

## Efeitos ambientais na produção in vitro de embriões na raça Senepol

Antônia Kaylyanne Pinheiro<sup>(1)</sup>, José Marques Carneiro Junior<sup>(2)</sup>, Gabriela Assis Marques Carneiro<sup>(3)</sup>, Erasmo Filho Paiva de Aguiar<sup>(3)</sup>, Mauricio Santos Silva<sup>(4)</sup>, Jennifer Teodoro Gregianini<sup>(5)</sup>, Helton Aparecido Garcia Gregianini<sup>(6)</sup> e Francisco Aloísio Cavalcante<sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup> Estudante de doutorado, Universidade Federal do Acre, Rio Branco, AC. <sup>(2)</sup> Pesquisadores, Embrapa Acre, Rio Branco, AC. <sup>(3)</sup> Estudantes de graduação, Universidade Federal do Acre, Rio Branco, AC. <sup>(4)</sup> Técnico, Geneplus, Rio Branco, AC. <sup>(5)</sup> Estudante de mestrado, Universidade Federal do Acre, Rio Branco, AC. <sup>(6)</sup> Médico-veterinário, mestre em Ciência Animal, profissional autônomo, Rio Branco, AC.

**Resumo** – O objetivo deste trabalho foi identificar os efeitos fixos que afetam as características de produção in vitro de embriões na raça Senepol no Acre. Foram utilizados dados de produção in vitro de embriões da raça Senepol entre os anos de 2019 a 2022, fornecidos pela empresa In vitro Acre. As variáveis avaliadas foram porcentagem de oócitos viáveis, porcentagem de embriões clivados, porcentagem de embriões produzidos e porcentagem de prenhez; e os efeitos fixos foram ano, época e tipo de sêmen (sexado ou convencional). Para avaliação dos efeitos fixos que afetam a produção in vitro utilizou-se o método de quadrados mínimos generalizados por meio do procedimento PROC GLM do programa Statistical Analysis System (SAS). O efeito fixo ano teve resultados significativos para a porcentagem de oócitos viáveis, de embriões clivados e de prenhez, e não significativos para embriões produzidos. O efeito fixo época foi significativo para porcentagem de oócitos viáveis e embriões clivados e não significativo para porcentagem de embriões produzidos e de prenhez. O efeito fixo tipo de sêmen não foi significativo. Concluiu-se que os efeitos fixos ano e época devem ser considerados para a formação de grupos contemporâneos, em possíveis avaliações genéticas das características de produção in vitro de embriões (Pive) da raça Senepol.

Termos para indexação: bovinos de corte, reprodução, biotecnologia.

## Environmental effects on the in vitro production of embryos in the Senepol breed

**Abstract** – The objective of this work was to identify the fixed effects that affect the characteristics of in vitro production of embryos in the Senepol breed in Acre. In vitro production data of Senepol breed embryos were used between the years 2019 and 2022, provided by the company In vitro Acre. The variables evaluated were percentage of viable oocytes, percentage of cleaved embryos, percentage of embryos produced and percentage of pregnancy; and the fixed effects were year, season and type of semen (sexed or conventional). To evaluate the fixed effects that affect in vitro production, the generalized least squares method was used through the PROC GLM procedure of the Statistical Analysis System (SAS) program. The year fixed effect had significant results for the percentage of viable oocytes, cleaved embryos and pregnancy, and non-significant results for embryos produced. The time fixed effect was significant for the percentage of viable oocytes and cleaved embryos and not significant for the percentage of embryos produced and pregnancy. The semen type fixed effect was not significant. It was concluded that year and season fixed effects must be considered for the formation of contemporary groups, in possible genetic evaluations of the characteristics of in vitro production of embryos (Pive) of the Senepol breed.

Index terms: beef cattle, reproduction, biotechnology.

## Introdução

No Brasil, desde 2000, a raça Senepol tem sido muito utilizada para formação de rebanhos puros por origem, mas, principalmente, como ferramenta para o cruzamento industrial a campo. Isso devido às suas características positivas como acabamento precoce, qualidade da carne, precocidade sexual para fêmeas e machos e adaptabilidade a regiões tropicais (Pires et al., 2021).

