

**IMPACTO BIOECONÔMICO DA SEXAGEM DE
ESPERMATOZÓIDES EM PROGRAMAS DE PRODUÇÃO *IN VIVO* E
IN VITRO DE EMBRIÕES EM ZEBUINOS**

RENATO TRAVASSOS BELTRAME

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE

DARCY RIBEIRO - UENF

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ

FEVEREIRO – 2010

**IMPACTO BIOECONÔMICO DA SEXAGEM DE
ESPERMATOZÓIDES EM PROGRAMAS DE PRODUÇÃO *IN VIVO* E
IN VITRO DE EMBRIÕES EM ZEBUINOS**

RENATO TRAVASSOS BELTRAME

**Tese apresentada ao Centro de Ciências e
Tecnologias Agropecuárias da Universidade
Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro,
como requisito parcial para obtenção do título de
Doutor em Ciência Animal**

Orientador : Dra. Celia Raquel Quirino
Co-orientadores : Dr. Luis Gustavo Barioni
Dra. Vera Fernandes M. Hossepian de Lima

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
FEVEREIRO – 2010

**IMPACTO BIOECONÔMICO DA SEXAGEM DE
ESPERMATOZÓIDES EM PROGRAMAS DE PRODUÇÃO *IN VIVO* E
IN VITRO DE EMBRIÕES EM ZEBUINOS**

RENATO TRAVASSOS BELTRAME

**Tese apresentada ao Centro de Ciências e
Tecnologias Agropecuárias da Universidade
Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro,
como requisito parcial para obtenção do título de
Doutor em Ciência Animal**

Aprovada em 22 de fevereiro de 2010

Comissão Examinadora:

**Prof. Celia Raquel Quirino (PHD, Ciências Agrárias) - UENF
(Orientadora)**

**Prof. Vera Fernanda Martins Hossepian de Lima (Doutora, Ciências Biológicas) - Unesp
(Co -Orientadora)**

Prof. Ângelo Burla (Doutor, Produção, Animal) - UENF

Dr. Paulo Marcelo de Souza (Doutor, Economia Aplicada) – UENF

AGRADECIMENTOS

A Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF) e ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias (CCTA), pelo oferecimento deste curso;

A Danieli, minha esposa fonte de estímulo, incentivo e apoio, por amor e confiança a mim dedicados, extensivos a Caya e Meg.

Aos meus pais, Adinalte e Carmen, base da minha sabedoria e incentivadores do meu caminho;

A minha madrinha (Ivone), irmão, avó, tios, tias e demais agregados da família;

À minha orientadora, Professora Celia Raquel Quirino por me ter acreditado, incentivado e ensinado durante os anos de trabalho;

Ao grande amigo Luis Gustavo Barioni e toda sua família pelo apoio e companheirismo

A ABCZ, em nome do Sr Carlos Henrique Cavalari, pela concessão de parte dos dados deste estudo;

Ao CNPq pela concessão da bolsa de estudo;

A Fernando Luis Tobias pelo apoio e companheirismo nos trajetos Vitória x Campos;

Aos amigos e profissionais que de alguma forma incentivaram e foram importantes na realização deste trabalho: Aline Pacheco, Aline Costa Lucio, Aparecida Madella, Breno Dalla Maestri, Jovana, Ozanival Dario Dantas, Prof^a. Mayra Elena Ortiz D'Avila Assumpção, Prof^a Vera Fernanda Martins Hossepian de Lima; Ricardo Lopes Dias da Costa, Roberto Machado Carneiro, Rogerio Magno Barroso;

Aos amigos da república dos “Brodí”;

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho;

A todos os Deuses;

Sou profundamente grato.

SUMÁRIO

Lista de Tabelas.....	vi
Lista de Figuras	viii
Lista de Abreviaturas.....	x
Resumo.....	xi
Abstract.....	xiii
1. INTRODUÇÃO.....	01
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	03
2.1. PRODUÇÃO <i>IN VIVO</i> DE EMBRIÕES.....	03
2.2. PRODUÇÃO <i>IN VITRO</i> DE EMBRIÕES.....	05
2.3. RECEPTORAS.....	07
2.3.1 – Variabilidade das respostas de receptoras à sincronização.....	07
2.4. SELEÇÃO DE SEXO.....	08
2.5. USO DE MODELOS MATEMÁTICOS NA REPRODUÇÃO ANIMAL.....	11
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	14
4. OBJETIVOS.....	24
5. TRABALHOS.....	25
Estudo da evolução das biotécnicas de produção <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i> de embriões na raça Nelore no Brasil	26
Resumo	27
Abstract.....	27
Introdução.....	27
Material e métodos.....	28
Resultados e Discussão.....	29
Conclusão.....	36
Referências.....	36
Análise da produção de embriões <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> para doadoras da raça Nelore.....	40
Resumo	40

Abstract.....	40
Introdução.....	41
Material e métodos.....	42
Resultados e discussão.....	46
Conclusão.....	52
Referências.....	53

Modelo de simulação como ferramenta de auxílio à tomada de decisões em biotécnicas

reprodutivas: I - Base teórica e matemática..... 55

Resumo	55
Abstract.....	56
Introdução.....	56
Material e métodos.....	58
Resultados e discussão.....	65
Conclusão.....	67
Referências.....	68

