



PUBVET, Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia.

Biotecnologias na reprodução de caprinos

Carlos Clayton Oliveira Dantas¹ e Fagton de Mattos Negrão¹

¹ Graduado em Zootecnia pela Universidade do Estado de Mato Grosso - UNEMAT e Mestrando em Ciência Animal pela Universidade Federal de Mato Grosso - UFMT

Resumo

Os avanços tecnológicos para os seus diversos segmentos repercutem no aumento da produção animal, sendo que as biotecnologias reprodutivas e o melhoramento genético têm atuação direta na obtenção de maior número de animais de alta qualidade. As biotécnicas da reprodução são fundamentais no incremento da rentabilidade do agronegócio de pequenos ruminantes, sendo que a inseminação artificial e a transferência de embriões são tecnologias que conferem a maximização do potencial reprodutivo de reprodutores e matrizes de alto valor zootécnico. Ressalta-se, ainda, a grande contribuição da criopreservação de gamoplasma facilitando o intercâmbio Nacional e Internacional de material genético, além da preservação de raças nativas. Porém o uso de tecnologias reprodutivas deve ser bem avaliado quanto ao seu custo benefício, dentro de cada tipo de exploração, condições de estrutura e organização da propriedade e estar atentos ao estado sanitário e nutricional do rebanho, que são condições imprescindíveis para a implantação dessas biotecnologias.

Palavras-chave: biotecnologia, caprino, reprodução.

Biotechnology in the breeding of goats

Abstract

Technological advances for their impact on various segments increased livestock production, and reproductive biotechnology and breeding have direct intervention in getting more animals high quality. As biotechnologies of reproduction are fundamental in increasing the profitability of agribusiness small ruminants, with artificial insemination and embryo transfer are technologies that provide the maximization of reproductive potential of breeding and arrays of high value livestock. It is noteworthy, though, the great contribution of cryopreserved germplasm facilitating national and international exchange of genetic material, in addition to the preservation of native breeds. But the use of reproductive technologies should be well evaluated for its cost effectiveness, within each type of operation, terms of structure and organization of property and be mindful of health and nutrition of the herd, which are preconditions for the deployment of these biotechnologies .

Keywords: biotechnology, goat reproduction.

1.0 Introdução

O fortalecimento do sistema agro-industrial da Caprino-Ovinocultura nacional demanda crescentes investimentos e avanços tecnológicos para os seus diversos segmentos, ou seja, produção, processamento dos seus produtos e comercialização. Diferentes setores repercutem no aumento da produção animal, as biotecnologias e o melhoramento genético atuam na obtenção de maior número de animais de alta genética e seus produtos, sendo que um rebanho constituído de animais geneticamente mais produtivos terá condições de diminuir o número efetivo de animais, reduzindo os custos da propriedade, com repercussão no preço dos produtos gerados.

Pesquisas sobre biotecnologias reprodutivas demonstram a crescente vantagem no uso destas técnicas para o aumento na produção. Práticas de manejo reprodutivo, sincronização de estro, indução de parto e diagnóstico de

prelhês, podem desempenhar um importante papel na organização e controle do rebanho, com conseqüências diretas no seu desfrute. Outras tecnologias, como a inseminação artificial (IA), a transferência de Embrião (TE), permitem a maximização reprodutiva de machos e fêmea, explorando assim seu potencial biológico ao extrapolar suas possibilidades naturais, e contribuindo para a disseminação de animais geneticamente superiores. Outras tecnologias reprodutivas como a fecundação *in vitro* (FIV), a clonagem e a sexagem de gametas têm sido estudadas com grandes perspectivas futuras.

Dentro do panorama do crescimento econômico mundial a pesquisa e a implementação de biotécnicas da reprodução é de suma importância no aumento do desfrute e da rentabilidade do agronegócio de pequenos ruminantes, obtendo-se animais geneticamente superiores quanto a produtividade, a fertilidade e a resistência a doenças. A pesquisa deve sempre estar um passo a frente da demanda dos proprietários por novas tecnologias e, dentre estas, estão em desenvolvimento a clonagem, a sexagem de sêmen e embrião, novos métodos de criopreservação de embriões e ovócitos e o uso de animais transgênicos, dentre outras. Desta forma, as unidades de referência técnica federais e estaduais, que atuam na pesquisa, desenvolvimento, validação e transferência das tecnologias geradas desempenham papel primordial no crescimento da Caprino-Ovinocultura.