Na pecuária de corte, a produção in vitro de embriões (Pive) é uma técnica reprodutiva importante para a rápida disseminação genética dos animais, especialmente para a raça Senepol, que está em expansão e formação da base genética (Campañoli et al., 2021). A Pive é considerada uma técnica eficaz para multiplicação de machos e fêmeas de alto padrão genético em curto tempo. Contudo, por envolver várias etapas, está sujeita a influências de vários fatores ambientais como ano, época da Pive, idade da doadora e tipo de sêmen (Loiola et al., 2014; Mello et al., 2016; Jelonschek et al., 2018).

Em programas de melhoramento genético é necessário identificar os efeitos sistemáticos não genéticos (efeitos fixos) que afetam a expressão das características de interesse para formação adequada dos grupos de contemporâneos, obtidos pela combinação dos efeitos fixos a serem utilizados nas avaliações genéticas. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi identificar os efeitos fixos que afetam as características Pive na raça Senepol no Acre.

## Material e métodos

Foram utilizados dados de produção dos anos de 2019 a 2022, fornecidos pela empresa In Vitro Acre, referentes a 218 rodadas de fertilização in vitro da raça Senepol realizadas em 29 fazendas nos estados do Acre, Rondônia e Amazonas.

As variáveis avaliadas foram: porcentagem de oócitos viáveis (Pooc), porcentagem de embriões clivados (Pcliv), porcentagem de embriões produzidos (Pemb) e porcentagem de prenhez (Ppren), de acordo com as equações abaixo.

$$Pooc = \frac{\text{Número de oócitos viáveis}}{\text{Número de oócitos aspirados}} \times 100$$

$$Pcliv = \frac{\text{Número de embriões clivados}}{\text{Número de oócitos viáveis}} \times 100$$

$$Pemb = \frac{\text{Número de embriões produzidos}}{\text{Número de oócitos viáveis}} \times 100$$

$$Ppren = \frac{\text{Número de prenhez}}{\text{Número de oócitos viáveis}} \times 100$$

Os efeitos fixos avaliados foram: ano (2019, 2020, 2021 e 2022), época (seca: corresponde aos meses de junho a setembro; e chuvosa: corresponde aos meses de outubro a maio) e tipo de sêmen (sexado e convencional). Para avaliação dos efeitos fixos que afetam a Pive utilizou-se o método de quadrados mínimos generalizados por meio do procedimento PROC GLM do programa Statistical Analysis System (SAS Institute, 2002), assumindo nível de 5% de significância estatística. A normalidade dos dados foi analisada pelo teste de Shapiro-Wilk ao nível de 5% de significância. Os dados foram apresentados no formato média e desvio-padrão.

## Resultados e discussão

Na produção in vitro de embriões (Pive) realizada nas 29 fazendas foram obtidos 31.339 oócitos aspirados, os quais resultaram em 218 rodadas/touros de fertilização in vitro (FIV), sendo produzidos 8.579 embriões e 789 prenhez das doadoras Senepol.

Na Tabela 1 estão descritos os valores médios e os respectivos desvios-padrão para os efeitos fixos de época, ano e tipo de sêmen.

Na Pive, os efeitos fixos para ano nas variáveis Pooc, Pcliv e Ppren foram significativos ( $p < 0,05$ ), mas não na variável Pemb. Peixoto et al. (2007), ao verificarem fatores que afetam a taxa de prenhez em um programa Multiple Ovulation and Embryo Transfer (MOET), entre 1992 e 1999, constataram que o ano e a época do ano foram os fatores que mais influenciaram as taxas de prenhez após transferências de embriões. Também Pinheiro et al. (2022), avaliando doadoras Nelore no período entre 2015 e 2018, verificaram que o efeito fixo de ano interferiu nos resultados da Pive para o número total de oócitos, embriões clivados, embriões produzidos e gestação.