Modelo de simulação como ferramenta de auxílio à tomada de decisões em biotécnicas

reprodutivas: II – Análise econômica da produção *in vivo* e *in vitro* de embriões..... 72

Resumo	72
Abstract.....	73
Introdução.....	73
Material e métodos.....	74
Resultados e discussão.....	83
Conclusão.....	90
Referências.....	90

Modelo de simulação como ferramenta de auxílio à tomada de decisões em biotécnicas

reprodutivas: III - Impacto da sexagem de espermatozóides.....	94
Resumo	94
Abstract.....	95
Introdução.....	95
Material e métodos.....	96
Resultados e discussão.....	101
Conclusão.....	110
Referências.....	111

LISTA DE TABELAS

Estudo da evolução das biotécnicas de produção *in vivo* e *in vitro* de embriões na raça Nelore no Brasil

Tabela 1. Número total e médias de embriões Nelore obtidos por coleta nas diferentes regiões do Brasil de 1997 a 2007 através da produção <i>in vivo</i> de embriões.....	33
Tabela 2. Número total e médias de embriões obtidos nas diferentes regiões de 1997 a 2007 – pela técnica de produção <i>in vitro</i> de embriões na raça Nelore	36

Análise da produção de embriões *in vitro* e *in vivo* para doadoras da raça Nelore

Tabela 1. Procedimentos de ajuste da distribuição exponencial negativa do número de embriões viáveis na técnica de produção <i>in vitro</i> na raça Nelore	47
Tabela 2. Freqüência observada e acumulada do número de embriões viáveis produzidos <i>in vitro</i> para doadoras da raça Nelore de 2000 a 2007.....	49
Tabela 3. Caracteres da análise de variância para a distribuição exponencial ajustada do número de embriões produzidos <i>in vitro</i> viáveis por aspiração de folículos de doadoras da raça Nelore.....	50
Tabela 4. Caracteres da análise de variância para modelos combinados do número de embriões viáveis produzidos após coleta e aspiração de doadoras da raça Nelore.....	52

Modelo de simulação como ferramenta de auxílio à tomada de decisões em biotécnicas reprodutivas: II – Análise econômica da produção *in vivo* e *in vitro* de embriões

Tabela 1. Taxas e períodos estabelecidos no cenário base para receptoras de embriões produzidos <i>in vivo</i> de bovinos.....	78
Tabela 2. Estimativa de custo em reais correspondente à localização das receptoras no modelo de simulação (Valores arredondados).	78
Tabela 3. Estimativa de custos em reais das receptoras de embriões bovinos alocadas no modelo de simulação.....	79
Tabela 4. Estimativa de custos de manutenção de receptoras alocadas no modelo de simulação.	80

Tabela 5. Valores considerados no cenário base em uma fazenda.....	81
Tabela 6. Cenários utilizados nas análises de simulação (TE e PIVE) em bovinos.....	82
Tabela 7. Despesas em reais (R\$) de doadoras de oócitos e embriões bovinos referentes a aquisição, valor residual e custo de manutenção considerados para simulação das biotécnicas de produção <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i> de embriões.....	84
Tabela 8. Resultados do modelo de simulação para projeção da biotecnologia de produção <i>in vivo</i> de embriões bovinos em fazendas em um período de dez anos.....	87
Tabela 9. Resultados do modelo de simulação para projeção da biotecnologia de produção <i>in vitro</i> de embriões bovinos em fazendas sob um horizonte de dez anos.....	87
Tabela 10. Comparação entre número de prenhez, número de fêmeas e custo da prenhez para as técnicas de produção <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i> de embriões bovinos nos cenários otimizados.....	91

Modelo de simulação como ferramenta de auxílio à tomada de decisões em biotécnicas reprodutivas: III - Impacto da sexagem de espermatozóides

Tabela 1. Taxas e períodos estabelecidos no cenário base para receptoras a serem utilizadas nas técnicas de produção <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i> de bovinos.....	98
Tabela 2. Taxas reprodutivas consideradas na utilização da sexagem de espermatozóides pela técnica de citometria de fluxo (C3) e centrifugação em gradiente de densidade (C4) para as técnicas de produção <i>in vivo</i> (TE) e <i>in vitro</i> (PIVE) de embriões.....	99
Tabela 3. Valores (em reais R\$) considerados para compra da dose de sêmen sexado e venda das prenhez produzidas pela técnica de produção <i>in vivo</i> ou <i>in vitro</i> de bovinos.....	101
Tabela 4. Custo de doadoras referentes a aquisição, valor residual e custo de manutenção considerados para simulação das biotécnicas de produção <i>in vivo</i> ou <i>in vitro</i> de embriões de bovinos.....	102
Tabela 5 - Resultados do modelo de simulação para projeção da biotecnologia de Produção <i>in vivo</i> em fazendas, sob um horizonte de dez anos, considerando seleção de sexo pela técnica de citometria de fluxo (C3 e C3M) e gradiente de densidade (C4 e C4M).....	104
Tabela 6 - Resultados do modelo de simulação para projeção da biotecnologia de PIVE em fazendas, sob um horizonte de dez anos considerando seleção de sexo pela técnica de citometria de fluxo (C3 e C3M) e gradiente de densidade (C4 e C4M).....	107

