

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CEARÁ
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

Cláudio Henrique Nogueira de Medeiros

**EFEITO DE SUCESSIVOS TRATAMENTOS SUPEROVULATÓRIOS COM
pFSH SOBRE A RESPOSTA OVULATÓRIA E PRODUÇÃO DE EMBRIÕES DE
CABRAS BOER E POSTERIOR SOBREVIVÊNCIA EMBRIONÁRIA APÓS
TRANSFERENCIA EM RECEPTORAS SEM RAÇA DEFINIDA**

Fortaleza
2005

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CEARÁ
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

Cláudio Henrique Nogueira de Medeiros

Título:

**EFEITO DE SUCESSIVOS TRATAMENTOS SUPEROVULATÓRIOS COM
pFSH SOBRE A RESPOSTA OVULATÓRIA E PRODUÇÃO DE EMBRIÕES DE
CABRAS BOER E POSTERIOR SOBREVIVÊNCIA EMBRIONÁRIA APÓS
TRANSFERENCIA EM RECEPTORAS SEM RAÇA DEFINIDA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Faculdade de Veterinária da Universidade Estadual do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do Título de Mestre em Ciências Veterinárias.

Área de concentração: Reprodução e Sanidade Animal

Orientador: Prof. Dr. Airton Alencar de Araújo

Fortaleza – Ceará

NOVEMBRO/2005

M488e Medeiros, Cláudio Henrique Nogueira de
Efeito de sucessivos tratamentos superovulatórios com pFSH
sobre a resposta ovulatória e produção de embriões de cabras Boer e posterior
sobrevivência embrionária após transferência em receptoras sem raça
definida/Cláudio Henrique Nogueira de Medeiros._Fortaleza;2005.

40p.

Orientador: Prof.Dr. Airton Alencar de Araújo
Dissertação(mestrado em Ciências Veterinárias)
Universidade Estadual do Ceará, Faculdade de Veterinária.
Fortaleza: UECE, 2005.

1.Caprinos-reprodução 2. Caprinos-embrião
3.Universidade Estadual do Ceará

**EFEITO DE SUCESSIVOS TRATAMENTOS
SUPEROVULATÓRIOS COM pFSH SOBRE A RESPOSTA
OVULATÓRIA E PRODUÇÃO DE EMBRIÕES DE CABRAS
BOER E POSTERIOR SOBREVIVÊNCIA EMBRIONÁRIA APÓS
TRANSFERENCIA EM RECEPTORAS SEM RAÇA DEFINIDA.**

Cláudio Henrique Nogueira de Medeiros

**Dissertação defendida e aprovada para a obtenção do grau de Mestre
em Ciências Veterinárias.**

Fortaleza, 25 de Novembro de 2005

Comissão Examinadora:

Prof. Dr. Airton Alencar de Araújo - UECE

Orientador

Prof. Dr. Vicente José de Figueiredo Freitas - UECE

Examinador

Prof. Dra. Ana Cláudia Nascimento Campos - UFC

Examinadora

A DEUS acima de tudo.

Ao meu pai Medeiros pelas lições de vida e orgulho de tê-lo como meu pai.

À minha mãe Aldair por Deus ter me concedido à graça de ter nascido seu filho.

Aos meus irmãos André Luiz, Michael, Carlos Artur e Monique pela força e incentivo.

A minha esposa Sirla pela compreensão nos meus momentos de ausência.

Aos meus filhos Pedro Henrique e Nauan, por serem a razão de minha vida.

Ao meu primo Rogério, pelo ser humano maravilhoso e irmão que é.

Ao meu tio Emmanoel e meu primo Ronaldo por me darem à certeza que de onde estão oram por mim.

À GP- CAPRINOS E OVINOS por ser responsável por muito que aprendi.

A todos meus verdadeiros amigos.

Dedico

AGRADECIMENTOS

A UECE, por ter me amparado durante todo o período do meu curso.

A CAPES pela bolsa de estudo durante o decorrer do curso.

Aos meus orientadores Dr. Airton de Alencar Araújo e Dr. Vicente José de Figueiredo Freitas, pela competência profissional, orientação, estímulo, confiança a mim dispensados e pela suas honrosas amizades.

Ao Drs. David Rondina e José Valmir Feitosa pela execução da estatística do presente trabalho.

Ao Médico Veterinário e irmão André Luiz pela sua fundamental colaboração para o êxito deste trabalho.

A todos os meus professores do Mestrado pelos conhecimentos transmitidos.

À coordenação e secretaria do programa de pós-graduação em medicina veterinária - UECE, nas pessoas da Adriana e Alzenira.

À GP-Genética e Produção de Caprinos e Ovinos LTDA. pelo fornecimento e permissão de uso dos dados.

Aos amigos Alexandre Weick, Lucas Mesquita e Gerlan Matias, pelo incentivo e por me fazerem continuar acreditando em amizades verdadeiras.

Aos todos os funcionários da GP-GENÉTICA, pela colaboração na realização do trabalho.

À todos que direta ou indiretamente contribuíram para o êxito deste trabalho.

RESUMO

Este trabalho objetivou avaliar o efeito de sucessivos tratamentos superovulatórios com pFSH na produção de embriões caprinos da raça Boer e verificar a sobrevivência destes embriões após inovulação. O experimento foi realizado na GP - Genética e Produção de Caprinos e Ovinos LTDA.(Quixadá-CE). O tratamento superovulatório de cinco cabras doadoras da raça Boer foi realizado com esponjas vaginais impregnadas com medroxi-progesterona - MAP (Promone-e® -Tuco, USA) e a aplicação intramuscular de 250 UI de pFSH (Pluset® - Serono,Uruguai) divididas em seis doses decrescentes intervaladas em 12 h. As inseminações foram realizadas por via transcervical, 12 e 24 horas após detecção de estro, utilizando o sêmen diluído em solução a base de água de coco numa concentração de 200×10^6 espermatozoides por palheta de 0,25 mL, este sêmen foi obtido de um reprodutor Boer de fertilidade comprovada. A colheita foi realizada pelo método transcervical. As receptoras tiveram o estro sincronizado pelo uso do mesmo progestágeno das doadoras e receberam 400 UI de eCG (Novormon® -Sintex, Argentina) e 75 µg de Cloprostenol (Ciosin® - Coopers, Brasil). A inovulação foi realizada por semi-laparoscopia. Os dados foram expressos sob a forma de média e avaliados pelo procedimento GLM do SAS (SAS, 2000) e submetidas à transformação logarítmica, em seguida, as comparações entre as repetições (efeito da repetição do tratamento de superovulação) foram avaliadas pelo teste de Tukey a 5% de significância. O número de ovulações variou de 9,8 a 0,8, havendo diferença significativa a partir do terceiro tratamento. Em adição, o número de estruturas colhidas foi também afetado, existindo diferença significativa a partir do quarto tratamento. A taxa de recuperação de estruturas colhidas pouco variou com a repetição do tratamento (75% a 50%), não sendo observada diferença estatística. A fertilidade das receptoras variou de (0 a 48,4) entre a primeira e a quinta repetição. Conclui-se que doadoras da raça Boer apresentam uma boa resposta superovulatória até o 3º tratamento consecutivo com pFSH e a diminuição desta resposta superovulatória foi seguida de uma queda na produção de embriões. No entanto, a partir da avaliação morfológica dos embriões colhidos, o efeito da repetição do tratamento superovulatório desaparece e não se encontra diferença significativa para os parâmetros posteriores a esta avaliação, ou seja, sobrevivência embrionária e sobrevivência ao parto.

ABSTRACT

The objective of the present study was to evaluate the effect of successive superovulatory treatments with pFSH on the production of Boer goat embryos and to determine the survival

rate of embryos implanted in recipients of undetermined race. The experiment was carried out at GP Genética e Produção de Caprinos e Ovinos Ltda. (Quixadá, Ceará). Five Boer goats were submitted to superovulatory treatment using vaginal sponges imbued in medroxyprogesterone - MAP (Promone-e® - Tuco, USA) and intramuscular injections of 250 IU of pFSH (Pluset® - Serono, Uruguai) divided into six tapered doses administered at 12-hour intervals. Transcervical insemination was performed 12 and 24 hours after estrus detection using semen obtained from a Boer male of proven fertility. The semen was diluted in a coconut water-based solution at 200×10^6 spermatozoa per 0.25 mL. The embryos were recovered transcervically. The recipients were given 400 IU of eCG (Novormon® - Sintex, Argentina) and 75 µg of Cloprostenol (Ciosin® - Coopers, Brazil) and their estrus was synchronized with progestagen with the donors. The embryos were implanted by semi-laparoscopy. The results were expressed as average values, tested with the SAS-GLM procedure (SAS, 2000) and submitted to logarithmic transformation. Comparisons between treatment repetitions were verified with the Tukey test at a 5% level of significance. The number of ovulations ranged from 9.8 to 0.8 on the average, with a significant difference observed from the third treatment on. In addition, the number of recovered structures varied significantly following the fourth treatment. The structure recovery rate (range 75%-50%) was not significantly associated with treatment repetition. Recipient fertility varied from 0 to 48.4 between the first and fifth repetition. In conclusion, donors of the Boer race presented a good ovulatory response up to the third consecutive treatment with pFSH, with ovulation decreasing proportionally with the production of embryos. However, the parameters of subsequent stages, such as embryo survival and birth survival, were not significantly associated with treatment repetitions, nor with the morphological characteristics of the recovered embryos.

Lista de abreviaturas

µg	-	Micrograma
CL	-	Corpo lúteo
DPBS	-	Tampão salino fosfatado Dulbecco ®
EC	-	Estruturas colhidas
eCG	-	Gonadotrofina coriônica eqüina
EV	-	Embriões viáveis
g	-	Grama
GLM	-	General Linear Model
GnRH	-	Hormônio liberador de gonadotrofinas
h	-	Horas
IA	-	Inseminação artificial
IBGE	-	Instituto brasileiro de geografia e estatística
IM	-	Intramuscular
LH	-	Hormônio luteinizante
LTDA	-	Limitada
MAP	-	Acetato de medroxiprogesterona
mg	-	Miligrama
mHz	-	Megahertz
ml	-	Mililitro
Nº	-	Número
OD	-	Ovário direito
OE	-	Ovário esquerdo
PB	-	Proteína bruta
pFSH	-	Hormônio folículo estimulante porcino

PGF_{2α}	-	Prostaglandina F _{2α}
PO	-	Puro por origem
PMSG	-	Gonadotrofina sérica de égua prenhe
SRD	-	Sem raça definida
TE	-	Transferência de embriões
TxEV	-	Taxa de embriões viáveis
TxPE	-	Taxa de perdas embrionárias
TxR	-	Taxa de recuperação
TxSE	-	Taxa de sobrevivência embrionária
TxSP	-	Taxa de sobrevivência ao parto
UI	-	Unidades internacionais
ZP	-	Zona pelúcida

Lista de tabelas

Tabela 1. Estádio de desenvolvimento embrionário de acordo com o tempo (dias) após o início do estro e sua localização no sistema reprodutivo de cabras.