Os efeitos fixos de época foram significativos para as variáveis Pooc e Pcliv, não havendo significância para as variáveis Pemb e Ppren. Gama Filho et al. (2007), ao avaliar doadoras Guzerá, verificaram

efeito de sazonalidade para Pive, em que ambientes com temperaturas e umidades elevadas afetaram a viabilidade dos embriões e aumentaram o número de oócitos degenerados. Também Mello et al. (2016), ao avaliar parâmetros genéticos na raça Sindhi, obtiveram efeito significativo de sazonalidade na Pive, tendo em vista que a estação chuvosa proporcionou melhores resultados de produção de oócitos viáveis. O efeito da diferença entre estação seca e chuvosa para a variável oócitos pode ser explicado pelo aumento da disponibilidade de forragens na estação chuvosa, com consequente oferta nutricional ao animal, gerando boa condição corporal para as doadoras, o que não ocorre na estação seca.

Não foi observado efeito fixo para tipo de sêmen nas variáveis avaliadas. Loiola et al. (2014),

ao avaliar a viabilidade de um programa de Pive da raça Nelore utilizando sêmen sexado e convencional, verificaram que o tipo de sêmen não influenciou o número de oócitos clivados e as taxas de gestação, mas o número de embriões produzidos. No processo de sexagem o sêmen é submetido a várias etapas químicas, que podem causar danos aos espermatozoides, o que não ocorre com o sêmen convencional. Dessa forma, vários estudos têm apresentado diferenças significativas entre sêmen sexado e convencional, com melhores resultados para o sêmen convencional (Arruda et al., 2012; Villadiego et al., 2018). Porém neste estudo não houve diferença ( $p > 0,05$ ) nos resultados para essa variável.

**Tabela 1.** Valores médios e desvios-padrão para porcentagem de oócitos viáveis (Pooc), porcentagem de embriões clivados (Pcliv), porcentagem de embriões produzidos (Pemb) e porcentagem de prenhez (Ppren) por rodada/touro, de acordo com os efeitos fixos época, ano e tipo de sêmen em 29 propriedades dos estados do Acre, Rondônia e Amazonas, entre 2019 e 2022.

Ano	Pooc	Pcliv	Pemb	Ppren
2019	83,03 ± 8,64 ab	53,68 ± 22,48 b	27,32 ± 17,77 a	4,47 ± 5,70 b
2020	76,53 ± 10,03 c	67,02 ± 24,12 a	29,12 ± 14,38 a	8,18 ± 4,96 ab
2021	80,83 ± 11,96 bc	68,13 ± 24,37 a	26,62 ± 14,01 a	5,83 ± 5,02 ab
2022	86,31 ± 7,06 a	56,95 ± 16,95 b	27,33 ± 11,61 a	9,33 ± 7,31 a
PR > F	<0,0001*	<0,0053*	<0,7836 <sup>ns</sup>	<0,0817*
Época	Pooc	Pcliv	Pemb	Ppren
Seca	85,88 ± 9,50 a	58,79 ± 21,51 b	25,56 ± 12,30 a	7,02 ± 6,05 a
Chuvosa	78,55 ± 10,59 b	66,97 ± 23,78 a	28,49 ± 14,80 a	6,82 ± 5,31 a
PR > F	<0,0001*	<0,0126*	<0,1395 <sup>ns</sup>	<0,8747 <sup>ns</sup>
Tipo de sêmen	Pooc	Pcliv	Pemb	Ppren
Convencional	–	64,99 ± 23,95 a	28,11 ± 14,18 a	6,69 ± 5,22 a
Sexado	–	58,49 ± 18,25 a	23,57 ± 12,39 a	7,92 ± 7,46 a
PR > F	–	<0,1455 <sup>ns</sup>	<0,0905 <sup>ns</sup>	<0,4512 <sup>ns</sup>

\* Significativo ( $p < 0,05$ ). <sup>ns</sup> Não significativo ( $p > 0,05$ ) pelo teste de Tukey.

Traço (–): informação não aplicável.

Médias seguidas por letras diferentes, na mesma coluna, diferem entre si ( $p < 0,05$ ).

## Conclusão

- 1) Os efeitos fixos ano e época devem ser considerados na formação de grupos contemporâneos em possíveis avaliações genéticas das características Pive da raça Senepol.