Tabela 7. Comparação entre número de prenhezes, número de fêmeas e custo da prenhez para as técnicas de produção <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i> de embriões bovinos da raça Nelore.....	112
--	-----

LISTA DE FIGURAS

Estudo da evolução das técnicas de produção *in vivo* e *in vitro* de embriões na raça Nelore no Brasil

Figura 1. Número de coletas de embriões (entre parêntesis) na raça Nelore comunicadas à Associação Brasileira de Criadores de Zebu.....	32
Figura 2. Distribuição do número de produção <i>in vivo</i> de embriões em regiões do Brasil na raça Nelore.....	33
Figura 3. Figura 3 – Número de aspirações realizadas em doadoras da raça Nelore de 2002 a 2007 no Brasil.....	35
Figura 4. Número de aspirações realizadas nas regiões brasileiras de 2002 a 2007 na raça Nelore.....	36
Figura 5. Comparação entre produção <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i> de embriões da raça Nelore de 1997 a 2007 no Brasil.....	38

Análise da produção de embriões *in vitro* e *in vivo* para doadoras da raça Nelore

Figura 1: Frequência observada da produção embrionária em relação ao número de aspirações realizadas para técnica de produção <i>in vitro</i> na raça Nelore no período de 2000 a 2007.....	46
Figura 2: Comparação entre a frequência observada e a frequência estimada do número de embriões produzidos <i>in vitro</i> viáveis por aspiração de folículos de doadoras Nelore obtida pela distribuição exponencial.....	51
Figura 3: Frequência predita na distribuição exponencial do número de embriões viáveis produzidos após produção <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i> da raça Nelore.....	53

Modelo de simulação como ferramenta de auxílio à tomada de decisões em biotécnicas reprodutivas: I - Base teórica e matemática

Figura 1. Fluxograma da dinâmica de fêmeas bovinas receptoras de embriões nos modelos de simulação para produção *in vivo* e *in vitro* de embriões..... 61

Figura 2. Fluxograma da dinâmica de embriões bovinos nos modelos de simulação na produção *in vivo* e *in vitro*..... 62

Modelo de simulação como ferramenta de auxílio à tomada de decisões em biotécnicas reprodutivas: II – Análise econômica da produção *in vivo* e *in vitro* de embriões

Figura 1. Representação gráfica do Valor Presente Líquido e do número de prenhez, com diferentes números de receptoras por doadora, no cenário base para produção *in vivo* de embriões bovinos..... 89

Modelo de simulação como ferramenta de auxílio à tomada de decisões em biotécnicas reprodutivas: III - Impacto da sexagem de espermatozóides

Figura 1. Variação do custo da prenhez (em reais R\$) diante da utilização de sêmen tradicional e sexado para biotécnica de produção *in vitro*..... 108

Figura 2: Estimativa do número total de prenhez e do número total de fêmeas produzidas nos cenários utilizando sêmen sexado para produção *in vivo* de embriões..... 109

Figura 3. Estimativa do número total de prenhez e do número total de fêmeas produzidas nos cenários utilizando sêmen sexado para produção *in vitro*..... 109

Figura 4. Comportamento das curvas do custo da prenhez, número de prenhez, número de fêmeas e número de produtos por descongelamento no cenário baseado na utilização de sexagem de espermatozoides por gradiente de densidade na produção *in vitro* de embriões bovinos..... 110

LISTA DE ABREVIATURAS

ABCZ - Associação Brasileira dos Criadores de Zebu
BE - benzoato de estradiol
CE - cipionato de estradiol
CL - Corpo lúteo
D_ - Dia
E2 - Estrógeno
ECC - escore de condição corporal
eCG - Gonadotrofina coriônica eqüina
FIFO - first in first out - primeiro a entrar primeiro a sair
FIV – fertilização *in vitro*
FLC - fluxo de caixa líquido
FSH - hormônio folículo estimulante
GnRH - Hormônio liberador de gonadotrofina
IA - inseminação artificial
IATF - Inseminação artificial em tempo fixo
LH - hormônio luteinizante
MOTE - múltipla ovulação e transferência de embriões
OPU - ovum pick up
P4 - Progesterona
PGF2 α - prostaglandina
PIVE - produção *in vitro* de embriões
PMSG - gonadotrofina sérica de égua prenhe
PRID - dispositivo de liberação lenta de progesterona
R/D - receptoras por doadora
RMSE - erro quadrático médio
TE – transferência de embriões
TETF - transferência de embriões em tempo fixo
TIR - taxa interna de retorno
TMA - taxa mínima de atratividade
VPL - valor presente líquido

RESUMO

BELTRAME, Renato Travassos. Universidade Estadual do Norte Fluminense. Fevereiro de 2010. Impacto bioeconômico da sexagem de espermatozóides em programas de produção *in vivo* e *in vitro* de embriões em zebuínos. Orientador: Prof^a Dra. Celia Raquel Quirino.

