

## PRODUÇÃO COMERCIAL DE EMBRIÕES FIV NA RAÇA BRAHMAN NO BRASIL E COLÔMBIA

Yeda F Watanabe<sup>1</sup>, Daniel C Joaquim<sup>1</sup>, Susana Castaneda<sup>2,5</sup>, Dorival Cavalheiro<sup>3</sup>,  
Claudia R L Capinzaiki<sup>4</sup>, Ramón G Gomez<sup>4</sup>, Carlos A H Correa<sup>5</sup>, Luis Rodrigues<sup>6</sup>,  
André Dayan<sup>1</sup>, Michele R Watanabe<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Vitrogen®, Cravinhos/Brasil [yeda@vitrogen.com.br](mailto:yeda@vitrogen.com.br);

<sup>2</sup> Vitrogen®, Bogotá/Colômbia, <sup>3</sup>Vitrogen® e <sup>4</sup>Embriones Del Sinu, Monteria/Colômbia, <sup>5</sup>Contadora, Caucásia/Colômbia, <sup>6</sup>Sembrio, Medellín/Colômbia

**Resumo:** A FIV é considerada a terceira geração de biotecnologia da reprodução, após a IA e a TE convencional. Desde sua implantação comercial no Brasil no ano de 1998 e na Colômbia no ano de 2003, vários fatores têm contribuído para o aprimoramento da técnica, desde os aspectos de manejo no campo até a inovação na produção *in vitro* no laboratório. O objetivo do trabalho foi mostrar os dados de OPU-FIV na raça Brahman nos dois países onde a Vitrogen implantou sua aplicação comercial. Para tanto, foram analisadas as produções nos diferentes anos, onde não observamos variação entre o Brasil e Colômbia, respectivamente na taxa de produção de embriões (35 e 36%) e prenhez (37 e 35%). Nota-se nos dois países que no início de sua implantação a taxa de prenhez é inferior nos primeiros anos, com índice de gestação de 21 a 27%. Isto é esperado uma vez que o grande gargalo na viabilidade da técnica é o manejo e qualidade de receptoras. O mesmo verificou no número médio de oócitos recuperados no início da implantação da técnica. Vale salientar que no Brasil a quantidade de trabalhos realizados na raça Brahman é inferior aos da Colômbia, como sabemos, no Brasil o grande número de trabalhos é na raça Nelore, enquanto que na Colômbia prevalece a raça Brahman. No Brasil, durante os 12 anos de trabalho, produzimos 22.259 blastocistos, enquanto que na Colômbia em apenas 8 anos produzimos 93.623, com uma média anual 1.855 e 11.703 embriões para o Brasil e Colômbia, respectivamente. Deste modo, conclui-se que uma vez estabelecido e padronizado todos os procedimentos de aspiração folicular, produção *in vitro* de embriões e transferência para receptoras sincronizadas, esta biotécnica pode ser implantada rapidamente e de maneira eficiente em qualquer região ou país que objetiva um ganho genético rápido no rebanho.

**Palavras-chave:** Biotécnica, Brahman, ganho genético, OPU-FIV

**Abstract:** The IVF is the third generation of biotechnology of reproduction, after AI and conventional ET. Since its commercial deployment in Brazil in 1998 and Colombia in 2003, several factors have contributed to the improvement of technique, from the management aspects of the field until the innovation in production *in vitro* in the laboratory. The objective was to show the data in OPU-IVF in the Brahman breed in both countries Vitrogen deployed its commercial application. For this, we analyzed the production in different years, where we observed no variation between Brazil and Colombia, respectively, the production rate of embryos (35 and 36%) and pregnancy (37 and 35%). It is noted that in both countries at the beginning of its construction, the pregnancy rate is lower than in earlier years, with pregnancy rates from 21 to 27%. This is expected since the major bottleneck in the viability of the technique is the management and quality of recipients. The same was observed in the mean number of oocytes retrieved at the beginning of the implementation of the technique. It is noteworthy that in Brazil the amount of work done in the Brahman breed is inferior to those of Colombia, as we know, in Brazil the number of jobs is in Nelore, while in Colombia the Brahman breed prevails. In Brazil, during the 12 years of work, produce 22,259 blastocyst, while in Colombia in just eight years have produced 93,623, with an annual average 1855 and 11,703 embryos to Brazil and Colombia, respectively. Thus, we conclude that once established, standardized procedures for all follicular aspiration, *in vitro* embryo production and transfer to synchronized recipients, that biotech can be deployed quickly and efficiently in any region or country that targets a genetic gain fast in the herd.