Tabela 2. Número médio de ovulações, número total de ovulações, estruturas colhidas e taxa de recuperação de embriões em doadoras Boer tratadas com pFSH por cinco vezes consecutivas.

Tabela 3. Estruturas viáveis, taxa de embriões viáveis, taxa de sobrevivência embrionária, taxa de sobrevivência ao parto e taxa de perdas embrionárias.

SUMÁRIO

1) INTRODUÇÃO	01
2) REVISÃO DE LITERATURA	03
2.1) Técnica de transferência de embriões.....	03
2.2) Superovulação.....	03
2.3) Colheita de embriões.	05
2.3.1) Cirúrgica ou laparotomia.....	05
2.3.2) Por laparoscopia ou Semi-cirúrgica.....	06
2.3.3) Transcervical.....	06
2.4) Avaliação embrionária.....	08
2.5) Inovulação.....	09
2.6) Efeito de sucessivos tratamentos superovulatórios.....	10
3) JUSTIFICATIVA	12
4) HIPÓTESES	13
5) OBJETIVOS	14
5.1) Objetivo geral	14
5.2) Objetivos específicos	14
6) MATERIAL E MÉTODOS	15
6.1) Local do experimento	15
6.2) Seleção das doadoras.....	15
6.3) Tratamento superovulatório.....	15
6.4) Inseminação artificial.....	16
6.5) Colheita dos embriões.....	16
6.6) Sincronização de estro e inovulação das receptoras.....	16
6.7) Diagnóstico de gestação.....	17
7) ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	18
8) RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	19
9) CONCLUSÕES.....	22
10) PERSPECTIVAS.....	23
11) REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	24
12) ANEXO.....	33

1. INTRODUÇÃO

A caprino-ovinocultura brasileira predomina na região Nordeste, uma vez que se encontra na Região um efetivo de 6.176.457 milhões (93,7%) de caprinos e 6.717.980 milhões (48,1%) de ovinos do efetivo brasileiro que é da ordem de 6.590.646 milhões e 13.954.555 milhões de cabeças do efetivo nacional brasileiro (IBGE, 1998), de caprinos e ovinos respectivamente, tem se expandido em todo o País.

A raça Boer originada da África do Sul possui muita rusticidade e precocidade características que se adequam ao nordeste brasileiro, de aptidão para corte, esta foi introduzida no Estado Ceará por meio de importação de embriões congelados (Araújo, 1994).

Tecnologias como a criopreservação do sêmen e a inseminação artificial (IA) já são realidades e associadas ou não, ampliam substancialmente a capacidade reprodutiva dos machos. Por outro lado, dentre os avanços biotecnológicos, ora disponíveis, a transferência de embriões (TE), técnica de manejo da reprodução ainda em fase de consolidação no Brasil, tem como principal objetivo a maximização reprodutiva da fêmea, explorando assim seu potencial biológico ao extrapolar suas possibilidades naturais, e contribuindo para a disseminação de animais geneticamente superiores.

A viabilidade da transferência de embriões nas espécies caprina e ovina foi primeiramente demonstrada por Warwick et al. (1934) e Warwick & Berry (1949), nos Estados Unidos. Por outro lado, grande contribuição para a compreensão dos diferentes estádios de desenvolvimento do embrião caprino foi dada por Amoroso et al. (1942).

No Brasil na espécie ovina, Selaive & Mies Filho (1979) descreveram o nascimento das três primeiras crias oriundas de TE, com embriões frescos, por laparotomia, no estado do Rio Grande do Sul. A transferência de embriões além de permitir a multiplicação rápida de indivíduos geneticamente superiores, dentro da raça, favorece também, a redução do intervalo entre gerações por possibilitar a obtenção de embriões de fêmeas doadoras jovens, até mesmo, pré-púberes, como descrito por Majumbar et al. (1990) e Salles et al. (1997), na espécie caprina.

Por sua vez, a transferência de embriões associada à criopreservação, possibilita a comercialização de material genético dentro e entre países, a introdução de novos genótipos em rebanhos por um preço mais acessível e a formação de bancos de germoplasma de raças nativas ou naturalizadas ameaçadas de extinção

O controle do estro e da ovulação das doadoras e receptoras é de fundamental importância para a implementação, com sucesso, de um programa de transferência de embriões, independente do uso de embriões frescos ou criopreservados. Ainda, é a partir do uso de hormônios gonadotróficos exógenos que se possibilita a obtenção de um maior número de folículos ovarianos em desenvolvimento, levando as múltiplas ovulações (Moor et al., 1984).

A resposta ovariana à administração exógena de gonadotrofina, visando a superovulação em ruminantes, tem apresentado muitas variáveis e até mesmo sendo imprevisível. Esta variabilidade é atribuída a fatores como a idade, a raça, a condição nutricional e sanitária, a droga utilizada, bem como o fabricante e a partida, a dosagem e a influência ambiental (Mapletoft et al., 1991).

Tem sido produzido e comercializado no Brasil um FSH de origem de extrato de hipófise suína (pFSH), que foi utilizada por Lima (1989); Wischral et al., (1989); Pereira et al., (1991) e Oliveira (1992), os quais obtiveram taxas de ovulação de 9,73; 11,3; 19,2; 10,0, respectivamente. Fisiologicamente, a taxa média de ovulação na espécie caprina é de dois a três ovócitos (Pineda, 1989).

Doadoras caprinas tratadas pFSH apesar de mostrarem melhores respostas, quando o tratamento é repetido por várias vezes, também, apresentam redução na resposta quanto à taxa de ovulação e ao número de embriões viáveis, devido à produção de anticorpos anti-FSH. Em contrapartida, o FSH de origem caprina ou ovina não desencadeia resposta imunológica em caprinos (Baril et al., 1992).

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Técnica de Transferência de Embriões

A TE é uma biotécnica que permite recolher embriões de uma fêmea doadora de elevada qualidade genética e transferi-los para fêmeas receptoras, com a finalidade de complementarem o período de gestação. Sua importância básica para a produção animal consiste na possibilidade de uma fêmea de alto valor genético produzir um número de descendentes muito superiores ao que seria possível obter fisiologicamente durante sua vida reprodutiva (Reichenbach et al., 2001). Além disso, esta técnica possui muitas vantagens, dentre elas podemos destacar: a rápida multiplicação de fêmeas geneticamente superiores, introdução de raças exóticas em uma região ou país, preservação de espécies em perigo de extinção, facilitar o teste de progênie em fêmeas, minimizar o risco de introdução de doenças exóticas, eliminar o estresse dos animais importados em decorrência do transporte, minimizar os riscos por perda e os custos com a importação de germoplasma (Freitas & Simplício, 2001).

As primeiras transferências de embriões em caprinos foram realizadas por Warwick et al. (1934) e por Warwick & Berry (1949) nos Estados Unidos. No Brasil, as primeiras experiências nesta espécie foram realizadas por Chow et al. (1986) que, ao transferirem cinco embriões da raça Saanen para duas receptoras mestiças, obtiveram aborto de dois fetos de sexos diferentes aos 130 dias de prenhez. Entretanto, o nascimento de crias caprinas viáveis oriundas de transferência a fresco foi descrito por Wischral et al. (1989) em Pernambuco.

2.2. Superovulação

O controle do estro e da ovulação das doadoras e receptoras é de fundamental importância para a implementação, com sucesso, de um programa de transferência de embriões, independente do uso de embriões frescos ou criopreservados. Ainda, é a partir do uso de hormônios gonadotróficos exógenos que se possibilita a obtenção de um maior número de folículos ovarianos em desenvolvimento, levando a múltiplas ovulações (Moor et al., 1984).

Contudo, a resposta superovulatória está sujeita a grandes variações, as quais podem decorrer de fatores intrínsecos como raça, idade, variação individual e estágio da lactação e, extrínsecos, ou seja, nutrição, saúde, época do ano e a gonadotrofina usada (Armstrong & Evans, 1983; Meinecke-Tillman et al., 1987; Doijode et al., 1992; Senn & Richardson, 1992).

Em decorrência da aplicação única e do seu baixo custo relativo, a gonadotrofina coriônica equina (eCG) tem sido bastante utilizada. No entanto, em caprinos, os extratos hipofisários e o hormônio folículo estimulante (FSH), originados das espécies humana, equina, suína, ovina e caprina oferecem respostas mais consistentes no tocante a taxas de ovulação e à obtenção de um maior número de embriões viáveis (Armstrong et al., 1983; 1983B; Del Campo et al., 1985; Pedleton et al., 1992; Baril et al., 1992; Traldi et al., 1995).

Preparações de hormônio folículo estimulante (FSH) que apresentam uma alta relação LH:FSH podem desencadear eventos indesejáveis a resposta dos ovários, como a ativação prematura de oócitos. Em consequência, alguns desses ovócitos são retidos em folículos luteinizados enquanto, outros são ovulados e, posteriormente, fecundados, mas, por serem velhos contribuirão para o número de embriões de má qualidade (Moor et al., 1984). A concentração sanguínea de FSH está associada ao número de embriões produzidos, enquanto que, a de LH, à viabilidade deles (Donaldson, 1985).

A quantificação das concentrações sanguíneas das gonadotrofinas favorece ao uso de apenas uma IA, em horário pré-estabelecido, com resultados semelhantes aos obtidos com a IA após a observação da fêmea para ocorrência de estro (Vallet & Baril, 1990).

Visando melhor sincronizar os intervalos entre as ovulações após o tratamento gonadotrófico, Baril et al. (1994) usaram um antagonista do hormônio liberador das gonadotrofinas (GnRH), em aplicação única e por via intramuscular, 12 horas após a remoção das esponjas intravaginais seguida de uma administração intravenosa de LH-suíno, 24 horas mais tarde. Doadoras caprinas tratadas com FSH de origem suína apesar de mostrarem melhores respostas, quando o tratamento é repetido por várias vezes, também, apresentam redução na resposta quanto à taxa de ovulação e ao número de embriões viáveis, devido à produção de anticorpos anti-FSH. Em contrapartida, o FSH de origem caprina ou ovina não desencadeia resposta imunológica em caprinos (Baril et al., 1992).

O protocolo de uso do FSH em seis a oito aplicações, em doses decrescentes, não é prático e contribui significativamente para estressar os animais e onerar os custos, o que tem levado a busca de alternativas. Dentre estas tem sido avaliadas, a aplicação única de FSH associada a uma baixa dose de eCG, em caprinos (Batt et al., 1993) e o emprego, também, de uma única aplicação de FSH diluído em veículo a base de polivinilpirrolidona, com taxa de ovulação de $8,6 \pm 4,8$ e de recuperação embrionária de 68,1%, em ovinos (Dattena et al., 1994). No Brasil, este último protocolo foi avaliado em caprinos e ovinos por Santos et al. (2000a,b) porém, as taxas de ovulação, em ambas as espécies, variaram de 1,75 a 3,3.