2.0 Principais Biotecnologias

2.1. Estação Reprodutiva

Segundo Lemos (1998), entende-se por estação reprodutiva o período do ano em que submetemos as matrizes, aptas à reprodução, ao acasalamento, podendo ser efetuado com bodes (Monta Natural e Controlada) ou Inseminação.

A estação reprodutiva proporciona vantagens como maior controle zootécnico do rebanho, adequado fornecimento nutricional em função do estado fisiológico dos animais, propiciando adequada assistência às matrizes e às crias, facilitando o manejo das crias do nascimento ao desmame, permitindo

maior controle reprodutivo e sanitário do rebanho, maximizando a eficiência reprodutiva, facilita a separação por sexo, a castração e a seleção de matrizes e reprodutores (Embrapa 2005).

A estação reprodutiva também facilita a comercialização de produtos (leite, carne e pele) e de grupos uniformes de animais quanto à idade e desenvolvimento ponderal, segundo a demanda do mercado.

Com isso deve-se observar o clima, a disponibilidade de alimentos, o estado nutricional e sanitário do rebanho, o tipo de exploração (extensivo ou intensivo), o objetivo da exploração (carne ou leite) e a demanda do mercado (Embrapa, 2005).

2.2. Sincronização do Estro

Segundo Araújo (1990), a indução ou sincronização do estro acompanhada consiste na ovulação, com o uso de hormônios, da luz ou pelo efeito macho. Estes métodos de manipulação do ciclo estral têm a vantagem de reduzir a utilização de mão de obra utilizada na observação do estro e concentrar um elevado número de fêmeas em estro, num curto intervalo de tempo, propiciando a otimização de mão de obra para a fertilização das fêmeas, seja por monta natural ou inseminação artificial, ou, ainda, para serem utilizadas em programas de transferência de embriões.

A sincronização do estro, das fertilizações e conseqüentemente, dos partos e dos desmames, contribuem nos manejos nutricional, sanitários e reprodutivo, além de permitir a disponibilização dos produtos destes animais de acordo com a época do ano e a demanda do mercado. Além disso, 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.

2.3. Diagnostico Precoce de Prenhêz

O diagnóstico precoce de prenhez oportuniza ao produtor o agrupamento das fêmeas em função do estado fisiológico, retornando à reprodução as fêmeas vazias ainda dentro da estação de monta e favorecendo o manejo das fêmeas prenhes.

O uso do ultra-som, por outro lado, favoreceu o desenvolvimento de métodos de diagnóstico de prenhez nos pequenos ruminantes domésticos, que afora serem práticos, seguros e eficazes permitem o diagnóstico já a partir dos 21 dias após o último estro seguido de fecundação além de determinar o número de fetos (Salles et al., 1997).

2.4. Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF)

A sincronização do cio é uma biotécnica reprodutiva que permite a concentração da inseminação e da parição em épocas desejáveis. A inseminação artificial é sem dúvida, uma ferramenta extremamente importante no processo de melhoramento genético do rebanho. No entanto, uma das grandes limitações à sua expansão têm sido o custo e falhas associados ao trabalho de observação de cio por longo período de tempo, e assim, fica prejudicada a performance reprodutiva do rebanho, o intervalo entre partos e a produção do rebanho (MALUF, 2002).

Somado a esse fato, em programas de IATF (inseminação artificial em tempo fixo) privilegia-se o uso de sêmen congelado, onde as fêmeas têm o estro induzido por tratamento hormonal, que favorece uma previsão de manifestação do estro e ovulações, e conseqüentemente o momento ideal de inseminação (Esquema 1).