## Referências

- ARRUDA, R. P.; CELEGHINI, E. C. C.; ALONSO, M. A.; CARVALHO, H. F.; LEMES, K. M.; SILVA, D. F.; RODRIGUEZ, S. A. F.; AFFONSO, F. J. Aspects related to the technique and the utilization of sexed semen *in vivo* and *in vitro*. **Animal Reproduction**, v. 9, n. 3, p. 345-353, 2012. Disponível em: <https://www.animal-reproduction.org/article/5b5a6059f7783717068b46f1>. Acesso em: 15 ago. 2023.
- CAMPANHOLI, S. P.; GARCIA NETO, S.; BASSO, A. C.; LOSANO, J. D. A.; SIQUEIRA, A. F. P.; NICHI, M.; ASSUMPÇÃO, M. E. O. D.; FREITAS, L. A.; PAZ, C. C. P.; FERRAUDO, A. S.; MONTEIRO, F. M.; GIMENES, L. U. Estimate of *in vitro* embryo production based on sperm subpopulations in Senepol bulls. **Theriogenology**, v. 161, p. 98-107, Feb. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.11.019>.
- GAMA FILHO, R. V.; FONSECA, F. A.; UENO, V. G.; FONTES, R. S.; QUIRINO, C. R.; RAMOS, J. L. G. Ovarian follicular dynamic and embryo production seasonality in Guzerá heifers breed. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 44, n. 6, p. 422-427, 2007. DOI: <https://doi.org/10.11606/issn.1678-4456.bjvras.2007.26607>.
- JELONSCHEK, J. P.; NETO, A. P.; OLIVEIRA, W.; MOTA, M. F.; BECHER, B. G. Factors affecting the pregnancy rate of embryo recipient IVP: literature review. **Scientific Electronic Archives**, v. 11, n. 6, p. 173-179, 2018. DOI: <https://doi.org/10.36560/1162018754>.
- LOIOLA, M. V. G.; CHALHOUB, M.; RODRIGUES, A. S.; FERRAZ, P. A.; BITTENCOURT, R. F.; RIBEIRO FILHO, A. de L. Validação de um programa de produção *in vitro* de embriões bovinos com transporte de oócitos e de embriões por longas distâncias. **Ciência Animal Brasileira**, v. 15, n. 1, p. 93-101, mar. 2014. DOI: <https://doi.org/10.5216/cab.v15i1.23327>.
- MELLO, R. R. C.; MELLO, M. R. B.; SOUSA, S. L. G.; FERREIRA, J. E. Parâmetros da produção *in vitro* de embriões da raça Sindi. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 51, n. 10, p. 1773-1779, out. 2016. Disponível em: <https://seer.sct.embrapa.br/index.php/pab/article/view/23409>. Acesso em: 15 ago. 2023.
- PEIXOTO, M. G. C. D.; BERGMANN, J. A. G.; SUYAMA, E.; CARVALHO, M. R. S.; PENNA, V. M. Logistic regression analysis of pregnancy rate following transfer of *Bos indicus* embryos into *Bos indicus* x *Bos taurus* heifers. **Theriogenology**, v. 67, n. 2, p. 287-292, Jan. 2007. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.06.012>.
- PINHEIRO, A. K.; CARNEIRO JUNIOR, J. M.; PINTO NETO, A.; GREGIANINI, H. A. G.; GREGIANINI, J. T. F.; SATRAPA, R. A.; TRENKEL, C. K. G.; BRAGA, A. P.; SILVA, M. S. Parâmetros produtivos e genéticos da produção *in vitro* de embriões Nelore no Estado do Acre. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 7, e45311730210, 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v11i7.30210>.
- PIRES, A. P. A.; DANTAS, A.; TARÔCO, G.; CHIARI, J. R.; SILVA, R. R.; GONÇALVES, G. J.; VALENTE, T. N. P.; CAMARGOS, A. S. Performance of Senepol females as oocyte donors. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 9, p. 88751-88762, 2021. DOI: <https://doi.org/10.34117/bjdv7n9-167>.
- SAS INSTITUTE. **User's guide**. Cary: SAS Institute, 2002. 525 p.
- VILLADIEGO, F. A. C.; GUIMARÃES, J. D.; COSTA, E. P.; ÁLVAREZ, J. A. C.; LEÓN, V. H. G.; LÓPEZ, C. J. R. Sêmen sexado através de citometria de fluxo e centrifugação por gradiente de concentração. **Revista de Medicina Veterinária**, n. 36, p. 121-133, 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.19052/mv.5178>.