2.3. Colheita de embriões

Basicamente, a colheita de embriões em cabras tem sido realizada por meio da técnica cirúrgica (laparotomia) de modo semelhante ao descrito na espécie ovina por Hunter et al. (1955). Neste item serão apresentadas as principais técnicas para colheita de embriões em caprinos.

2.3.1. Cirúrgica ou por laparotomia

Devido à impossibilidade de se manusear os cornos uterinos e a cérvix por palpação retal em caprinos é que na atualidade, o método de colheita mais utilizado nesta espécie ainda é a laparotomia (Tervit et al., 1983; Kraemer, 1989; Ishwar & Memon, 1996).

Esta técnica apresenta alguns entraves como consequência do seu uso prolongado, quais sejam: desenvolvimento de aderências de ovários, trompas e cornos uterinos entre si e com órgãos adjacentes ao sistema genital (Pegoraro-Rumpf et al., 1992; Andrioli-Pinheiro, 1993), estresse da anestesia e da cirurgia, o alto custo e o uso limitado da doadora por apenas duas a quatro vezes.

A técnica consiste em anestésiar o animal e realizar uma incisão na linha alba para posterior exteriorização dos cornos uterinos. A lavagem deve ser realizada com 40 a 50 mL de tampão salino fosfatado Dulbecco® (DPBS) para cada corno uterino, na temperatura de 37°C e no sentido do corpo do útero para a junção útero-tubárica, onde se encontra uma sonda munida de um cateter de colheita (Pereira et al., 1991).

Senlis (1990) observou taxas de recuperação por esta técnica de 71%, 65% e 42%, para a primeira, segunda e terceira ordem de repetição, ressaltando, desta forma, os efeitos deletérios pela execução continuada da técnica.

2.3.2. Por laparoscopia ou Semi-cirúrgica

A colheita de embriões por laparoscopia possibilitou a ampliação do uso da transferência de embriões em caprinos, tornando a laparotomia uma técnica imprópria para uso, a médio e longo prazo, em especial nas doadoras de alto valor genético.

Também chamada de semi-cirúrgica, esta técnica consiste em realizar três pequenas punções na cavidade abdominal próximo ao úbere, onde serão introduzidas a pinça atraumática, a fonte de luz e a sonda de lavagem.

Taxas de recuperação de 63,2%; 62,3% e 60,7% para a primeira, segunda e da terceira a sétima colheita, nesta ordem, têm sido descritas ao se realizar a colheita de embriões caprinos por laparoscopia (Vallet et al., 1987). Apesar da taxa de colheita ser menor que pelo método cirúrgico convencional e necessitar de pessoal capacitado, cada doadora pode ser submetida à colheita por mais de sete vezes sem graves problemas de aderência.

2.3.3. Transcervical

Visando minimizar os traumas e diminuir os custos decorrentes da técnica cirúrgica, além assegurar a colheita de embriões numa mesma doadora por várias vezes é que se procurou adaptar ao caprino a técnica de colheita pela via cervical (Pereira et al., 1991; Flores-Foxworth et al., 1992) a qual é utilizada com êxito nos bovinos. Todavia, uma das dificuldades do uso desta técnica é o estreito diâmetro da cérvix da cabra, restringindo a passagem do cateter. Várias técnicas vêm sendo utilizadas com o objetivo de facilitar este processo e que consistem, basicamente, em fixar a cérvix da fêmea previamente anestesiada, tracioná-la, introduzir o cateter de lavagem e iniciar as lavagens (Pereira et al., 1991).

Bondurant et al (1984) divulgaram a primeira colheita de embriões em cabras leiteiras pela via transcervical, seguindo-se a uma inovulação cirúrgica e o subsequente nascimento de duas crias a termo. Uma taxa de recuperação de 89,5% e um número médio de 3,6 embriões colhidos por fêmea submetida à colheita transcervical em cabras Shiba

pluríparas foram descritas por Nagashima et al. (1987). Goel et al. (1995) descreveram a colheita de embriões pela via cervical em 15 cabras, e em 14 delas (93,3%) a cérvix foi permeável ao cateter, apresentando uma taxa de recuperação da solução de lavagem de 70% mas, em apenas cinco cabras foram colhidos embriões em diferentes estádios de desenvolvimento. Suyadi et al. (2000) obtiveram 95% de permeabilidade ao cateter em cabras Boer submetidas a esta técnica.

No Brasil, taxas de recuperação de 39,6% e 57,1% foram alcançadas por Pereira et al. (1991) e Andrioli-Pinheiro (1993), respectivamente. Lima et al. (1996), trabalhando com cabras SRD, descreveram taxas de colheita pela via transcervical de 48,2% e 46,8% com as fêmeas em estação e em decúbito dorsal, respectivamente. Suyadi et al. (2000) obtiveram 79% de taxa de recuperação com aplicação de prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) 8 horas antes das lavagens. Utilizando o mesmo protocolo, Pereira et al. (1998) obtiveram taxas de recuperação embrionária de 91%, 16 ou 8 horas antes das colheitas por esta técnica. Os mesmos autores descrevem como desvantagem deste método, o tempo requerido para as lavagens, o qual foi de aproximadamente 45 minutos para cada fêmea. A utilização das prostaglandinas (E_1 , E_2 e $F_{2\alpha}$) ou em associação com o cipionato de estradiol algumas horas antes da colheita, tem favorecido a permeabilidade da cérvix ao cateter ou sonda de colheita (Barry et al., 1990; Van Niekerk et al., 1990; Pereira et al., 1996), além de não afetar negativamente a viabilidade embrionária (Barry et al., 1990).

Segundo Freitas & Simplício (2001), independentemente da técnica utilizada para colheita de embriões, esta deve ser realizada entre o sexto e oitavo dia após o início do estro e este intervalo considera os seguintes fatores:

- a) a passagem do embrião da tuba uterina para o útero dá-se entre o quarto e o início do quinto dia pós-estro.
- b) a legislação sanitária determina que o embrião seja transferido com a zona pelúcida (ZP) íntegra, isto é, antes da eclosão que ocorre, geralmente, no oitavo dia pós-estro, sempre que se tratar de intercâmbio de germoplasma entre regiões e/ou países.
- c) a criopreservação é tecnicamente dominada somente para embriões em estágio de mórula compacta e de blastocisto.
- d) a proporção de embriões em estágio de mórula no sexto dia pós-estro é relativamente alta e, por conseguinte, é preferível realizar a colheita no sexto dia após o início do estro.

2.4. Avaliação embrionária

A morfologia embrionária é utilizada como uma ferramenta na transferência de embriões com o intuito de otimizar esta técnica. Contudo, este procedimento é realizado com base na experiência do avaliador.

O líquido recuperado deve ser imediatamente depositado em placa de Petri de fundo quadriculado e examinado em estereomicroscópio para localização e classificação dos embriões. Os embriões destinados à criopreservação para posterior cultivo e/ou inovulação, devem ser colhidos por volta do sexto ou sétimo dia após a fecundação das doadoras. Segundo Baril et al. (1995), estes embriões, quando colhidos no mesmo dia, podem apresentar ligeiras diferenças no seu desenvolvimento embrionário na mesma doadora ou em doadoras diferentes.

Embriões caprinos apresentam um atraso de 12 a 24 horas no seu desenvolvimento em relação a ovinos (Moore, 1980). No sétimo dia após o início do estro, a proporção de embriões em estágio de blastocisto e blastocisto eclodido é mais elevada em ovelhas que em cabras (95% vs 63%) (Meinecke & Meinecke-Tillman, 1990).

Tabela 1: Estádio de desenvolvimento embrionário de acordo com o tempo (dias) após o início do estro e sua localização no sistema reprodutivo de cabras.

Dias pós-estro	Classificação morfológica	Localização
2	2 células	tuba uterina
3-4	4 a 8 células	tuba uterina
4-5	16 células	útero
5-6	mórula	útero
6	mórula compacta	útero
7	blastocisto inicial	útero
7-8	blastocisto	útero
8-9	blastocisto expandido	útero
9	blastocisto em eclosão	útero
9-10	blastocisto eclodido	útero

Adaptado de Armstrong et al. (1983) e IETS (1998)

A qualidade dos embriões é geralmente estimada pelo seu aspecto morfológico. Este exame é realizado em estereomicroscópio (aumento de 80x) e observando-se dois aspectos:

- a) ZP: deve apresentar uma perfeita integridade (ausência de fissuras) e estar perfeitamente esférica.
- b) Desenvolvimento embrionário: os embriões que apresentam um atraso superior a 48 horas são eliminados. Qualquer que seja o seu estágio de desenvolvimento embrionário, o embrião deve apresentar-se esférico e o contorno das células que o compõem, perfeitamente visíveis.

De acordo com a Sociedade Internacional de Transferência de Embriões (1998), os embriões devem ser classificados quando à sua qualidade em:

- a) Grau I (excelente ou bom): massa embrionária simétrica e esférica com blastômeros individuais, que são uniformes em tamanho, cor e densidade. Embrião consistente com seu estágio de desenvolvimento esperado. Irregularidades menores e 85% do material celular devem ser de massa embrionária viável intacta. A ZP deve ser lisa e não ter superfícies côncavas ou planas, que possam causar aderência do embrião a uma placa de Petri ou a uma palheta.
- b) Grau II (regular): irregularidades moderadas na forma geral da massa embrionária ou no tamanho, cor e densidade das células individuais. Ao menos 50% do material celular deve formar uma massa embrionária viável, intacta.
- c) Grau III (pobre): irregularidades maiores na forma da massa embrionária ou no tamanho, cor e densidade das células individuais. Ao menos 25% do material celular deve compor uma massa embrionária viável, intacta.
- d) Grau IV (morto ou degenerado): embriões em degeneração e não viáveis.

2.5. Inovulação

Quanto a inovulação, a técnica por laparoscopia ganhou espaço em relação à laparotomia, permitindo a transferência dos embriões para a junção útero-tubárica e minimizando a possível ocorrência de aderências, situação esta comum quando a transferência é cirúrgica. Salles et al. (1996) descrevem a semi-laparoscopia como alternativa segura para a inovulação em caprinos. A técnica permite a avaliação dos ovários, a exposição da junção útero-tubárica adjacente ao ovário com, pelo menos, um

corpo lúteo funcional, e a transferência dos embriões contidos num tubo capilar que é acoplado a uma seringa de 1ml.

Evidencia-se que, Flores-Foxworth et al. (1992) obtiveram 35,7% e 38,9% de prenhez após a inovulação por laparoscopia e via cérvix, respectivamente.