ESQUEMA 1: Modelo de programa de IATF em caprinos leiteiros



Segundo MALUF (2002), quando a sincronização do estro em período de atividade reprodutiva dos dias curtos, ou em raças não estacionais, a IATF é igualmente recomendada, usando-se o método de inseminação por via transcervical. Neste, o inseminador localiza a cérvix com o auxílio do espécuro

e, com delicadeza e habilidade, o aplicador é introduzido pelo óstio cervical, atravessando o conduto cervical até atingir o corpo do útero. Quanto mais profunda for a penetração da cérvix, maior será o percentual de resultados positivos, desde que não haja qualquer laceração, tração ou sangramento. Os melhores resultados de fertilidade são obtidos quando da deposição do sêmen no corpo do útero, denominado Inseminação Intrauterina (I.U.). Em caso de dificuldade na transposição dos anéis cervicais, o sêmen deverá ser gentilmente depositado no interior da cervix, e denominado Inseminação Intracervical profunda (I.C.P) ou cervical superficial (I.C.S.), conforme o local de deposição do mesmo. Em programas de IA com sêmen congelado, bem conduzidos, o percentual de fertilidade poderá ser igual ou superior a 60%.

2.5. Transferência de Embriões

A transferência de embriões (TE) é um método de reprodução melhorada que associa diversas biotecnologias e possibilita a multiplicação acelerada de indivíduos geneticamente superiores, solução para diferentes objetivos de ordem genética, comercial e sanitária, porque, nos primeiros estágios de desenvolvimento o embrião é beneficiado por uma proteção natural contra os agentes infecciosos externos (Baril, 1995). Também, permite a redução do intervalo entre gerações por possibilitar a colheita de embriões de fêmeas caprinas jovens e pré-púberes (Salles et al., 2000). Rodrigues (1997), expõe em termos gerais os seguintes aspectos a serem considerados na organização de um programa de TE: a) recursos humanos, equipe com experiência em TE e pessoal de apoio nas propriedades devidamente treinado; b) recursos materiais compatíveis às necessidades do trabalho; c) condições nas propriedades de manejo, alimentação e controle sanitário nos animais envolvidos; d) seleção criteriosa de doadoras e receptoras e reprodutores para a monta natural ou doadores de sêmen.

O trabalho de rotina exige um período mínimo de três meses para a organização da infra-estrutura, animal, material e humana. A relação custo/benefício está na dependência direta do estabelecimento de alguns critérios para a execução da TE (Ishwar & Memon, 1996;

Russel,1998):1)colheita/doadora/ano: levando-se em consideração a fisiologia do ciclo estral e a manutenção do equilíbrio endócrino nas doadoras, respeitando um intervalo entre cada programa de 60 dias, podem ser realizadas quatro a cinco colheitas /doadora/ano. 2) embriões viáveis: a espécie caprina pode produzir uma média de sete embriões viáveis/colheita/doadora. Esta média pode variar em função de doadoras que apresentem um número elevado de multiovulações por tratamento superovulatório e o método de lavagem dos embriões. 3) seleção de doadoras: 3a) Genótipo: exclusão das fêmeas que apresentem algum tipo de anormalidade cromossômica; 3b) Fenótipo: a doadora deve possuir um fenótipo considerado superior dentro da raça, considerando-se a habilidade de transmissão destas características. 3c) saúde reprodutiva: ter conhecimento da ocorrência de no mínimo dois ciclos estrais regulares antes de cada programa. 3d) saúde geral: cumprir calendário de saúde preventiva. 3e) peso corporal: o peso mínimo para cabras da raça Bôer é 30 kg 4)seleção de receptoras: adquirir fêmeas oriundas de rebanhos indenes de doenças infecto-contagiosas. Aplicação de controle sanitário básico, controle de dois ciclos estrais antes do tratamento hormonal e estas devem ser preferencialmente utilizadas em um único programa. Evidências sugerem que o preparo correto das receptoras é responsável por 50% do sucesso na sobrevivência embrionária. 5) Resposta ao tratamento superovulatório: a variabilidade individual da doadora é em muitos casos uma barreira para a eficiência das gonadotrofinas exógenas no recrutamento, crescimento, maturação e ovulação dos folículos (Baril et al. 1993). 6) Fecundação das doadoras: a fecundação de doadoras caprinas pode ser por monta natural controlada, é um método eficaz quando realizado duas vezes por dia, a partir do início do estro, a intervalos de 12 horas. No caso da inseminação artificial (IA) são recomendados horários entre 20 -24 horas após a exteriorização do estro (Vallet & Baril, 1990). 7) Colheita dos embriões: esta manipulação deve ser executada por técnico treinado, de maneira mais asséptica e habilidosa possível, pois devemos preservar a viabilidade dos embriões obtidos e a integridade do sistema genital da fêmea. 8) Avaliação

morfológica dos embriões: esta é em primeira instância a única característica que possibilita ao técnico realizar um prognóstico quanto a viabilidade destes, constituindo-se em pré-requisito imprescindível na obtenção de taxas de prenhez satisfatórias.