**Keywords:** Biotechnical, Brahman, genetic gain, OPU-IVF

## Introdução

A atual e crescente necessidade de incremento na produtividade pecuária leva ao desenvolvimento de várias biotécnicas, principalmente na espécie bovina, que tem baixo número de descendentes e um intervalo de gerações longo. Inicialmente, a inseminação artificial (IA) teve um importante papel na disseminação do material genético do macho e, posteriormente, técnicas como o controle do ciclo estral, a superovulação (SOV) e a transferência de embriões (TE) proporcionaram um aumento na possibilidade da multiplicação do material genético oriundo da fêmea. Estas técnicas, difundidas em vários países, contribuíram decisivamente para melhorar a qualidade e quantidade do produto final, quer seja carne ou leite. Em um segundo momento, a ultra-sonografia somou-se às técnicas existentes como importante recurso para a monitoração da atividade ovariana (Lambert et. al 1983, Pieterse et. al, 1998)

Inicialmente, a recuperação de oócitos provenientes de fêmeas abatidas permitiu o desenvolvimento de laboratórios especializados na produção em massa de embriões produzidos *in vitro*, mediante as técnicas de maturação, fecundação e cultivo *in vitro* (MIV/FIV/CIV). Na década de 90 especialmente, com o aperfeiçoamento da técnica de punção folicular de vacas vivas (OPU – *ovum pick-up*), foi possível produzir embriões de alto valor genético (Azambuja et al, 1996, Watanabe et al, 1998, Dayan et al 1999). A punção pode ser realizada em doadoras do tipo leiteiro ou de corte, novilhas ou vacas, as quais podem estar vazias ou gestantes (até o terceiro ou quarto mês) e, principalmente aquelas com infertilidade adquirida, inviáveis para programas de IA e TE, como por exemplo, aquelas portadoras de obstrução ou aderência tubárica ou que não respondem mais à superovulação (Kruip et al, 1994, Looney et al, 1994 e 1995, Hasler, 1996, Dayan et al, 2002).

No entanto, o fator limitante da aplicação comercial desta técnica é o custo alto da montagem e manutenção do laboratório, assim como a mão-de-obra utilizada, além da variação na taxa de gestação e o custo de sincronizar receptoras para a transferência à fresco dos embriões produzidos em larga escala.

O objetivo principal foi mostrar os dados de OPU-FIV na raça Brahman nos dois países onde a Vitrogen implantou sua aplicação comercial, ou seja, os dados de produção nos 12 anos da Vitrogen Brasil (1999 a 2010) e da Vitrogen Colômbia (2003 a 2010).

## Metodologia

Os embriões foram produzidos *in vitro* de acordo com o protocolo descrito por Watanabe et al, 1998. Os oócitos viáveis foram obtidos por aspiração folicular transvaginal de várias doadoras, os quais foram maturados por 24 horas, seguidos para a fecundação com diferentes touros por 18 horas de incubação. Após este período, os possíveis zigotos foram cultivados *in vitro* por 7 dias e a taxa de blastocistos averiguada. A seguir os embriões foram transferidos para receptoras sincronizadas e a detecção da prenhez foi realizada mediante ultra-sonografia entre 30 e 35 dias após a transferência e re-confirmada aos 60 dias.

Foi analisada a produção de 3 laboratórios no Brasil (Cravinhos, Campo Grande e Uberaba) e 4 laboratórios na Colômbia (Monteria, Medellín, Caucásia e

Bogotá), desde a implantação da técnica de OPU-FIV comercialmente para a raça Brahman.

### Resultados e Discussão

Na tabela 2 podemos visualizar a produção anual da Vitrogen agrupando-se os dados dos diferentes laboratórios. No início da implantação do laboratório observamos uma baixa taxa de prenhez no Brasil, com uma taxa de 21 a 23% de prenhez comparada com 43 a 45% mais recentemente. Ao contrario, a produção de embriões para a raça Brahman no Brasil sempre apresentou um bom índice de produção. Este fato se deve ao uso de animais com ótimos índices de produção de oócitos, como também o sêmen utilizado na FIV.

No índice médio de oócitos viáveis por doadora, assim como no número de blastocisto e prenheses por sessão de aspiração são satisfatórios (28,8, 11,1 e 1,8, respectivamente). No entanto, estudos de acasalamentos são necessários para incrementar estes índices.