Agrawal & Bhattacharyya (1982), ao fazerem a inovulação pela via transcervical, conseguiram 42,9% de prenhez e uma sobrevivência embrionária de 11,8%. Já Otsuki & Soma (1964) descrevem 14,3% de partos ao fazerem, também, a inovulação pela via transcervical, enquanto Lin et al. (1979) alcançaram 62,5% de prenhez e uma sobrevivência embrionária de 54,5% ao inovularem 11 mórulas, através da cérvix, para oito receptoras.

2.6. Efeitos de sucessivos tratamentos superovulatórios

O uso da superovulação na transferência de embriões pode ser afetado devido a uma alta variabilidade na resposta de ovulatória e por um número variável de embriões transferidos e de descendentes obtidos. Esta variabilidade foi identificada classicamente por meio de fatores extrínsecos (fonte, pureza da gonadotrofinas e protocolo de administração) e fatores intrínsecos (raça, idade, nutrição e estado reprodutivo). Porém, vários estudos estão indicando que as principais causas da variabilidade estão relacionadas a fatores endócrinos e ovarianos. (Gonzalez-Bulnes et al, 2004).

A superovulação em cabras é frequentemente restringida devido ao custo e exigências de manipulação das gonadotrofinas (Pintado, et al 1998).

A superovulação em ovelhas mostra uma resposta ovulatória alta já no primeiro tratamento, mas efeitos colaterais de tratamentos repetidos (trauma cirúrgico, anticorpos anti-FSH) refletem numa baixa fertilidade (Cognie Y, 1999). Já Bari et al (2001) trabalhando com ovelhas usando gonodotrofinas de origem ovina por oito anos consecutivos acharam diferenças entre o efeito da repetibilidade de tratamentos com a resposta superovulatória, refletindo na recuperação dos embriões. A resposta ovariana a protocolos de superovulação deve estar relacionada às variações individuais no número de folículos de 2-4 mm existentes no começo de tratamento de FSH, e a viabilidade

embrionária é condicionada a esteróides, durante superovulação ovelhas (González-Bulnes et al, 2003).

3) JUSTIFICATIVA

A transferência de embriões é uma biotecnologia que tem contribuído para multiplicação do material genético de matrizes de alta qualidade tanto para a produção de leite quanto de carne. No Brasil, a raça Boer é atualmente a raça mais difundida para a produção de carne caprina, principalmente no Nordeste, e esta difusão está na dependência não somente da introdução nos nossos rebanhos de genes melhoradores pela utilização da inseminação artificial, como também da multiplicação da genética de matrizes pela técnica de transferência de embriões. Para tal, um eficiente tratamento de superovulação com FSH exógeno é necessário para o sucesso desta biotecnologia.

É conhecido que a utilização repetida de FSH exógeno em cabras, independente da origem da molécula, provoca a formação de anticorpos contra ela, levando a uma diminuição da resposta ovariana e conseqüentemente afetando as taxas de colheita de embriões, e provavelmente a viabilidade dos mesmos. Até o momento nenhum trabalho foi realizado para avaliar os efeitos de repetidos tratamentos hormonais em cabras Boer no Brasil, o que justifica, portanto, a realização deste trabalho.

4) HIPÓTESES

1- A resposta ovariana ao pFSH diminui significativamente após várias repetições do tratamento de superovulação em cabras doadoras de embrião da raça Boer.

2 - Após cinco repetições do tratamento de superovulação com pFSH, o rendimento da taxa de colheita de embriões e a viabilidade dos mesmos são afetados pelo efeito da repetição.

5) OBJETIVOS

5.1) Objetivo geral

Avaliar o efeito da repetição do tratamento de superovulação com pFSH sobre a resposta ovariana de cabras doadoras de embriões da raça Boer.

5.2) Objetivos específicos

- Verificar a taxa de ovulação em cabra doadoras da raça Boer após sucessivos tratamentos pFSH,
- Avaliar a taxa de colheita e a morfologia embrionária após sucessivos tratamentos com pFSH,
- Determinar a taxa de sobrevivência embrionária após a inovulação em receptoras sem raça definida.

6. MATERIAL E MÉTODOS

6.1. - Local do experimento

O trabalho foi conduzido e gerenciado pela GP – Genética e Produção de Caprinos e Ovinos LTDA. situada no município de Quixadá na região do sertão central do Estado do Ceará, de clima semi-árido 3° 45' 47" de latitude sul e 38° 31' 23" de longitude oeste, a uma altitude de 191m do nível do mar. Este experimento foi realizado durante os anos de 2004 e 2005.

6.2. – Seleção das doadoras

Foram selecionadas 5 fêmeas Boer P.O., cíclicas, nunca tratadas anteriormente com hormônios, pluríparas, com idade variando de 2 a 4 anos, vazias e escore corporal mínimo de 3,0, selecionadas por ecografia transretal (Ultra Scan 900® - Ami, Canadá) acoplado a um transdutor linear de 5 MHz. Os animais foram vermifugados e receberam 5 mL de ADE, foram submetidos a um manejo de estabulação completa durante 30 dias antes de cada colheita, onde foi ofertado um volumoso misto de capim elefante (*Pennisetum purpureum*) e leucena (*Leucaena leucocephala*), sal mineralizado e água fresca *ad libitum*, além de 600g/cabra/dia de um concentrado comercial contendo 20 % de Proteína bruta.

6.3. – Tratamento superovulatório

A sincronização de estro e tratamento superovulatório das doadoras foram realizados através da utilização de esponjas vaginais impregnadas com 50 mg de acetato de medroxi-progesterona- MAP (Promone-e® -tuco, USA), que foram introduzidas na porção cranial da vagina (Dia 0). Para a superovulação, no 9º dia após a colocação das esponjas, iniciou-se a aplicação intramuscular (IM) de 250 UI de gonadotrofina à base de extrato de hipófise suína - pFSH (Pluset® - serono, Uruguai), divididas em seis doses decrescentes: 65 - 65; 35 - 35 e 25 - 25 UI intervaladas a 12 h. No último dia do tratamento hormonal (Dia 11), pela manhã foi retirada a esponja vaginal e administrado também 125 µg Cloprostenol sódico (Ciosin® - cooper, Brasil), a aplicação foi repetida 12 h depois da primeira aplicação. Cada tratamento foi intervalado em 60 dias.

Os tratamentos de superovulações, as colheitas e as inovulações, foram repetidos por cinco vezes consecutivas e intervalados em sessenta dias. Em nenhum dos referidos tratamentos, o manejo, as drogas, suas administrações e horários foram alterados.

6.4. – Inseminação artificial

As inseminações foram realizadas por via transcervical, 12 e 24 horas após detecção de estro, utilizando o sêmen diluído em solução a base de água de coco numa concentração de 200×10^6 espermatozoides por palheta de 0,25 mL, este sêmen foi obtido de um reprodutor Boer de fertilidade comprovada.

6.5. – Colheita dos embriões

A partir das 13:00 h (Dia 18) as doadoras foram submetidas a jejum hídrico e sólido até o momento da colheita de embriões (Dia 19) pela manhã. Antes das colheitas as doadoras eram submetidas a uma laparoscopia para avaliação ovariana. No momento da colheita cada fêmea recebeu uma anestesia epidural baixa, logo após, contida em tronco de contenção, realizada uma higienização da vulva, foram introduzidos espéculos para localização, visualização e pinçamento da cérvix para sua exteriorização, então uma sonda nasogástrica pediátrica nº 10 foi introduzida intra-uterinamente e acoplada a um circuito fechado que liga diretamente o interior do útero ao filtro de recuperação. O meio de colheita PBS (PBS® - Dubellco, USA) foi injetado através da sonda diretamente no útero e recuperado para dentro do filtro milipore (filtro millipore® -nutricel, Brasil). O líquido recuperado então foi levado ao estereomicroscópio para pesquisa, quantificação e classificação das estruturas colhidas.

6.6. Sincronização de estro e inovulação das receptoras

A sincronização de estro das receptoras foi realizada com esponjas vaginais impregnadas com 50 mg de acetato de medroxiprogesterona - MAP (Promone-e® -tucos, USA), que foram introduzidas na porção cranial da vagina (Dia 0), no 9º dia após a colocação das esponjas, os animais receberam 400 UI de eCG (Novormon® -sintex, Argentina) e 75 µg de Cloprostenol sódico (Ciosin® - coopers, Brasil)

. No último dia do tratamento hormonal (Dia 11), pela manhã foi retirada a esponja vaginal. A detecção do estro foi realizada (Dias 12 e 13), utilizando um rufião quatro vezes por dia. A partir das 13:00 h (Dia 18) as receptoras foram submetidas a jejum hídrico e sólido e tricotomizadas previamente na região abdominal, esperando o momento das inovulações no dia 19 pela manhã.

As receptoras foram sedadas contidas em maca em decúbito dorsal, para realização da laparoscopia, em seguida foram feitas observações ovarianas nas quais se buscou a melhor resposta em quantidade e qualidade de corpos lúteos, para que no corno uterino ipsilateral

fosse procedida a inovulação dos embriões, ressaltando que apenas embriões de grau 1 e 2 foram considerados viáveis e inovulados.

6.7. – Diagnóstico de gestação

Decorridos 35 dias das inovulações as receptoras foram submetidas ao exame ultrasonográfico, utilizando-se um aparelho da marca Ami®, (modelo Ultra Scan 900) acoplado a um transdutor linear com 5 MHz de potência, na qual era confirmada a prenhez, quantificados os embriões e avaliado a sua viabilidade através dos batimentos cardíacos.

7. ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados foram expressos sob a forma de média e avaliados pelo procedimento GLM do SAS (SAS, 2000) e submetidas à transformação logarítmica, em seguida, as comparações entre as repetições (efeito da repetição do tratamento de superovulação) foram avaliadas pelo teste de Tukey a 5% de significância.

8. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas tabelas 1 e 2 estão expressos os resultados de cinco tratamentos consecutivos de superovulação em cabras da raça Boer com o emprego da técnica de colheita por via transcervical.

TABELA 02. Número médio de ovulações, número total de ovulações, estruturas colhidas e taxa de recuperação de embriões em doadoras Boer tratadas com pFSH por cinco vezes consecutivas.

ORDEM DE COLHEITA	n	Nº de Ovulações		Nº Total de ovulações	Estruturas Colhidas	Taxa De Recuperação
		OE	OD			
1	5	5,6 (3-9)	4,2 (1-7)	9,8 (49)	7,4 ^a (1-13)	75,5 (37)
2	5	4,2 (0-8)	3,6 (1-6)	7,8 (39)	5,6 ^{ab} (0-10)	71,8 (28)
3	5	1,6 (0-4)	2,2 (0-5)	3,8 (19)	2,4 ^{bc} (0-6)	63,2 (12)
4	5	1 (0-2)	0,4 (0-2)	1,4 (7)	0,8 ^c (0-2)	57,1 (4)
5	5	0,2 (0-1)	0,6 (0-1)	0,8 (4)	0,4 ^c (0-1)	50,0 (2)

OE (Ovário esquerdo), OD (Ovário direito).

a, b, c – Letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente (P < 0,05).