2.6. Programas de Colheita de Embriões

O programa tem início com a sincronização do estro das doadoras e receptoras, com o uso de pessário vaginal impregnado com acetato de Fluorogestona (esponjas com 45 mg de FGA para caprinos e 40 mg para ovinos), Medroxiprogesterona (esponjas com 50 a 60 mg de MAP), dispositivos intravaginais (CIDR), ou implantes subcutâneos (Norgestomet), escolhido de acordo com a disponibilidade no mercado nacional. O tratamento dura um período de 10 a 11 dias para caprinos, e de 12 a 14 dias para ovinos, de acordo com o protocolo de superovulação. Novos tratamentos têm sido propostos na literatura mundial, reduzindo o número de dias para períodos tão baixos quanto 6 dias; porém os mesmos apenas poderão ser recomendados comercialmente quando o número de resultados em nosso país for suficientemente e significativamente elevado, e que demonstre superioridade de resultado na taxa de ovulação, no número de estruturas fecundadas e viáveis, na taxa de parição e de natalidade, comparativamente aos tratamentos que respeitam a fisiologia da espécie, reconhecidos mundialmente, ou seja, 10 a 11 dias para caprinos.

A superovulação é feita em 6 a 8 doses decrescentes de FSH, em intervalos de 12 h, durante um período de 3 a 4 dias antes da retirada do progestágeno (esponjas, CIDR ou implante). De acordo com a unidade de medida, as superovulações podem ser efetuadas com 130 a 200 mg NIH (Folltropin-V) ou 125 a 200UI (Pluset) realizando-se os acasalamentos 12 e 24 h após o início da manifestação do estro. As variáveis "raça" e "idade" interferem na dosagem de FSH, que deve ser criteriosamente escolhida pelo técnico responsável pelo programa. Resultados interessantes em ovinos vêm sendo obtidos tanto no exterior, quanto em nosso país, quando do

prolongamento da administração de FSH após a última dose do protocolo de superovulação. A associação de baixa dose de ECG (200 a 300UI) no final do tratamento permite melhor sincronia de ovulações, sendo igualmente adotada em protocolos de ovinos.

Cerca de 10 % das fêmeas super ovuladas não respondem ao tratamento, o que parece estar relacionado a fatores outros que não o tipo de hormônio, e sim a fatores genéticos, nutricionais ou à estação do ano em que a superovulação é feita. A taxa de ovulação varia segundo os mesmos parâmetros, oscilando de 03 a 50 CLs. O percentual de estruturas viáveis sofre uma ação direta do hormônio utilizado e da resposta individual dos animais à estimulação ovariana e, indiretamente, da eficácia da metodologia e do número de colheitas, resultando em uma média de 5 estruturas viáveis/doadora caprina. É importante que, no cálculo da eficácia do programa de TE, sejam consideradas todas as fêmeas super ovuladas, inclusive aquelas que não responderam ao tratamento ou que apresentaram apenas estruturas não fecundadas ou degeneradas, ou seja, na média final de um programa devem ser incluídos todos os custos do mesmo e a rentabilidade final em embriões transferíveis, taxa de gestação das receptoras e taxa de natalidade, uma vez que uma boa receptora pode receber de 1 a 3 embriões por transferência. Como já citado anteriormente, a repetição dos tratamentos em intervalos de 2 a 3 meses leva a uma diminuição na resposta super ovulatória do 2º ao 5º tratamento, o que permite aconselhar que uma cabra, ainda que de excelente potencial genético, seja submetida a, no máximo, três superovulações e colheitas de embriões sucessivas.