Tabela 1. Produção anual de embriões bovinos após OPU-FIV no diferentes laboratórios da Empresa Vitrogen Brasil.

ANO	Nº OP U	OÓCITO S VIÁVEIS	BLAS T	% BLAS T	TE	TE PALP	% PRENHE Z	MÉDIA		
								OÓCIT O	BLAST .	PRENHE Z
1999	51	563	254	45%	198	153	23%	11,0	5,0	0,7
2000	80	766	324	42%	294	255	21%	9,6	4,1	0,7
2001	146	2.370	1.047	44%	898	631	39%	16,2	7,2	1,7
2002	223	5.625	2.091	37%	1.986	1.761	38%	25,2	9,4	3,0
2003	168	3.866	1.492	39%	1.279	986	36%	23,0	8,9	2,1
2004	725	17.799	5.481	31%	4.941	2.062	32%	24,6	7,6	0,9
2005	272	13.047	4.031	31%	3.985	1.657	37%	48,0	14,8	2,2
2006	147	6.991	2.836	41%	2.680	730	39%	47,6	19,3	1,9
2007	90	4.056	1.717	42%	1.633	493	33%	45,1	19,1	1,8
2008	36	2.096	936	45%	858	207	43%	58,2	26,0	2,4
2009	117	2.050	696	34%	618	413	45%	17,5	5,9	1,6
2010	205	4.048	1.354	33%	958	946	45%	19,7	6,6	2,1
<b>Total</b>	<b>2260</b>	<b>63.277</b>	<b>22.259</b>	<b>35%</b>	<b>20.328</b>	<b>10.294</b>	<b>37%</b>	<b>28,8</b>	<b>11,1</b>	<b>1,8</b>

Além deste incremento de produção de embriões bovinos em território nacional, a empresa expandiu sua ação em outros países da América do Sul, desde o ano de 2003. Iniciou-se primeiramente na Colômbia seguindo pelo Uruguai e Venezuela. Na Tabela 2 os dados de produção de embriões seguem o mesmo padrão estabelecido no Brasil, ou seja, foram agrupados os 4 laboratórios da Colômbia (3 franquias e 1 próprio). Como observamos a taxa média de prenhez também foi inferior no primeiro ano (27%) seguindo para uma taxa média anual de 35% de prenhez. Na produção *in vitro* de embriões, a taxa se mantém uniforme no decorrer dos anos (36%).

Tabela 2. Produção anual de embriões bovinos após OPU-FIV no diferentes laboratórios da Empresa Vitrogen na Colômbia.

ANO	Nº OPU	OÓCITOS VIÁVEIS	BLAST	% BLAST	TE	TE PALP	% PRENHEZ	MÉDIA		
								OÓCITO	BLAST	PRENHEZ
2003	463	7.667	3.009	39%	1.900	1.900	27%	16,6	6,5	1,1
2004	1.422	22.960	8.636	38%	6.136	6.136	43%	16,1	6,1	1,9
2005	1.421	22.960	9.816	43%	6.329	2.879	37%	16,2	6,9	0,7
2006	1.945	44.165	14.666	33%	8.851	8.851	33%	22,7	7,5	1,5
2007	2.829	73.300	21.980	30%	13.339	12.855	34%	25,9	7,8	1,5
2008	1.978	42.032	15.589	37%	8.168	4.813	39%	21,2	7,9	0,9
2009	1.464	34.499	14.097	41%	7.409	7.012	34%	23,6	9,6	1,6
2010	607	16.831	6.830	41%	3.613	1.046	36%	27,7	11,3	0,6
TOTAL	12.129	264.414	94.623	36%	55.745	45.492	35%	21,3	7,9	1,2

Novamente vale salientar que no Brasil a quantidade de trabalhos realizados na raça Brahman é inferior aos da Colômbia, como sabemos, no Brasil o grande número de trabalhos é na raça Nelore, enquanto que na Colômbia prevalece a raça Brahman. No Brasil, durante os 12 anos de trabalho, produzimos 22.259 blastocistos, enquanto que na Colômbia em apenas 8 anos produzimos 93.623, com uma média anual 1.855 e 11.703 embriões para o Brasil e Colômbia, respectivamente.