TABELA 03. Estruturas viáveis, taxa de embriões viáveis, taxa de sobrevivência embrionária, taxa de sobrevivência ao parto e taxa de perdas embrionárias.

ORDEM DE COLHEITA	n	Embriões Viáveis (Média)	Taxa de	Taxa de	Taxa de
			Embriões viáveis	sobrevivência embrionária	sobrevivência ao parto
1	5	6,6 ^a (3-13)	89,2 (33)	72,8 (24)	48,4 (16)
2	5	4,4 ^{ab} (0-9)	78,6 (22)	59,0 (13)	31,8 (7)
3	5	1,8 ^c (0-4)	75,0 (9)	44,4 (4)	33,3 (3)
4	5	0,6 ^c (0-2)	75,0 (3)	33,3 (1)	33,3 (1)
5	5	0,4 ^c (0-1)	100 (2)	50,0 (1)	0 (0)

a, b, c – Letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente (P < 0,05).

O número médio das ovulações medido pela contagem dos corpos lúteos visualizados, variou de 9,8 a 0,8 (P < 0,05), apresentando uma diferença significativa a partir do terceiro

tratamento, mostrando que a repetição do tratamento de superovulação afeta a resposta ovariana, uma vez que o número médio de ovulações diminui significativamente a partir da terceira repetição. Consequentemente o número de estruturas colhidas também foi afetado variando de 7,4 a 0,4 entre o primeiro e a quinta repetição respectivamente, com diferença significativa a partir do quarto tratamento ($P < 0,05$) (**tabela 1**).

Por outro lado, a taxa de recuperação de estruturas colhidas pouco variou com a repetição, 75% e 50% ($P < 0,05$) entre a primeira e a quinta repetição, o que demonstra uma boa eficiência da técnica de colheita por via transcervical na espécie caprina (**tabela 1**). Estes resultados são superiores aos obtidos por Oliveira (1992) que obteve taxa de recuperação de embriões de 40% e semelhantes ao de Flores-Foxworth et al. (1992) com 78,7% em média.

Na avaliação dos embriões viáveis, aqueles selecionados dentre as estruturas colhidas, considerou-se apenas os embriões que apresentavam os graus I e II. A repetição afetou o número médio de embriões viáveis ($P < 0,05$), contudo quando este resultado é expresso em taxa de embriões viáveis, não se observam variações importantes entre as repetições ($P < 0,05$). Isto significa dizer que os poucos embriões colhidos são de qualidade para serem inovulados, porém, a repetição do tratamento superovulatório após cinco colheitas consecutivas afeta o número sem influenciar a qualidade dos embriões.

A sobrevivência embrionária foi avaliada ao diagnóstico ultrasonográfico de gestação aos 35 dias após inovulação e ao parto. Os resultados mostram que pelo número e as taxas avaliadas as perdas embrionária foram em média acima de 15% desde a colheita até o parto.

As taxas de sobrevivência embrionária variaram de 72,8 a 33,3 e ao parto de 0 a 48,4%, entre a primeira e quinta colheita respectivamente, e estas taxas dependem da qualidade dos embriões inovulados, por esse motivo é que se observa 50% de sobrevivência embrionária ao diagnóstico na quinta colheita e 72 na primeira, isto é, um só embrião na quinta colheita foi responsável por 50% de dois viáveis que foram inovulados, confirmando ainda mais que a repetição do tratamento de superovulação diminui o número de embriões viáveis, mas não afeta sua qualidade quando inovulados que é avaliado pelas taxas de sobrevivência ao diagnóstico e ao parto (**tabela 2**).

O efeito de tratamentos repetidos em caprinos com substâncias originadas de outras espécies foi primeiramente relatado por Baril et al. (1992), que observaram diminuição da

resposta de estro e da fertilidade em cabras inseminadas depois de repetidos tratamentos com PMSG. O mesmo efeito sobre o rendimento da inseminação artificial foi ainda relatado por Roy et al (1999). Estes autores estudaram a presença dos anticorpos anti-PMSG em ovelhas quando do uso de tratamentos repetidos com a PMSG. A utilização de substâncias oriundas de outra espécie como a PMSG e o pFSH induzem o sistema imunológico a produzir anticorpos específicos contra estas moléculas que são consideradas estranhas ao organismo do animal. Estes anticorpos aumentam com a repetição do uso destas substâncias e, por sua vez, reagem com estas diminuindo o seu efeito hormonal.

Na transferência de embriões o pFSH é a substância mais difundida para os tratamentos de superovulação, e o mesmo efeito sobre o rendimento da colheita e taxa de parição tem sido observado após várias repetições, porém pouco se encontra relatos na literatura que avaliem esse efeito com mais precisão.

Um dos poucos trabalhos encontrados semelhantes a este foi realizado por Bari et al. (2001), que trabalhando com ovelhas da raça Scottish Blackface não observaram efeito da repetibilidade com o oFSH após oito tratamentos sucessivos, não observando uma diminuição no número de embriões colhidos. Isto sugere que o oFSH pode se constituir em uma alternativa viável para evitar o efeito negativo da repetibilidade com tratamento de superovulação.

9. CONCLUSÕES

Cabras da raça Boer doadoras de embriões apresentam boa resposta superovulatória até o 3º tratamento consecutivo com pFSH.

A diminuição da resposta superovulatória é proporcional à produção de embriões. No entanto, a partir da avaliação morfológica dos embriões colhidos, o efeito da repetição do tratamento superovulatório desaparece e não se encontra diferença significativa para os parâmetros posteriores a esta avaliação, ou seja, sobrevivência embrionária ao diagnóstico de gestação e sobrevivência ao parto.

10. PERSPECTIVAS

A muitas décadas o FSH de origem suína vem sendo utilizado no tratamento superovulatório de pequenos ruminantes com respostas satisfatórias, porém o seu uso em repetidos tratamentos em uma mesma doadora, demonstra que a resposta ovulatória pode ser comprometida. À luz da literatura atual, o uso do oFSH poderá ser a saída para executar diversos tratamentos superovulatórios sem alterar o nº de ovulações e de embriões produzidos.

No entanto a viabilidade econômica e a resposta a diversos tratamentos com o oFSH em cabras Boer necessitam ser testados.

11. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRAWAL, K.P.; BHATTACHARYA, N.K. Non-surgical transplantation of embryos in goats. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON GOATS PRODUCTION AND DISEASE, 3, 1982, Tucson, Arizona, USA. **Proceedings...** Tucson:University of Arizona. College of Agriculture, p.340, 1982.

AMOROSO, E. C.; GRIFFITHS, W. F. B.; HAMILTON, W. J. The early development of the goat (*Capra hircus*). **Journal of Anatomy**, v. 76, p.377-406, London, 1942.

ANDRIOLI-PINHEIRO, A. **Métodos de colheita e de inovulação de embriões caprinos (*Capra hircus*, Linnaeus, 1758) e os efeitos de repetidas colheitas na vida reprodutiva de doadoras**. São Paulo: Universidade de São Paulo, 1993. 100p. Dissertação (Mestrado).

ANUÁRIO ESTATÍSTICO DO BRASIL, Rio de Janeiro, **IBGE**, v. 58, p. 3-54,1998.

ARAÚJO, A.A. **Viabilidade técnica da transferência de embriões congelados na espécie caprina em clima tropical**. Fortaleza: Universidade Estadual do Ceará, 1994. 39p. Dissertação (Mestrado).

ARMSTRONG, D. T.; PFITZNER, A. P.; WARNERS, G. M.; SEAMARK, R. F. Superovulation treatments and embryo transfer in Angora goats. **Journal Reproduction and Fertility** v. 67, p. 403-410, 1983.

BARI F, KHALID M, WOLF B, HARESIGN W, MURRAY A, MERREL B. The repeatability of superovulatory response and embryo recovery in sheep. **Theriogenology**, v. 56, p. 147-155, 2001.

BARIL, G.; LEBOEUF, B.; FREITAS, V.J.F.; POUGNARD, J.L.; SAUMANDE, J. Control of the LH preovulatory surge by a gonadotropin releasing hormone antagonist (AntarelixÒ) in superovulation goats. In: COLLOQUE SCIENTIFIQUE, ASSOCIATION SCIENTIFIQUE EUROPÉENNE DE TRANSFERT EMBRYONNAIRE, **Proceedings...** v.1, p.148. Lyon, France: AETE. 1994.

BARIL, G.; BREBION, P.; CHESNÉ, P. Manual de Formación Práctica para el Trasplante de Embriones en Ovejas y Cabras. FAO, **Roma**, 182p, 1995.

BARIL, G.; REMY, B.; LEBOEUF, B.; VALLET, J.C.; BECKERS, J.F.; SAUMANDE, J. Comparison of porcine FSH, caprine FSH and ovine FSH to induce repeated superovulation in goats. In: SCIENTIFIC MEETING OF EUROPEAN EMBRYO TRANSFER ASSOCIATION, 8, 1992. Lyon, France. **Proceedings...** Lyon-France: AETE, v.1, p.126, 1992a.

BARRY, D. M.; VAN NIEKERK, C. H.; RUST, J. Cervical embryo collection in sheep after ripening of the cervix with prostaglandin E₂ and estradiol. **Theriogenology**, v. 33, p.190, 1990.

BATT, P.A.; KILLEEN, I.D.; CAMERON, A.W. Use of single or multiple injections of FSH in embryo collection programmes in goats. **Reproduction Fertility and Development**, v.5, p.49-56, 1993.

BONDURANT, R. H.; SKIRROW, S.; ANDERSON, G. B. Non-surgical collection of blastocysts from dairy goats. **Theriogenology**, v. 22, p.423-431, 1984.

CHOW, L. A.; VALLE, M. A. G.; COELHO, S. G. Transferência de embriões em caprinos: relato de um caso. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 10, p.279-290, 1986.

COGNIE Y. State of the art in sheep-goat embryo transfer. **Theriogenology**. v. 51, p.105-16, 1999.

DATTENA, M.; VESPIGNANI, S.; BRANCA, A.; GALLUS, M.; LEDDA, S.; NAITANA, S.; CAPPALÀ, P. Superovulation response and quality of embryos recovered from anoestrus ewes after single injection of FSHp dissolved in polyvinylpyrrolidone. **Theriogenology**, v.42, p. 235-239, 1994.

DEL CAMPO, C.H.; SALAS, F.; GATICA, R.; DEL CAMPO, M.R. Different methods of superovulation using horse anterior pituitary extract (HAP) in goats during breeding season. **Theriogenology**, v.23, p.186, 1985.

DOIJODE, S.V.; BAKSHF, S.A.; PARGAONKAR, D.R.; MARKANDEYA, N.M. Studies on synchronization of oestrus, superovulation and recovery of embryos in goats. **Indian Journal of Animal Science**, v.62, p.846-848, 1992.