A colheita dos embriões é feita através de lavagem dos cornos uterinos entre o 7º e o 8º dias após o início do estro (dia 0) para caprinos através de laparotomia, endoscopia ou via cervical. A taxa de recuperação de embriões varia com o método de colheita e o hormônio utilizado, atingindo índices médios superiores a 60% e inferiores a 90%.

Para que o programa tenha sucesso, é fundamental que os embriões sejam transferidos a receptoras que se encontrem absolutamente

sincronizadas com as doadoras, quanto ao dia e momento de manifestação do estro. A transferência dos embriões é feita preferencialmente pelo método cirúrgico, no corno uterino correspondente ao ovário com corpo-lúteo. O semi cirúrgico ou semi-laparoscópico é igualmente utilizado, porém inicialmente é feita uma observação endoscópica, para verificar se a receptora realmente ovulou e em qual ovário, ou se apresenta regressão dos corpos lúteos, pois nesse caso a receptora é descartada do programa. Quando do uso de embriões congelados, estima-se em 50% a 60% as taxas de gestação e de sobrevivência embrionária (traduzida pelo número de crias nascidas em relação ao número de embriões transferidos) Taxas inferiores poderão ser encontradas quando da transferência exclusivamente via endoscópica, devido a possibilidade de deposição do embrião fora da luz uterina.

2.7 Fecundação In Vitro

Como é de conhecimento a fecundação é o processo através do qual um gameta masculino (espermatozóide) perfura as membranas lipoprotéicas do gameta feminino (óvulo) e combina-se com esse formando uma célula diplóide, o zigoto (com dupla carga genética), que em poucas horas inicia seu processo de divisão celular, o que já configura o desenvolvimento do embrião.

A Fecundação In Vitro consiste na técnica de fecundação extracorpórea na qual o óvulo e o espermatozóide são previamente retirados de seus doadores e são unidos em um meio de cultura artificial localizado em vidro especial.

Essa biotécnica permite a produção de animais transgênicos, de extremo interesse para a medicina humana, bem como estudos de clonagem e da preservação de animais de excelente nível genético, permitindo a estocagem de oócitos para fertilização e produção de animais no futuro.

A principal barreira para utilização dessa biotecnologia na espécie caprina é a capacitação in vitro, o que resulta numa menor taxa de clivagem dos oócitos (média de 50%), quando comparados aos outros ruminantes. Outra particularidade da espécie caprina é o alto percentual de ovócitos desnudos

quando da aspiração intra-folicular, além da menor quantidade de células do cúmulo (COC), tornando particularmente delicada a seleção dos oócitos que serão submetidos a maturação.

2.8. Clonagem

Podemos definir a clonagem como um método científico artificial de reprodução que utiliza células somáticas (aquelas que formam órgãos, pele e ossos) no lugar do óvulo e do espermatozóide. Vale lembrar que é um método artificial, pois, como sabemos, na natureza, os seres vivos se reproduzem através de células sexuais e não por células somáticas. As exceções deste tipo de reprodução são os vírus, as bactérias e diversos seres unicelulares.

A clonagem ainda não foi entendida por completo pelos médicos e cientista, no que se refere aos conhecimentos teóricos. Na teoria seria impossível fazer células somáticas atuarem como sexuais, pois nas somáticas quase todos os genes estão desligados. Mas, a ovelha Dolly, foi gerada de células somáticas mamárias retiradas de um animal adulto. A parte nuclear das células, onde encontramos genes, foram armazenadas. Na fase seguinte, os núcleos das células somáticas foram introduzidos dentro dos óvulos de uma outra ovelha, de onde haviam sido retirados os núcleos. Desta forma, formaram-se células artificiais. Através de um choque elétrico, as células foram estimuladas, após um estado em que ficaram "dormindo". Os genes passaram a agir novamente e formaram novos embriões, que introduzidos no útero de uma ovelha acabou por gerar a ovelha Dolly.

2.9. Produção de Transgênicos

A transgênese é a modificação da informação genética de um organismo através de técnicas de recombinação de DNA. Um animal transgênico é aquele que adquiriu uma nova informação genética como resultado de manipulação do seu DNA. O método original para produzir animais transgênicos consiste na micro-injeção do gene isolado dentro do pró-núcleo de embriões de uma célula. A produção de proteínas de interesse farmacêutico no leite de animais transgênicos tem se tornado uma alternativa atrativa para bioreatores de células animais. O uso dos pequenos ruminantes, particularmente os caprinos

de leite, possibilita uma excelente alternativa econômica para a produção de animais transgênicos. Vários autores já citaram a produção de caprinos transgênicos, bem como para produção de larga escala para sua aplicação industrial.