Este estudo teve como objetivo avaliar o efeito bioeconômico da sexagem de espermatozóides (SE) sobre produção *in vivo* (TE) e *in vitro* de embriões (PIVE) na raça Nelore. Trabalhos foram realizados para analisar o panorama histórico das biotécnicas, para identificar uma distribuição de probabilidade que representasse a produção embrionária na técnica *in vitro*, para descrever a base teórica e matemática de um modelo de simulação, para analisar o comportamento de cenários tradicionais aplicados às biotécnicas e para avaliar o impacto da sexagem de espermatozóides em programas de produção de embriões *in vivo* e *in vitro*. O modelo foi implementado no software de programação Delphi Rad Studio 2007[®], permitindo ao usuário inserir parâmetros reprodutivos e índices técnicos e econômicos como variáveis de entrada. No desenvolvimento do modelo foram utilizadas duas dinâmicas: 1 - receptoras, que foi similar para as técnicas de produção *in vivo* e *in vitro* de embriões e, 2 – embriões. A projeção embrionária convencional e após sexagem de espermatozóides foi realizada pela técnica de Monte Carlo (Perin Filho,1995) pressupondo a utilização da distribuição exponencial negativa e parâmetros de ajustes conhecidos. Foram determinados a viabilidade da atividade, o custo da prenhez e o número ótimo de receptoras por doadora nos cenários elaborados. Diante da utilização de sêmen convencional, a análise bioeconômica da TE e PIVE sugeriu que a sincronização para inovulação em tempo fixo minimiza o número de receptoras na propriedade e, conseqüentemente, o custo final da prenhez. A análise da sexagem de espermatozóide sobre as técnicas de TE e PIVE sugeriu que a utilização de doses de sêmen sexado não dilui o custo da prenhez, que a utilização do número ótimo de receptoras

por doadora estabelece o mínimo custo da prenhez, e que, o método de sexagem de espermatozoides por gradiente de densidade minimiza o custo da prenhez e produz um número maior de fêmeas em comparação à citometria de fluxo nos cenários estudados.

Palavras-chave: fecundação *in vitro*, modelagem, receptoras, simulação, transferência de embriões.

ABSTRACT

BELTRAME, Renato Travassos. Universidade Estadual do Norte Fluminense. February, 2010. Bioeconomic effect of sex selection in vivo and in vitro embryo production in zebu . Adviser: Prof^a Dr^a Celia Raquel Quirino.

This study has as objective to evaluate the bioeconomic effect of sex selection (SS) at *in vivo* (ET) and *in vitro* production (IVP) biotechniques in the nellore breed. Researches were realized to analyze the historic evolution of the biotechniques, to identify a probability distribution that represents the embryo IVP, to describe the simulation model, and to analyze the projection of the three biotechniques. This model was implemented in the Delphi Rad Studio 2007[®] programming software, permitting the user to introduce reproductive and technical information as entrance variables. In the development of the model two dynamics were used: 1 – Recipient, that was the same for the ET and in IVP and, 2 – Embryos. The conventional embryo projection and after sexing the spermatozoa was introduced through the Monte Carlo technique (Perin Filho,1995) assuming the use of the negative exponential distribution and knew parameters of adjust. It was determined the activity viability, the pregnancies cost and the optimal number of recipient per donor in the situations elaborated. Using conventional semen the in ET and IVP suggest that the synchronization for fixe time in ovulation minimize the number of recipients in the farm and consequently the pregnancy final cost. The sex selection analysis suggest that the use of sexed semen do not decrease pregnancy cost, that using the optimal number of recipient per donor will generate minimal cost, and that the density gradient method to sex semen minimize the pregnancy cost and produce more females than flow cytometry method in the studied sceneries.

Key-words: *in vitro* fertilization, modeling, recipients, simulation, embryo transfer.

1. INTRODUÇÃO

O cenário econômico nacional sofreu profundas modificações nas últimas décadas. Na pecuária, estas modificações acompanharam o desenvolvimento e aplicação comercial de biotecnologias da reprodução destinadas a aumentar a velocidade com a qual o melhoramento genético estava sendo realizado. Não diferente, as técnicas de produção *in vivo* de embriões (TE) e *in vitro* (PIVE) foram aperfeiçoadas, o que conotou nos últimos anos notável avanço no melhoramento genético. Nos últimos cinco anos a disseminação destas técnicas no País atingiu grande relevância. Em 2005, o Brasil se tornou um dos países de maior aplicação de biotecnologias da reprodução em bovinos do mundo (VIANA, 2007).

A difusão das técnicas de inseminação artificial e seu aprimoramento na produção de embriões *in vivo* e *in vitro*, em programas de melhoramento genético animal, bem como a demanda de sistemas de produção mais eficientes, intensificaram o estudo e o desenvolvimento de técnicas de seleção do sexo de espermatozoides, em espécies de interesse zootécnico (WILMUT et al., 2000).

Diversas investigações têm sido realizadas acerca das técnicas de TE e PIVE (FARIN et al., 1999; GONÇALVES et al., 2007; GONÇALVES et al., 2008; MAHLI et al., 2008; PONTES et al., 2009). Alguns trabalhos têm relatado o estudo conjunto destas técnicas (FARIN et al., 1999; PONTES et al., 2009). A disseminação da técnica de sexagem dos espermatozoides nos últimos anos foi evidente, apesar de estudos relatarem menor fertilidade do sêmen sexado quando comparado ao não sexado (ANDERSON et al., 2006).