DONALDSON, L.E. LH and FSH profiles at superovulation and embryo production in the cow. **Theriogenology**, v.23, p.441-447, 1985.

FLORES-FOXWORTH, G.; McBRIDE, B. M.; KRAEMER, D. C.; NUTI, L. C. A comparison between laparoscopic and transcervical embryo collection and transfer in goats. **Theriogenology**, v 37, p. 213. (abstract), 1992.

FREITAS, V. J. F.; SIMPLÍCIO, A. A. **Transferência de embriões em caprinos. Biotécnicas aplicadas à reprodução animal**. Ed. Varela, São Paulo, 2001.

GOEL, A . K.; TYAGI, S.; AGRAWAL, K. P. Non-surgical collection of embryos from goats. **Indian Journal of Animal Sciences**, v. 65, p. 293-296, 1995.

GONZALEZ-BULNES A, BAIRD DT, CAMPBELL BK, COCERO MJ, GARCIA-GARCIA RM, INSKEEP EK, LOPEZ-SEBASTIAN A, MCNEILLY AS, SANTIAGO-MORENO J, SOUZA CJ, VEIGA-LOPEZ A. Multiple factors affecting the efficiency of multiple ovulation and embryo transfer in sheep and goats. **Reprod Fertil Dev**; v. 16, p. 421-435, 2004.

GONZALEZ-BULNES A, GARCIA-GARCIA RM, CASTELLANOS V, SANTIAGO-MORENO J, ARIZNAVARRETA C, DOMINGUEZ V, LOPEZ-SEBASTIAN A, TRESGUERRES JA, COCERO MJ. Influence of maternal environment on the number of transferable embryos obtained in response to superovulatory FSH treatments in ewes. **Reprod Nutr Dev**. v. 43, p. 17-28, 2003.

HUNTER, G. L.; ADAMS, C. E.; ROWSON, L. E. Inter-bred ovum transfer in sheep. **Journal of Agricultural Science**, v. 46, p. 143-149, 1955.

IETS. **Manual da Sociedade Internacional de Transferência de Embriões**. 3 ed. Illinois Stringfellow, D. A. & Seidel, S. M. p. 180, 1998.

ISHWAR, A .K.; MEMON, M. A. Embryo transfer in sheep and goats: a review. **Small Ruminant Research**, v. 19, p.35-46, 1996.

KRAEMER, D. C. Embryo collection and transfer in small ruminants. **Theriogenology**, v. 31, p.141-148, 1989.

LIMA, P. F. DE; OLIVEIRA, M. A . L.; GUERRA, M. M. P.; ALVES, J. D. R.; F. NETO, J. E .; RABELO, M. C. Eficiência de diferentes métodos de colheita embrionária em caprinos (resultados preliminares). **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 20, p.63-68, 1996.

LIMA, P. F. **Utilização de gonadotrofina hipofisária e extra hipofisária na superovulação de caprinos**. Recife, 1989. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco.

LIN, A.; LEE, K.; CHANG, S.; LEE, P. Non-surgical embryo transfer in goats. **Memoirs of the College of Agriculture: National Taiwan University**, v.19, p.25-33, 1979.

MAJUMBAR, A.; MOGHA, I.V.; ANSARJ, M.R. Successful superovulation in prepubertal Barbari goats. **Indian Journal of Animal Science**, v.60, p.1304 -1306, 1990.

MAPLETOFT, R.J.; BO, G.; MURPHY, B.D. The effect of biological activity of gonadotrophins on superovulation in the cow. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, suplemento 3, p.74-92, 1991. Supl.

MEINECKE-TILLMAN, S.; EVERS, P.; MEINCKE, B. Relationships between PMSGplasma concentrations and ovarian response after superovulatory treatment in Merino ewes. **Theriogenology**, v.27, p.259, 1987.

MEINECKE, J. P., MEINECKE-TILLMAN, S. Assessment of the embryo quality in cattle and small ruminants. In: **6th Scientific Meeting of European Embryo Transfer Association**, Lyon, France, v. 1, p. 53-66, 1990.

MOOR, R.M.; KRUIP, Th.A.M.; GREEN, D. Intraovarian control of folliculogenesis: limits to superovulation? **Theriogenology**, v.21, p.103-116, 1984.

MOORE, N. W. Procedures and results obtainable in sheep and goats. In: **Current Therapy in Theriogenology**. Ed. D. A. MORROW and W. B. SAUDERS, p. 89-95, 1980.

NAGASHIMA, H.; MATSUI, K.; SAWASAKI, T.; KANO, Y. Nonsurgical collection of embryos in Shiba goats. **Experimental Animal**, v. 36, p.51-56, 1987.

OLIVEIRA, V.S. **Efeitos do hormônio folículo estimulante (FSH) e da gonadotrofina da menopausa humana (hMG) como agentes superovulantes em cabras (Capra hircus, LINNAEUS, 1758) utilizadas em transferência de embriões**. São Paulo. 1992. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.

OTSUKI, K.; SOMA, T. Transfer of fertilized ova through the cervix in goats. **Bulletin of National Institute of Animal Industry**, v.6, p.27-33, 1964.

PENDLETON, R.J.; YOUNGS, C.R.; RORIE, R.W.; POOL, S.H.; MEMON, M.A.; GODKE, R.A. Follicle stimulating hormone versus pregnant mare serum gonadotropin for superovulation of dairy goats. **Small Ruminant Research**, v.8, p.217-224, 1992.

PEGORARO-RUMPF, L. M.; BEM, A . R. DE, RUMPF, R.; PEIXER, M. A . S. Colheita de embriões caprinos pelo método cirúrgico: resultados finais. In: Reunião anual da Sociedade Brasileira de Transferência de Embriões. **Anais...** Jaboticabal. São Paulo: SBTE. p. 95, 1992.

PEREIRA, R. J. T. A .; LIMA, P. F., SILVA, M. A . V.; WISCHRAL, A .; OLIVEIRA, M. A. L. Colheita de embriões caprinos por via transcervical. In: Congresso Brasileiro de Reprodução Animal 9. **Anais...** Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal. p. 314 (abstract), 1991.

PEREIRA, R. J. T. A.; SOHNREY, B.; HOLTZ, W. Influência da $PGF_{2\alpha}$ e oxitocina exógenas sobre colheitas de embriões por via transcervical na espécie caprina. In: **XXIV Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária**, Goiânia, p. 103-104, 1996.

PEREIRA, R. J. T. A.; SOHNREY, B.; HOLTZ, W. Nonsurgical embryo collection in goats treated with prostaglandin $F_{2\alpha}$ and oxytocin. **Journal Animal Science**, v. 76, p. 360-363, 1998.

PINEDA, M. H. Reproductive patterns of sheep and goat. In: McDONALD, L. E.; **Veterinary endocrinology and reproduction**. 4. ed. Philadelphia, Lea & Febiger, , p. 428-447, 1989.

PINTADO B, GUTIERREZ-ADAN A, PEREZ LLANO B. Superovulatory response of Murciana goats to treatments based on PMSG/Anti-PMSG or combined FSH/PMSG administration. **Theriogenology**, v. 50, p. 357-641, 1998.

REICHENBACH, H. D.; OLIVEIRA, M. A. L.; LIMA, P. F.; SANTOS FILHO, A. S.; ANDRADE, J. C. O. Transferência e criopreservação de embriões bovinos. **Biotécnicas aplicadas à reprodução animal**.,Ed. Varela, São Paulo, 2001.

ROY F, MAUREL MC, COMBES B, VAIMAN D, CRIBIU EP, LANTIER I, POBEL T, DELETANG F, COMBARNOUS Y, GUILLOU F. The negative effect of repeated equine chorionic gonadotropin treatment on subsequent fertility in Alpine goats is due to a humoral immune response involving the major histocompatibility complex., **Biol Reprod.**, v. 60, p.805-831, 1999.

SALLES, H.O.; ANDRIOLI-PINHEIRO, A.; SOARES, A.T.; MOURA SOBRINHO, P.A.; MARQUES, M.A.J.; MORAES, J.B. Utilização da semi-laparoscopia na transferência de embriões em caprinos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES, 24, 1996, **Anais...** Águas de Lindóia, São Paulo: SBTE, 1996.

SALLES, H. O.; SOARES, A. T.; ANDRIOLLI, A.; SIMPLÍCIO, A. A. Viabilidade das técnicas de congelamento e descongelamento de embriões caprinos mediante o uso de etilenoglicol e sacarose. In: **Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Transferência de Embriões**, 12. Foz do Iguaçu, Paraná, p.298, 1997.

SAS INSTITUTE. [SAS/STAT Software: changes and enhancement through release 8.2. Cary, 2000].

SENLIS, Y. Fécondation *in vitro* chez les caprins: effect de la race et de la saison. Mémoire de fin d'Etudes, **ENSAIA Nancy**, France, 35p. 1990.

SANTOS, D.O.; SIMPLÍCIO, A.A.; OLIVEIRA, S.M.P. de. Superovulação com FSH-p associado ou não à piliviniipirrolidona em cabras mestiças de AnglonubianaxMoxotóxParda Alpina. **Ciência Animal**, v.10, p.143, 2000a.

SANTOS, D.O.; SIMPLÍCIO, A.A.; OLIVEIRA, S.M.P. de. Uso de FSH heterólogo associado ou não à polivinilpirrolidona para superovular ovelhas mestiças das raças deslanadas do nordeste do Brasil. **Ciência Animal**, v.10, p.144, 2000b.

SELAIVE, A.; MIES FILHO, A. Transferência de óvulos fecundados em ovinos. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, v.3, p.29-34, 1979.

SENN, B.J.; RICHARDSON, M.E. Seasonal effects on caprine response to synchronization of estrus and superovulatory treatment. **Theriogenology**, v.37, p.579-585, 1992.

SUYADI; SOHNREY, B.; HOLTZ, W. Transcervical embryo collection in Boer goats. **Small Ruminant Research**, v. 36, p.195-200, 2000.

TERVIT, H. R.; GOOLD, P. G.; MCKENZIE, R. D.; CLARKSON, D. J. Techniques and success of embryo transfers in Angora goats. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 31, p. 67-70, 1983.

TRALDI, A.S.; VISINTIN, J.A.; MIZUTA, K.; DELA LIBERA, A.M.P. Utilização de antiprostaglandínico na prevenção da regressão prematura de corpos lúteos em caprinos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 11, 1995, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, p.244, 1995.

VALLET, J. C.; BARIL, G.; ROUGIER, F.; CHUPIN, D.; PROCUREUR, R.; CORTEEL, J. M. Feasability and repeatability of embryos recoveries from dairy goats under laparoscopy. In: Reunion Association Europeense de Transfert Embryonnaire 3 . Lyon. **Proceedings...** p. 159, 1987.

