Pré-púberes, diminuindo o intervalo entre gerações;
  - Preferencialmente doadoras paridas e em boa condição corporal;
  - Multiplicação de genética superior.

## **BOVINOS E OVINOS**

- Coleta:
  - Superovuladas – 13 ovócitos
  - Não Superovuladas – 6 ovócitos

## **BOVINOS E OVINOS**

- Laboratório:
  - Períodos de maturação e preparação do sêmen (filtragem, purificação e concentração);
  - Fecundação (oócitos e espermatozóide);
  - Divisão celular com bipartições celulares até mórula e blastocistos, serão implantadas nas receptoras nas propriedades.



Zigoto



Embrião



Mórula



Blastocisto

## **BOVINOS E OVINOS**

- Receptoras:
  - Implante por laparotomia ou laparoscopia (ovinos)
  - Confirmação de prenhez.

## Taxas de Concepção TE & FIV

### Vacas

|            | Num. Impalntes | Prenheses | TX Concepção |
|------------|----------------|-----------|--------------|
| Fresco     | 1521           | 720       | 47,3%        |
| Congelados | 504            | 214       | 42,5%        |
| FIV        | 122            | 53        | 43,4%        |

### Novilhas

|            | Num. Impalntes | Prenheses | TX Concepção |
|------------|----------------|-----------|--------------|
| Fresco     | 284            | 191       | 67,3%        |
| Congelados | 51             | 26        | 51,0%        |
| FIV        | 192            | 86        | 44,8%        |

## TAXA DE CONCEPÇÃO X DIA DO CICLO ESTRAL DA RECEPTORA.

| Embryo     | 6     | 7     | 8     |
|------------|-------|-------|-------|
| Conception | 37.7% | 46.9% | 45.6% |

Jardina *et al.*, 2006 -  $p=0.053$



| Embryo     | 6                | 7                | 8                |
|------------|------------------|------------------|------------------|
| Conception | 45.5%<br>(10/22) | 63.2%<br>(55/87) | 58.3%<br>(14/24) |

Demétrio, 2006

**nupeec**

**PID**

Programa Integrado de Diagnóstico



**OBRIGADO!!!**