Seja para sua utilização na TE convencional (BARUSELI et al., 2007; HAYAKAWA et al., 2009) ou PIVE (LU et al., 1999; WILSON et al., 2006; WHEELER et al., 2006; BLONDIN et al., 2009; XU et al., 2009;) diversos trabalhos têm sido descritos. Estes trabalhos em sua grande maioria descrevem benefícios reprodutivos diante da adoção destas tecnologias englobando em sua grande maioria estratégias que correlacionem positivamente métodos de sincronização de receptoras, estratégias para obtenção de sêmen sexado e diferenciados tratamentos às doadoras que traduzem em uma maior produção de blastocistos e/ou taxa de prenhez.

Embora se verifique o acréscimo na eficiência reprodutiva diante do citado acima, nada se tem discutido acerca da viabilidade econômica da aplicação destes métodos e principalmente, quando os utilizar nos sistemas comerciais de TE e PIVE tradicionais. Os trabalhos em sua maioria direcionam-se unicamente aos benefícios reprodutivos, sem estudar financeiramente como se comportam variáveis e resultados na atividade como um todo.

Diante do que foi descrito acima, este estudo teve como intuito avaliar bioeconomicamente a influência da sexagem de espermatozóides nas técnicas de TE e PIVE realizadas em doadoras da raça Nelore.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. PRODUÇÃO *IN VIVO* DE EMBRIÕES (TE)

O primeiro bezerro produzido por TE nasceu a cerca de 60 anos. Desde então, programas de TE com resultados aceitáveis têm sido implementados em animais de produção (GONÇALVES et al., 2008).

O termo TE engloba o conjunto das atividades necessárias para retirar embriões do útero de fêmeas doadoras e a posterior deposição desses embriões no útero de fêmeas denominadas receptoras. Tem como finalidade principal, aumentar o número de produtos geneticamente superiores acelerando o melhoramento genético introduzido em diversas propriedades (MORAES et al., 2008).

A operacionalização de programas de TE depende da disponibilidade de fêmeas receptoras que possibilitam o desenvolvimento dos embriões até o nascimento. A decisão quanto ao número adequado de receptoras é de grande importância econômica em sistemas comerciais. A grande variabilidade na produção de embriões por doadora decorre, principalmente, do diferencial em genética e do aporte nutricional fornecido aos animais. Além disso, a necessidade de que as receptoras sejam adquiridas e sincronizadas antes que se tenha conhecimento sobre o número de embriões viáveis, que serão obtidos por meio de doadoras superovuladas, dificulta a decisão sobre que número de animais a se utilizar (BELTRAME et al., 2007).

A sincronização entre receptoras e doadoras somente é possível pelo uso de fármacos. Embora seja o único meio conhecido, nenhum dos fármacos existentes ou combinação deles garante que a totalidade dos animais tratados esteja apta à inovulação por ocasião da coleta dos embriões (ODDE, 1994; BÓ, 2000). Diante da variabilidade de protocolos de sincronização e dos diferentes índices obtidos, o descarte de receptoras após terem sido sincronizadas com insucesso representa uma grande parcela da ociosidade e dos custos da atividade.

Além dos aspectos inerentes à qualidade dos embriões, Fernandes (1999) destaca que a receptora e o ambiente são de decisiva importância na taxa de prenhez final. Galimbert et al. (2001) destacam o efeito da doadora, idade e qualidade dos embriões transferidos, método e local da transferência, sincronia doadora – receptora, estado nutricional, concentrações séricas de progesterona na receptora, bem como o estresse calórico como responsáveis pela redução na taxa de gestação.

A produção de embriões *in vivo* pela superovulação de doadoras oferece uma segura e econômica possibilidade de transmissão de material genético superior pela criopreservação (MERTON et al., 2003). Entretanto, a variabilidade na produção de embriões por doadoras e as baixas taxas de prenhez após transferência são fatores limitantes dos programas de TE. Em sistemas bem organizados de produção de embriões *in vivo* a média de embriões viáveis produzidos por coleta é de 4 a 8 e de 1 a 3 em vacas e novilhas, respectivamente (VELAZQUEZ, 2008).

Segundo Fernandes (2003), a média de embriões viáveis para animais de origem Européia situa-se em torno de 5,5 a 6,0, e para zebuínos entre 4,5 e 5,0 estruturas viáveis, ou seja, embriões que poderiam ser congelados ou transferidos para receptoras tendo capacidade de gerar um novo indivíduo. Reinchenbach (2003) cita um valor médio mundial de 6,0 embriões viáveis por coleta, destacando que 35% das doadoras respondem acima deste patamar e 15% não respondem ao tratamento superovulatório.