VALLET, J.C.; BARIL, G. Effect of laparoscopic intra-uterine insemination in superovulated dairy goats. In: COLLOQUE SCIENTIFIQUE, ASSOCIATION SCIENTIFIQUE EUROPÉENNE DE TRANSFERT EMBRYONNAIRE, 6, 1990, Lyon, France , **Proceedings...** Lyon, France: AETE, v.1, p.188. 1990.

VAN-NIEKERK, C. H.; BARRY, D. M.; RUST, J. M.; VAN DER WALT, T.; LANGENHOVEN, J. Cervical softening with prostaglandin E₂ and estradiol cypionate for embryo collection in goats. **Theriogenology**, v. 33, p.348 (abstract), 1990.

WARWICK, B. L.; BERRY, R. O. Inter-generic and intra-specific embryo transfers. Sheep and Goats. **Journal of Heredity**, v. 40, p. 297-303, 1949.

WARWICK, B. L.; BERRY, R. O.; HORLACHER, W. R. Results of mating rams to Angora female goats. Louisiana: **American Society for Animal Production**, p. 225-227, 1934.

WISCHRAL, A .; LIMA, P. F.; OLIVEIRA, M. A . L.; RIBEIRO, V. M. F. Transferência de embriões caprinos. **Revista do Centro de Ciências Rurais**, v. 19, p. 19 (abstract),1989.

Anexo

Artigo enviado para a Revista Brasileira de Reprodução Animal

**EFEITO DE SUCESSIVOS TRATAMENTOS SUPEROVULATÓRIOS COM
pFSH SOBRE A RESPOSTA OVULATÓRIA E PRODUÇÃO DE EMBRIÕES DE
CABRAS BOER E POSTERIOR SOBREVIVÊNCIA EMBRIONÁRIA APÓS
TRANSFERENCIA EM RECEPTORAS SEM RAÇA DEFINIDA**

Efeito de sucessivos tratamentos superovulatórios com pFSH sobre a resposta ovulatória e produção de embriões de cabras Boer e posterior sobrevivência embrionária após transferência em receptoras sem raça definida

(Effect of successive superovulatory treatments with pFSH upon the ovulatory response and embryo production of Boer goats and subsequent embryo survival following embryo implantation in recipients of undetermined race)

Cláudio Henrique Nogueira de Medeiros¹; Alexandre Weick Uchoa Monteiro²; André Luiz Nogueira Medeiros³; Fernando Lucas Torres de Mesquita¹; Vicente José de Figueredo Freitas⁴; Davide Rondina⁴; José Valmir Feitosa⁵; Airton Alencar Araújo⁴.

¹Mestrando (UECE). ²Mestrando em Zootecnia (UFC). ³Médico Veterinário autônomo. ⁴Professor adjunto UECE, Faculdade de Medicina Veterinária (UECE), ⁵Estatístico UFC.
Correspondência: gpclaudiomedeiros@hotmail.com; aaalencar2002@yahoo.com.br
Av. Paranjana, 1700, Campus do Itaperi, Cep: 60.740-000, Fortaleza, Ceará, Brasil.
Tel.: 85-31019851.

RESUMO

Este trabalho avaliou o efeito de sucessivas superovulações com pFSH na produção de embriões em caprinos da raça Boer. Foram utilizadas 5 doadoras raça Boer, pluríparas. A média das ovulações, variou de 9,8 a 0,8, apresentando diferença significativa a partir do terceiro tratamento, mostrando que a repetição da superovulação afeta a resposta ovariana. A diminuição da resposta superovulatória foi proporcional à produção de embriões. No entanto, o efeito da repetição da superovulação e a avaliação morfológica dos embriões colhidos desaparecem, não tendo diferença significativa para os parâmetros posteriores a esta avaliação, ou seja, sobrevivência embrionária e sobrevivência ao parto.

Palavras-chave: Caprinos, Superovulação, pFSH, embrião.

ABSTRACT

This study evaluated the effect of successive superovulatory treatments with pFSH upon the production of embryos in Boer goats. Five pluriparous Boer donators were used. The number of ovulations ranged from 9,8 to 0,8 on the average, with a significant difference observed from the third treatment on, indicating that treatment repetition affects ovulatory response. Ovulation decreased proportionally with the production of embryos. However, the parameters of subsequent stages, such as embryo survival and birth survival, were not significantly associated with treatment repetitions, nor with the morphological characteristics of the retrieved embryos.

Keywords: goats; superovulation, pFSH, embryo.

1. INTRODUÇÃO

A técnica de transferência de embriões (TE) vem a ser um instrumento poderoso no tocante a multiplicação de animais de alto valor zootécnico e econômico, usando o material genético da fêmea.

Uma série de fatores pode interferir e alterar os resultados da colheita de embriões, tais como, os equipamentos empregados, o domínio da técnica pelo profissional, a presença de corpos lúteos regredidos, a variação individual dos animais, a raça, o intervalo entre a fecundação da doadora (inseminação ou monta natural) e a colheita dos embriões e a droga superovulatória utilizada (SCUDAMORE et al., 1991; PINHEIRO, 1993).

A resposta ovariana à administração exógena de gonadotrofina visando a superovulação em ruminantes, tem se mostrado muito variável e até mesmo imprevisível. Esta variabilidade é atribuída a fatores como a idade, a raça, a condição nutricional e sanitária, a droga utilizada, bem como o fabricante, a partida e a dosagem da gonadotrofina utilizada (MAPLETOFT et al., 1991).

Em decorrência da aplicação única e do seu baixo custo relativo, a gonadotrofina coriônica equina (eCG) tem sido bastante utilizada. No entanto, em caprinos, o hormônio folículo estimulante (FSH), originado das espécies suína, ovina e caprina oferece respostas mais consistentes no tocante a taxas de ovulação e à obtenção de um maior número de embriões viáveis (TRALDI et al., 1995).

O FSH de origem suína (pFSH), foi utilizado por LIMA (1989); WISCHRAL et al., (1989); PEREIRA et al., (1991) e OLIVEIRA (1992), que obtiveram taxas de ovulação de 9,73; 11,3; 19,2 e 10,0, respectivamente.

É conhecido que o uso repetido de eCG no tratamento de sincronização do estro de cabras resulta em uma diminuição da resposta ao tratamento, traduzida por uma queda na fertilidade (Baril et al 1993).

No que se refere ao uso do pFSH em tratamentos superovulatórios sucessivos em cabras, os dados são raros na literatura e praticamente inexistentes em cabras criadas no Brasil. Portanto, o objetivo deste trabalho foi verificar a resposta de cabras Boer submetidas a vários tratamentos superovulatórios com pFSH bem como a fertilidade das receptoras após transferência com os embriões produzidos neste tratamento.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi conduzido pela GP – Genética e Produção de Caprinos e Ovinos LTDA situada no município de Quixadá na região do sertão central do Estado do Ceará, de clima semi-árido tendo como coordenadas geográficas 3° 45' 47" de latitude sul e 38° 31' 23" de longitude oeste, a uma altitude de 191m do nível do mar. O experimento foi realizado durante os anos de 2004 a 2005.

Foram selecionadas 5 fêmeas Boer P.O., cíclicas, nunca tratadas anteriormente com hormônios. As cabras eram pluríparas, com idade variando de 2 a 4 anos, e escore corporal mínimo de 3,0. Os animais foram vermifugados e submetidos a um manejo de estabulação completa durante 30 dias antes de cada colheita. Foi ofertado um volumoso misto de capim elefante (*Pennisetum purpureum*) e leucena (*Leucaena leucocephala*), sal mineralizado e água fresca *ad libitum*, além de 600g/cabra/dia de um concentrado comercial contendo 20 % de proteína bruta.

O tratamento superovulatório das doadoras foi realizado por meio de esponjas vaginais impregnadas com 50 mg de acetato de medroxi-progesterona -MAP (Promone-e® -tuo, USA). Para a superovulação, no 9º dia após a colocação das esponjas, iniciou-se a aplicação

intramuscular de 250 UI de gonadotrofina à base de extrato de hipófise suína (pFSH) (Pluset® - serono, Uruguai), divididas em seis doses decrescentes intervaladas a 12 h. No último dia do tratamento hormonal (Dia 11), pela manhã foi retirada a esponja vaginal e administrado também 125 µg Cloprostenol sódico (Ciosin® - coopers, Brasil). A aplicação foi repetida 12 h depois da primeira aplicação. Os tratamentos eram intervalados de 60 dias.

As inseminações foram realizadas por via transcervical, 12 e 24 horas após detecção de estro, utilizando o sêmen diluído em solução a base de água de coco numa concentração de 200×10^6 espermatozoides por palheta de 0,25 mL. Este sêmen foi obtido de um reprodutor Boer de fertilidade comprovada. A partir das 13:00 h (Dia 18) as doadoras foram submetidas a jejum hídrico e sólido até o momento da colheita de embriões (Dia 19) pela manhã. Antes de cada colheita cada doadora foi submetida a uma laparoscopia para avaliação ovariana. No momento da colheita, as fêmeas eram contidas em tronco de contenção, onde, foi introduzido espéculo para localização, visualização e pinçamento da cérvix para posterior exteriorização. Então uma sonda nasogástrica pediátrica nº 10 era introduzida intra-uterinamente e acoplada a um circuito fechado ligando o útero ao filtro millipore (filtro millipore® -nutricel, Brasil) de recuperação. O meio de colheita (PBS) era injetado através da sonda diretamente no útero e recuperado para dentro do filtro. O líquido recuperado era então levado para estereomicroscópio (CX31® -olympus, Japão) para procura, quantificação, e classificação das estruturas colhidas.

A sincronização de estro das receptoras foi realizada através da introdução de esponjas vaginais impregnadas com 50 mg de acetato de medroxiprogesterona-MAP (Promone-e® - tucos, USA), que foram introduzidas na porção cranial da vagina (Dia 0). No 9º dia após a colocação das esponjas, os animais receberam 400 UI de eCG (Novormon® -sintex, Argentina) e 75 µg de Cloprostenol sódico (Ciosin® -coopers, Brasil). No último dia do tratamento hormonal (Dia 11), pela manhã foi retirada a esponja vaginal. A detecção do estro foi realizada (Dias 12 e 13), utilizando um rufião quatro vezes por dia. A partir das 13:00 h (Dia 18) as receptoras foram submetidas a jejum hídrico e sólido e tricotomizadas previamente na região abdominal, esperando o momento das inovulações (Dia 19).

As receptoras foram contidas em maca em decúbito dorsal para realização da laparoscopia, onde eram feitas observações ovarianas nas quais se buscou a melhor resposta em quantidade e qualidade de corpos lúteos, para então no corno uterino ipsilateral proceder a inovulação dos embriões. Ressaltando que apenas embriões de grau 1 e 2 foram considerados viáveis e inovulados. Decorrido 35 dias das inovulações, as receptoras foram submetidas a exame ultrasonográfico (Ultra Scan 900® - Ami, Canadá) pós acoplado a um transdutor linear de 5 MHz, na qual era verificada a prenhez, quantificados os embriões e avaliado a sua viabilidade através dos batimentos cardíacos. Os dados foram expressos sob a forma de média e avaliados pelo procedimento GLM do SAS (SAS, 2000) e submetidas à transformação logarítmica, em seguida, as comparações entre as repetições (efeito da repetição do tratamento de superovulação) foram avaliadas pelo teste de Tukey a 5% de significância.