### Conclusão

As informações apresentadas no trabalho, principalmente nos resultados obtidos desde o início da aplicação comercial da OPU-FIV no Brasil e Colômbia, vem mostrar o quanto esta técnica tem crescido, não somente em número, mas na qualidade dos serviços e aperfeiçoamento da técnica verificada pela taxa de gestação nos últimos anos. É necessário lembrar que todos os setores envolvidos na aplicação comercial da técnica têm colaborado muito nestes resultados, desde o manejo na fazenda, a padronização da produção *in vitro* de embriões nos laboratórios até as estruturas nas centrais de doadoras e receptoras. Além disto, é importante salientar que sem a parceria com os diferentes setores de pesquisa das Universidades e Órgãos Governamentais, não se consegue trabalhar com bons resultados num curto período de tempo e com menor custo. É um modelo de transferência de biotecnologia entre a pesquisa e o campo aplicados em vários países.

### Agradecimento

Agradecemos a todos os criadores do Brasil e da Colômbia, em especial ao criador brasileiro Sr. Rubico de Carvalho que acreditou em nosso trabalho e nesta nova tecnologia. Ao CNPq e à FAPESP pelos financiamentos de projetos de pesquisa. E, em especial a toda a equipe da Vitrogen® dos dois países pelo trabalho realizado nestes anos.

### Referências Bibliográficas

- AZAMBUJA, R.M.; WATANABE, Y.F.; PERIPATO, A.C.; WATANABE, M.R.; VILA, R.A.; MENDES, F.C.; LÔBO, R.B. Primeiras prenhez no Brasil em Nelore registrado. **Arq. Fac. Vet. UFRGS**, vol. 24, p. 264, 1996.
- DAYAN, A.; WATANABE, M.R.; FERRAZ, M.L.; MEIRELLES F.V.; WATANABE, Y.F. Influence of the embryo stage, development kinetics and recipient synchronization on pregnancy rates of OPU-IVF embryos. **Theriogenology**, v.57, p.492, 2002.
- DAYAN, A.; WATANABE, M.R.; LÔBO, R.B.; FRANCESCHINI, P.H. WATANABE, Y.F. A influência da condição ovariana na aspiração folicular e produção *in vitro* de embriões em raças zebuínas. **Arq. Fac. Vet. UFRGS**, v.27, n.1, p.226, 1999.
- HASLER, J.F. Commercial production of *in vitro*-derived bovine embryos. **Arq. Fac. Vet. UFRGS**, vol. 24, p. 117-134, 1996.
- KRUIP TH, A.M.; BONI, R.; WURTH, Y.A.; ROELOFSEN, M.W.M.; PIETERSE, M.C. Potential use of ovum pick-up for embryo production and breeding in cattle. **Theriogenology**, v.42, p.675-684, 1994.
- LAMBERT, R.D.; BERNARD, C.; RIOUX, J.E.; EELAND, R.; D'AMOURS, D.; MONTREUIL, A. Endoscopy in cattle by the paralumbar route: technique for ovarian examination and follicular aspiration. **Theriogenology**, v.20, p.149-161, 1983.
- LOONEY, C.R., DAMIANI, P., LINDSEY, B.R., LONG, C.R., GONSETH, C.L., JOHNSON, D.L., DUBY, R.T. Use of prepuberal heifers as oocytes donors for IVF: Effect of age and gonadotrophin treatment. **Theriogenology**, vol. 43, p. 269, 1995.
- LOONEY, C.R., LINDSEY, B.R., GONSETH, C.L., JOHNSON, D.L., Commercial aspects of oocyte retrieval and *in vitro* fertilization (IVF) for embryo production in problem cows., **Theriogenology** v.41 p.73, 1994.
- PIETERSE M.C, KAPPEN, K.A., KRUIP, A. M.TAVERNE, M.A.M.. Aspiration of bovine oocytes during transvaginal ultrasound scanning ovaries. **Theriogenology**, v.30, p.751-756, 1988.
- WATANABE, M.R.; LÔBO, R.B.; FRANCESCHINI, P.H.; DAYAN, A.; VILA, R.A.; GALERANI, M.A.V.; WATANABE, Y.F. Produção *in vitro* de embriões por sessão de aspiração em fêmeas nelore. **Arq. Fac. Vet. UFRGS**, v.26, n.1, p.382-383, 1998.
- WATANABE, Y.F A fecundação *in vitro* e reação acrossomal como critério de seleção para fertilidade em touros jovens da raça Nelore. Ribeirão Preto, 1998, 67 p., Tese (Doutorado), Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – FMRP/USP.