Baruselli et al. (2006) trabalhando com *Bos Indicus*, encontraram média de $8,7 \pm 0,9$ por coleta, enquanto Merton et al. (2003) e Visintin et al. (1999) descrevem cerca de 5 embriões como média. Slenning et al. (1989), analisando 39 artigos publicados, reportaram média e desvio padrão de $4,4 \pm 2,8$, respectivamente, para número de embriões viáveis. Todos os autores acima citados concordam que a variabilidade na produção de embriões existe, mesmo diante de condições ideais e situações similares.

Apesar deste e de outros problemas (temperatura, estresse, raça, condição corporal) uma grande quantidade dos embriões produzidos mundialmente com propósitos comerciais são produzidos por esta biotecnologia (VIANA et al., 2007) e grande parte dos projetos existentes consideram somente a utilização de valores médios na produção de embriões (BELTRAME et al., 2007).

Alguns estudos mais recentes (VELAZQUEZ, 2005; BARUSELLI et al., 2006; BÓ et al., 2006; LOONEY et al., 2006) investigaram diversas formas de melhorar os resultados da TE. Entretanto, possíveis variáveis que permitam uma predição confiável do resultado em termos do número de embriões viáveis e do número de prenhez ainda não estão disponíveis (BELTRAME et al., 2007; VELAZQUEZ, 2008; BELTRAME, 2009).

Segundo Bastidas & Randel (1987), a transferência de embriões seria de interesse se todas as doadoras pudessem produzir frequentemente grande número de embriões. Segundo estes autores, a redução no número de embriões obtidos se deve à repetição do tratamento superovulatório e a animais que não respondem bem ou não respondem ao tratamento. Peixoto (2000) analisou diversos trabalhos e relatou redução na produção de embriões mais

acentuada em *Bos Indicus* do que em *Bos Taurus*. No mesmo estudo foi relatado como único efeito indesejável o aumento de intervalos de partos devido às superovulações consecutivas.

2.2. PRODUÇÃO *IN VITRO* DE EMBRIÕES (PIVE)

O nascimento do primeiro bezerro nascido pela PIVE foi descrito por Brackett et al. (1982). Desde então, houve uma evolução da técnica, ocorrendo nos últimos anos um incremento significativo no número de embriões produzidos *in vitro*. Embora na maioria dos países a produção de um embrião de maneira convencional seja mais barata do que a PIVE, em alguns países (Brasil, Japão, Itália), a PIVE tem sido a técnica de escolha para produção de embriões em escala comercial (VIANA & CAMARGO, 2007).

No Brasil, a técnica de PIVE vem sendo a principal ferramenta utilizada pelos criadores nos últimos anos (VIANA & CAMARGO, 2007), principalmente, na raça Nelore. Este crescimento pode ser explicado pelos altos valores pagos pelos animais desta raça e pelo fato de um aumento na demanda por outros países em relação à genética do Nelore brasileiro (PONTES et al, 2009). Além disso, doadoras Nelore normalmente possuem grande número de folículos ovarianos em comparação aos animais *Bos Taurus*, com médias entre 18 e 25 estruturas recuperadas por sessão. Ainda, esta técnica apresenta uma maior flexibilidade em relação a TE. Destacam-se a capacidade de uso freqüente, a não necessidade de pré-estimulação hormonal, possibilidade de utilização em animais pré-púberes, em idade avançada e em início de gestação, sendo a técnica de escolha em animais com problemas reprodutivos adquiridos e que não respondem a superovulação convencional.

Um dos pontos importantes na PIVE é a variabilidade na qualidade dos oócitos utilizados para produção. Rizos (2007) demonstra que a qualidade do oócito tem grande importância na produção de blastocistos. Entre os fatores que afetam a qualidade dos oócitos estão o estado fisiológico e reprodutivo da doadora, o tamanho do folículo e a integridade das células do *cumulus*.

Muitas informações são relatadas a respeito da periodicidade de execução da aspiração em doadoras. Segundo Gonçalves et al. (2007), cada fêmea bovina é capaz de produzir 50 a 100 embriões/ano, com um regime de duas punções semanais por doadora, durante vários meses. Entretanto, este destaca como problemas as condições de cultivo e a distância entre o laboratório e as fazendas onde os oócitos são coletados e os embriões transferidos.

A aspiração folicular duas vezes por semana produz uma maior percentagem de embriões grau 1 e um maior número de embriões transferíveis do que aspirações realizadas

uma vez por semana (GIBBONS et al., 1994). No entanto, a aspiração folicular semanal de animais da raça Nelore pode produzir um bezerro por semana pela PIVE.

A PIVE consiste de três passos: maturação do oócito, fertilização e cultivo *in vitro* do embrião (VELAZQUEZ, 2008). A aspiração dos oócitos em conjunto com a fertilização *in vitro* constitui o mecanismo de produção de embriões de doadoras, estejam elas superestimuladas ou não.

Devido a apresentarem um maior número de folículos por onda em relação aos *Bos Taurus* (CARVALHO et al., 2008), doadoras da raça Nelore normalmente não requerem superovulação. Embora esta possa ocorrer na PIVE este processo é diferente em comparação à produção de embriões *in vivo*. O objetivo na superestimulação na TE é maximizar o número de ovulações com a qualidade embrionária. Na PIVE, o tratamento superovulatório prioriza aumentar o número de folículos para aspiração, estando estes em um diâmetro entre 5 e 10 mm. Embora diversos fatores possam afetar este processo, o profissional que realiza a aspiração do folículo ovariano é a fonte de variação mais importante que afeta os resultados obtidos (MERTON et al., 2003).