O número médio das ovulações medido pela contagem dos corpos lúteos visualizados, variou de 9,8 a 0,8, apresentando uma diferença significativa a partir do terceiro tratamento, mostrando que a repetição do tratamento de superovulação afeta a resposta ovariana, uma vez que o número médio de ovulações diminui significativamente a partir da terceira repetição. Consequentemente o número de estruturas colhidas também foi afetado variando de 7,4 a 0,4 entre a primeira e a quinta repetição respectivamente, com diferença significativa a partir do quarto tratamento. Por outro lado, a taxa de recuperação de estruturas colhidas pouco variou com a repetição, 75% e 50% entre a primeira e a quinta repetição, o que demonstra uma boa eficiência da técnica de colheita por via transcervical na espécie caprina (**Tabela 1**). Estes resultados são superiores aos obtidos por Oliveira (1992) que obtiveram taxa de recuperação de embriões de 40% e semelhantes ao de Flores-Foxworth et al., (1992) com 78,7% em média.

Na avaliação dos embriões viáveis, aqueles selecionados dentre as estruturas colhidas, foram considerados apenas os embriões que apresentavam os graus I e II. A repetição afetou o número médio de embriões viáveis, contudo quando este resultado é expresso em taxa de embriões viáveis, não se observam variações importantes entre as repetições. Isto significa dizer que os poucos embriões colhidos são de qualidade para serem inovulados e que a repetição do tratamento superovulatório após cinco colheitas consecutivas afeta o número sem influenciar a qualidade dos embriões. A sobrevivência embrionária foi avaliada ao diagnóstico ultrasonográfico de gestação aos 35 dias após inovulação e ao parto. Os resultados mostram que pelo número e as taxas avaliadas as perdas embrionária foram em média acima de 15% desde a colheita até o parto. As taxas de sobrevivência embrionária variaram de 72,8 a 33,3 e ao parto de 0 a 48,4%, entre a primeira e quinta colheita respectivamente, e estas taxas dependem da qualidade dos embriões inovulados. Por esse motivo é que se observa 50% de sobrevivência embrionária ao diagnóstico na quinta colheita e 72% na primeira, isto é, um só embrião na quinta colheita foi responsável por 50% de dois viáveis que foram inovulados, confirmando ainda mais que a repetição do tratamento de superovulação diminui o número de embriões viáveis, mas não afeta sua qualidade quando inovulados que é avaliado pelas taxas de sobrevivência ao diagnóstico e ao parto (**tabela 2**). O efeito de tratamentos repetidos em caprinos com substâncias originadas de outras espécies foi primeiramente relatado por Baril et al. (1992), que observaram diminuição da resposta de estro e da fertilidade em cabras inseminadas depois de repetidos tratamentos com PMSG.

O mesmo efeito sobre o rendimento da inseminação artificial foi ainda relatado por Roy et al (1999). Estes autores estudaram a presença dos anticorpos anti-PMSG em ovelhas quando do uso de tratamentos repetidos com a PMSG. A utilização de substâncias oriundas de outra espécie como a PMSG e o pFSH induzem o sistema imunológico a produzir anticorpos específicos contra estas moléculas que são consideradas estranhas ao organismo do animal. Estes anticorpos aumentam com a repetição do uso destas substâncias e, por sua vez, reagem com estas diminuindo o seu efeito hormonal.

Na transferência de embriões o pFSH é a substância mais difundida para os tratamentos de superovulação, e o mesmo efeito sobre o rendimento da colheita e taxa de parição tem sido observado após várias repetições, porém pouco se encontra relatos na literatura que avaliem esse efeito com mais precisão.

Portanto, temos pouco a comparar com resultados da literatura. Um dos poucos trabalhos encontrados semelhantes a este foi realizado por Bari et al. (2001), que trabalhando com ovelhas da raça Scottish Blackface não observaram efeito da repetibilidade com o oFSH após oito tratamentos sucessivos, não ocorrendo diminuição no número de embriões colhidos. Isto mostra que o oFSH se constitui uma alternativa viável para evitar o efeito negativo da repetibilidade com tratamento de superovulação.

Conclui-se então que as cabras da raça Boer doadoras de embriões apresentam boa resposta superovulatória até o 3º tratamento consecutivo com pFSH. Além da diminuição da resposta superovulatória ser proporcional à produção de embriões. No entanto, a partir da avaliação morfológica dos embriões colhidos, o efeito da repetição do tratamento superovulatório desaparece e não se encontra diferença significativa para os parâmetros posteriores a esta avaliação, ou seja, sobrevivência embrionária e sobrevivência ao parto.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARIL, G.; REMY, B.; LEBOEUF, B.; VALLET, J.C.; BECKERS, J.F.; SAUMANDE, J. Comparison of porcine FSH, caprine FSH and ovine FSH to induce repeated superovulation in goats. In: SCIENTIFIC MEETING OF EUROPEAN EMBRYO TRANSFER ASSOCIATION, 8, 1992. Lyon, France. **Proceedings...** Lyon-France: AETE, v.1, p.126, 1992.

BARIL, G.; BREBION, P.; CHESNÉ, P. Manuel de formation pratique pour la transplantação embryonnaire chez la brebis et la chèvre. Rome, **Food and Agriculture Organization of the United Nations**, Étude FAO Production et Santé Animales, v. 115, p. , 1993.

BARI F, KHALID M, WOLF B, HARESIGN W, MURRAY A, MERREL B. The repeatability of superovulatory response and embryo recovery in sheep. **Theriogenology**. v. 56, p. 147-155, 2001.

FLORES-FOXWORTH, G.; McBRIDE, B. M.; KRAEMER, D. C.; NUTI, L. C. A comparison between laparoscopic and transcervical embryo collection and transfer in goats. **Theriogenology**, v. 37, p. 213. (abstract),1992.

LIMA, P. F. **Utilização de gonadotrofina hipofisária e extra hipofisária na superovulação de caprinos**. Recife,. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, 1989.

MAPLETOFT, R.J.; BO, G.; MURPHY, B.D. The effect of biological activity of gonadotrophins on superovulation in the cow. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, suplemento 3, p.74 -92, 1991.

OLIVEIRA, V.S. **Efeitos do hormônio folículo estimulante (FSH) e da gonadotrofina da menopausa humana (hMG) como agentes superovulantes em cabras (*Capra hircus*, LINNAEUS, 1758) utilizadas em transferência de embriões.** São Paulo.. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 1992.

PEREIRA, R. J. T. A .; LIMA, P. F., SILVA, M. A . V.; WISCHRAL, A .; OLIVEIRA, M. A. L. Colheita de embriões caprinos por via transcervical. In: Congresso Brasileiro de Reprodução Animal 9. **Anais...** Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal. p. 314 (abstract), 1991.

PINHEIRO, A.A. de. **Métodos de colheita e de inovulação de embriões caprinos (*Capra hircus*, LINNAEUS, 1758) e os efeitos de repetidas colheitas na vida reprodutiva de doadoras.** São Paulo; USP, 1993. 100p. Tese Mestrado.

ROY F, MAUREL MC, COMBES B, VAIMAN D, CRIBIU EP, LANTIER I, POBEL T, DELETANG F, COMBARNOUS Y, GUILLOU F. The negative effect of repeated equine chorionic gonadotropin treatment on subsequent fertility in Alpine goats is due to a humoral immune response involving the major histocompatibility complex. **Biol Reprod**, v. 60, p. 805-831, 1999.

SAS INSTITUTE. [SAS/STAT Software: changes and enhancement through release 8.2. Cary, 2000].

SCUDAMORE, C. L.; ROBINSON, J. J.; AITKEN, R. P.; KENNEDY, D. J.; IRELAND, S.; ROBERTSON, I. S. Laparoscopy for intrauterine insemination and embryo recovery in superovulated ewes at a commercial embryo transfer unit. **Theriogenology**, v. 35, p. 329-337, 1991.

TRALDI, A.S.; VISINTIN, J.A.; MIZUTA, K.; DELA LIBERA, A.M.P. Utilização de antiprostaglandínico na prevenção da regressão prematura de corpos lúteos em caprinos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 11, 1995, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal,. p.244, 1995.

WISCHRAL, A.; LIMA, P.F.; OLIVEIRA, M. A. L.; RIBEIRO, V. M. F. Transferência de embriões caprinos. *Rev. Cent. Ci. Rur. Univ. Fed. Sta. Maria*, v. 19, p. 19, 1989. Suplemento.

TABELA 01. Número médio de ovulações, número total de ovulações, estruturas colhidas e taxa de recuperação de embriões em doadoras Boer tratadas com pFSH por cinco vezes consecutivas.

ORDEM DE COLHEITA	n	Nº de Ovulações		Nº Total de ovulações	Estruturas Colhidas	Taxa De Recuperação
		OE	OD			
1	5	5,6 (3-9)	4,2 (1-7)	9,8 (49)	7,4 ^a (1-13)	75,5 (37)
2	5	4,2 (0-8)	3,6 (1-6)	7,8 (39)	5,6 ^{ab} (0-10)	71,8 (28)
3	5	1,6 (0-4)	2,2 (0-5)	3,8 (19)	2,4 ^{bc} (0-6)	63,2 (12)
4	5	1 (0-2)	0,4 (0-2)	1,4 (7)	0,8 ^c (0-2)	57,1 (4)
5	5	0,2 (0-1)	0,6 (0-1)	0,8 (4)	0,4 ^c (0-1)	50,0 (2)

OE (Ovário esquerdo), OD (Ovário direito).

a, b, c – Letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente (P < 0,05).

TABELA 02. Estruturas viáveis, taxa de embriões viáveis, taxa de sobrevivência embrionária, taxa de sobrevivência ao parto e taxa de perdas embrionárias.

ORDEM DE COLHEITA	N	Embriões Viáveis (Média)	Taxa de Embriões viáveis	Taxa de sobrevivência embrionária	Taxa de sobrevivência ao parto
1	5	6,6 ^a (3-13)	89,2 (33)	72,8 (24)	48,4 (16)
2	5	4,4 ^{ab} (0-9)	78,6 (22)	59,0 (13)	31,8 (7)
3	5	1,8 ^c (0-4)	75,0 (9)	44,4 (4)	33,3 (3)
4	5	0,6 ^c (0-2)	75,0 (3)	33,3 (1)	33,3 (1)
5	5	0,4 ^c (0-1)	100 (2)	50,0 (1)	0 (0)

a, b, c – Letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente (P < 0,05).