2.10. Sexagem de Sêmen

A sexagem de espermatozoides tem por finalidade pré determinar o sexo dos animais de produção para atender especificadamente as demandas econômicas da atividade produtiva, a técnica baseia-se na análise de DNA dos espermatozoides, determinando a presença do cromossomo X ou Y. O método utilizado é o de Beltsville Sperm Sexing Technology (BSST), que consiste na utilização de um corante, o qual se liga de modo diferenciado dependendo do conteúdo de DNA da célula espermática. Após isso, o espermatozoide passa por um citômetro de fluxo, que determina individualmente se o espermatozoide contém o cromossomo X ou Y, permitindo, portanto, a classificação das células pelo seu conteúdo genético. Esta técnica tem sido utilizada em combinação com outras biotécnicas, por exemplo, a fertilização "in vitro" e a inseminação cirúrgica. Contudo, vários aperfeiçoamentos necessitam ser feitos, mesmo porque ainda não é uma totalidade que utiliza a inseminação artificial em sua produção. A tecnologia de sexagem está disponível para ser usada e estudada, mas o custo ainda não compensa.

3.0. Considerações Finais

O uso de diferentes biotecnologias reprodutivas e seus diferentes protocolos devem ser analisados e serem compatíveis com as condições da propriedade, os níveis tecnológicos e econômicos alcançados por estas, o tipo e a finalidade fim de exploração, permitindo assim a escolha da técnica que garanta ao produtor um custo benefício rentável.

Os avanços das biotecnologias reprodutivas vem contribuindo para aumento do potencial da Caprino-Ovinocultura, principalmente a implantação de estação reprodutiva, a IA, a TE e as técnicas de criopreservação de germoplasma e pesquisas visando novas biotecnologias reprodutivas vem

sendo estudadas com perspectivas promissoras para as futuras demandas do agronegócio de pequenos ruminantes.

O estudo sobre a possibilidade de veiculação de patógenos pela monta natural, inseminação artificial (IA) e transferência de embrião (TE), assim como para as demais biotecnologias que estão em desenvolvimento para pequenos ruminantes tem grande importância e requer mais pesquisas, pois influi diretamente no comércio e importação de germoplasma e portanto na potencial econômico deste empreendimento.

As rápidas mudanças que estão ocorrendo no mundo globalizado que requerem mudanças e adaptações de todo o contingente técnico envolvido na cadeia produtiva de pequenos ruminantes. Atualmente, para que qualquer agronegócio tenha sustentabilidade necessita-se de qualidade, eficiência, maior produtividade a um menor custo, e, indispensavelmente um controle rígido da sanidade, pois atualmente barreiras sanitárias que estão sendo impostas pelos Países importadores estão cada vez mais rígidas, superando, em muito, as barreiras econômicas.

4.0. Literatura Citada

ARAÚJO, A. A. **Utilização da água de coco "in natura" com adição de gema de ovo como diluidor do sêmen caprino**. Fortaleza, 1990. Universidade Estadual do Ceará - UECE, 1990.

BARBOSA, P.F. **Análise genético-quantitativa de características de crescimento e reprodução em fêmeas**. Ribeirão Preto, SP: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, 1991. 237p.

BARIL, G.; BREBION, P.; CHESNÉ, P. **Manuel de formation pratique pour la transplantation embryonnaire chez la brebis et la chèvre**. Roma, FAO, 1993.

FREITAS, V. J. F. **Sincronização do ciclo estral e fertilidade de cabras submetidas a dois níveis de gonadotrofina coriônica (eCG) inseminadas artificialmente**. Fortaleza, 1988. Universidade Estadual do Ceará - UECE, 1988).

GUSMÃO, A. L.; ANDRADE MOURA, J.C. Transferência de embriões em caprinos e ovinos. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 33 (Supl. 1), p. 29- 32, 2005.