Em diversos estudos os processos de maturação de oócitos, fecundação e desenvolvimento dos embriões *in vitro* têm sido modificados no intuito de aumentar a produção e resultados após a inovulação dos embriões. Entretanto, as taxas de blastocisto, prenhez e embriões viáveis após a criopreservação obtidos de oócitos maturados e fecundados *in vitro* são inferiores às obtidas pelo sistema de produção *in vivo* (RIZOS et al., 2002).

O uso de animais muito jovens na PIVE, em comparação a TE tem o potencial de reduzir o intervalo de gerações. Entretanto uma redução na acurácia da seleção realizada pode ocorrer já que as informações do desempenho dos pais ainda não estão disponíveis ao momento da aplicação da biotécnica (VELAZQUEZ, 2008). Vários autores destacam uma maior produção de embriões pela técnica da PIVE em comparação a TE (PONTES et al., 2009).

Pontes et al (2009) foram precursores em relatar resultados diante da associação de TE e PIVE em vacas zebuínas. Neste trabalho, noventa e seis aspirações e 43 colheitas de embriões foram realizadas de maneira aleatória em 30 doadoras. Uma média de $3,2 \pm 1,2$ (1 a 5) aspirações e $1,4 \pm 0,6$ (1 a 3) TE foram realizadas por doadora. O intervalo mínimo entre as aspirações foi de 15 dias e de 45 para as TE. Embora os procedimentos de PIVE tenham resultado em maior número de embriões produzidos (média de $9,4 \pm 5,3$ da PIVE vs $6,7 \pm 3,7$ da TE) os autores concluíram que a associação entre as técnicas possui caráter vantajoso. Tal fato se deve ao intervalo pequeno entre as colheitas e aumento da eficiência dos protocolos de

superovulação, devido à punção dos folículos constituir método eficiente para o controle da dinâmica folicular. Diante da sincronização de receptoras com prostaglandina taxas de prenhez de 33,5% e 41,5% foram obtidas para PIVE e TE respectivamente. Não houve diferenças nas proporções de sexo dos produtos diante da utilização da técnica convencional, enquanto cerca de 52,8% de machos foram produzidos diante da produção de embriões pela PIVE.

2.3. RECEPTORAS

2.3.1. Variabilidade das respostas de receptoras à sincronização

Embora várias descobertas envolvendo a fisiologia da reprodução, tenham sido realizadas nas últimas décadas, a aplicação da TE e PIVE, ainda permanecem à mercê dos efeitos decorrentes da variabilidade dos índices que influenciam os resultados e do alto risco de sua execução. Nestas biotécnicas, geralmente, pouca atenção é destinada às receptoras em comparação às doadoras (BELTRAME et al., 2007).

A inconsistência de resultados decorrente da variabilidade inerente às técnicas de TE e PIVE, condiz a uma boa parcela dos custos de desenvolvimento desta atividade (BELTRAME 2006; BELTRAME et al., 2007; BARIONI et al., 2007).

Programas de TE e PIVE em bovinos dependem da disponibilidade de receptoras que permitam o desenvolvimento de uma gestação a termo (REICHENBACH. et al., 2002). A compra e manutenção de receptoras correspondem a uma considerável proporção dos custos da TE (FERNANDES, 1999; BELTRAME et al., 2007), sendo de extrema importância na determinação do número de produtos que podem ser gerados. Ainda, a identificação do número ótimo de receptoras é de grande valor econômico (BARIONI et al., 2007; BELTRAME et al., 2007)

Usualmente, o número de receptoras a serem alocadas para um programa de TE ou PIVE é calculado com base no número médio de embriões produzidos por doadora (BÓ et al., 2004). Embora grande parte das estimativas em trabalhos envolvendo aspectos reprodutivos seja analisada de forma determinista (FRIGGENS et al., 2005), alguns trabalhos têm sugerido o uso de números aleatórios e geração estocástica de variáveis (OSTERGAARD et al., 2005; BELTRAME et al., 2009).

Seja na biotécnica de TE ou PIVE, a grande variabilidade na produção de embriões pelas doadoras (SLENNINGL et al., 1989; GALLI et al., 2003) e a necessidade de compra e sincronização de receptoras antes que se conheça o número de embriões coletados ou

produzidos, dificultam a decisão acerca do número de animais que devem ser destinados à sincronização.

Independente do número de embriões produzidos, receptoras afetam economicamente o resultado das biotécnicas. Em um cenário economicamente viável para TE em uma propriedade, cerca de 83% das despesas são decorrentes dessa categoria animal. Dentro disto, cerca de 5% são gastos com fármacos para sincronização (BELTRAME, 2006). Outros estudos indicam que o custo da mão-de-obra para a detecção de estro aliado ao custo de manutenção de receptoras também determinam grande impacto aos programas de TE (BARUSELLI et al., 2003; BÓ et al., 2006).

