



IMPACTOS DO TRATAMENTO COM PROGESTERONA EM DIFERENTES DOSES E CONCENTRAÇÕES NA PIVE DE VACAS HOLANDESAS

Paulo Augusto Aguiar de Faria ⁽¹⁾; Fabio Luiz Bim Cavalieri ⁽²⁾;

⁽¹⁾ Acadêmico do Curso de Medicina Veterinária, Campus Maringá-PR, Universidade Cesumar – UNICESUMAR. paulo260344@gmail.com

⁽²⁾ Orientador, Doutor, Docente, UNICESUMAR. Pesquisador do Instituto Cesumar de Ciência, Tecnologia e Inovação – ICETI. fabio.cavalieri@unicesumar.edu.br

RESUMO

Introdução: Nos dias atuais, existem diversas formas com taxas elevadas de aprimoramento genético do rebanho, essas formas passam pelas biotecnologias de reprodução, já que a melhora genética e ampliação dos mesmos, o número de produtos nascidos e os números de produção aumentaram. As biotecnologias de reprodução animal hoje desenvolvidas, tem cada vez mais ganhado importância no melhoramento genético de rebanhos pelo mundo. Sendo o Brasil, responsável por cerca de 85% das transferências de embriões bovinos. Para que esses dados continuem crescendo, é necessário pesquisa como essa. Contudo, para se produzir embriões é necessário o entendimento de que temos diversos fatores que afetam diretamente neste processo, desde a doadora de oócitos, que não só deve apresentar um ECC (escore de condição corporal) bom, como ela também deve apresentar um ciclo estral regulado, afim de que sua população folicular esteja com uma boa quantidade, e que os oócitos aspirados destes folículos em sua maioria, sejam viáveis a PIVE (produção *in vitro* de embriões). Pensando neste importante setor, a pesquisa inclui uma forma direta, de utilização de protocolos hormonais com altas taxas de progesterona em diferentes formas de apresentação, utilizando em vacas holandesas, com o objetivo de verificar se existirá uma ligação com a parte final do processo, ou seja, na produção *in vitro* dos embriões. Com isso, vamos ter resultado extremamente claros, sobre a utilização ou não dos protocolos acima citados, trazendo para o âmbito de pesquisas, resultados de extrema importância, pois se o trabalho apresentar os resultados esperados, confirmando que a utilização de doses concentradas de progesterona, influenciam nos resultados da PIVE, estes protocolos poderão ser introduzidos nas fazendas, melhorando ainda mais os resultados de TE (transferência de embrião) no Brasil. **Objetivo:** Verificar a influência dos diferentes protocolos com taxas elevadas de P4 (progesterona), no número de oócitos e de embriões que serão produzidos pelas doadoras holandesas. **Metodologia:** Inicialmente, será realizada a aplicação de 2mg de benzoato de estradiol, 150µg de PGF2a e diferentes doses/apresentação de progesterona (P4) nos animais, os quais serão divididos em 3 grupos com 5 animais em cada: I) Dispositivo intravaginal de P4/Controle (Dispositivo



novo com 1g de P4 / Sincrogest®); II) 300 mg de P4 injetável (aplicação intramuscular de 300 mg de Sincrogest® injetável); e III) 600 mg de P4 injetável (aplicação intramuscular de 600 mg de Sincrogest® injetável). No 5º dia, será feita a aspiração folicular, sendo um total de 3 aspirações, onde todos os 15 animais, serão submetidos aos 3 diferentes protocolos. A aspiração folicular será guiada por um ultrassom ALOKA SSD-50, ajustado especificamente para o aparelho reprodutor de vacas, o qual será conectado a uma agulha 20G, que levará os oócitos aspirados para um tubo falcon por um sistema de aspiração a vácuo. O tubo conterá uma solução de 2,0% de soro fetal bovino, 25 UI/mL de heparina sódica e 98% de PBS. A aspiração dos folículos irá acontecer nos dois ovários do animal. Finalmente, os oócitos irão passar por um filtro coletor de embriões e uma lavagem, e os sedimentos serão colocados na placa de Petri para a busca e classificação dos oócitos. A produção *in vitro* desses embriões, irá acontecer no laboratório da Unicesumar. Os oócitos que foram selecionados serão lavados em TCM199 suplementado com Hepes e inseridos em placas com meio de maturação e mantidos em estufa, a 38,5 °C, 5% de CO₂ em ar e uma umidade de máxima entre pelo período de 22-24 h. Os oócitos serão inseridos em microgotas de 75 µL de meio de maturação cobertas por óleo mineral. Ademais, os oócitos maturados serão submetidos à fecundação *in vitro*. O sêmen para sexagem da fêmea holandesa (*Bos taurus*) será descongelado a 36°C em banho-maria. Para selecionar os espermatozoides móveis e remover diluidores e plasma seminal, acontecerá a centrifugação por 5 minutos. A dose utilizada para inseminar será de 1x10⁶ espermatozoides/mL, transferindo os oócitos para microgotas (20 oócitos/gota), onde ficarão por 22-24 h a uma temperatura de 38,5° C, em atmosfera com 5% de CO₂ em ar. Em seguida da fertilização, os zigotos serão cultivados *in vitro* (CIV) no meio SOF (Synthetic Oviduct Fluid), sendo suplementado com 5% de Soro Fetal Bovino SFB (Cultilb®) mantendo-se em atmosfera fechada em mistura específica com CO₂/N₂/O₂. Depois de 48h, as taxas de clivagem (nº clivados/ nº oócitos) serão analisadas, e assim a realização de renovação do meio de cultivo. Assim, ocorrerá o desenvolvimento embrionário. Passadas 48h, irá acontecer a avaliação da taxa de clivagem (nº clivados/ nº de oócitos) e depois os embriões serão realocados em atmosfera fechada para dar continuidade ao seu desenvolvimento. No 7º dia da CIV será avaliada a taxa de embriões que chegaram a blastocisto (nº blastocistos grau I / nº oócitos). Os critérios de avaliação do Manual da IETS 1998 que serão aplicados para diferenciar entre uma qualidade boa ou excelente dos blastocistos de grau I, ou seja, com poucos blastômeros prejudicados, possuindo no máximo 15% de células extrusadas da massa celular do embrião. No 10º dia de cultivo, será avaliada a taxa de blastocistos que eclodiram (nº blastocistos eclodidos / nº blastocistos grau I).

Resultados esperados: O objetivo final desta pesquisa é aumentar as taxas dos programas de PIVE, a fim de elevar o número de embriões produzidos por programa, aumentando assim as taxas de concepção das receptoras e, conseqüentemente, melhorando os resultados de produção das propriedades leiteiras.



Palavras-chave: produção in vitro; progesterona; embriões.