A identificação e seleção de receptoras de alta qualidade não são simples. Vários estudos têm relatado variáveis que influenciam o resultado da sincronização de receptoras (NASSER et al., 2004; FERREIRA et al., 2006; CARVALHO et al., 2008). A escolha por novilhas ou vacas, secas ou lactantes, cíclicas ou em anestro, condição corporal, idade, histórico reprodutivo, estrutura corporal, tipo de sincronização e qualidade do corpo lúteo podem estar entre os fatores que influenciam o sucesso da utilização de receptoras (LOONEY et al., 2006; CHEBEL et al., 2008; JONES & LAMB, 2008).

A utilização de protocolos para transferência de embriões em tempo fixo possibilita um sincronismo entre receptoras e doadoras sem observação de estro e inovulação em hora predeterminada. Em adicional, possibilitam a otimização do uso de receptoras, minimizam estratégias de manejo, aumentam as taxas de aproveitamento e gestação reduzindo o custo da técnica e, conseqüentemente, do montante total de recursos gastos para a produção de uma prenhez (BELTRAME, 2006; BELTRAME et al. 2007).

2.4. SELEÇÃO DE SEXO

A eficiência reprodutiva é crítica para a viabilidade econômica dos sistemas de produção de carne ou leite em bovinos. Entretanto, poucas são as propriedades que se beneficiam das tecnologias reprodutivas (JOHNSON, 2005) e ainda em menor número aquelas que exibem resultados economicamente promissores.

O controle da seleção do sexo em animais permite rápido progresso genético, alta produtividade e flexibilidade do sistema de produção diante da possibilidade de minimização do sexo indesejável (RATH et al., 2009). Entretanto, a escolha antecipada do sexo dos descendentes deve ser efetiva e eficiente, resultando em fertilidade próxima ou igual ao

método convencional. Ainda deve possuir um preço acessível que permita sua expansiva aplicação (HOHENBOKEN, 1999; COLLEAU, 1991; MADALENA et al., 2004) .

A seleção do sexo tem um valor econômico significativo nos animais de interesse zootécnico com aptidão para produção de leite ou carne e em sistemas onde a produtividade é favorecida pela progênie de um dos sexos (TAYLOR et al., 1988; RUVUNA et al., 1992; HOHENBOKEN, 1999).

Na espécie bovina, mesmo diante da aplicação comercial da sexagem de espermatozóide por quase uma década, resultados decorrentes da seleção e congelamento do sêmen permanecem altamente variáveis (JOHNSON, 2005; RATH et al., 2009).

A quantidade de DNA nos cromossomos X e Y é variável entre as espécies. Cientificamente esta diferença é utilizada para a separação eficiente de espermatozoides. Com base nesta diferença, duas técnicas principais podem ser utilizadas para a seleção do sexo dos espermatozoides: a citometria de fluxo e a centrifugação em gradiente de densidade (HOSSEPIAN DE LIMA, 2007).

Na técnica de citometria, a velocidade de separação dos espermatozoides X e Y é relativamente lenta – aproximadamente 3000 a 4000 células por minuto para cada sexo. No intuito de otimizar o processo a dose de sêmen normalmente utilizada é de aproximadamente 2×10^6 espermatozoides/palheta. Este valor é inferior se comparado com a quantidade de espermatozoides utilizada para a IA com sêmen convencional (mínimo de 10×10^6 espermatozoides/dose). Existem trabalhos que relacionam certos comprometimentos na fertilidade quando um número pequeno de espermatozoides é utilizado por dose inseminante (BARUSELLI et al., 2007).

A quantidade de material genético do cromossomo Y entre as raças bovinas também é variável. Devido a isso, a variabilidade entre a eficiência do processo de separação dos espermatozoides X e Y, assim como nos resultados de prenhez após a utilização de sêmen sexado em raças Taurinas e Zebuínas é observada (BARUSELLI et al., 2007).

Alguns estudos relatam uma redução na produção *in vitro* de embriões utilizando sêmen sexado em relação ao convencional. Avelino et al. (2007), avaliando a fecundação de 30.939 oócitos, demonstraram uma redução média de 15% na clivagem e 12,8% na PIVE na utilização de sêmen sexado em relação ao não sexado, considerando a variação de 3,6% a 28,8% de cada touro, determinado por sua competência individual na produção *in vitro* de embriões.

A avaliação da produção de embriões em vacas Nelore a partir da utilização de sêmen sexado foi realizada por Baruselli et al. (2007). Estes autores verificaram uma diminuição no

número de embriões viáveis ($6,80 \pm 0,66$ vs $4,20 \pm 0,74$) e nos embriões congeláveis ($5,90 \pm 0,71$ vs $3,50 \pm 0,65$), respectivamente. Uma acuidade para o sexo desejado de cerca de 90% confirmada pela ultra-sonografia e taxa de gestação de 47% para o sexo desejado foi demonstrada neste trabalho.

Seidel (1999) relatou a utilização de sêmen sexado por citometria. Em novilhas cruzadas taxas de concepção de 40% e acuidade entre 80 e 90% foram obtidas. Baruselli et al (2007) destacam taxas de concepção de 25% diante da utilização de sêmen sexado em vacas lactantes da raça Angus.

No Brasil, um estudo utilizando 389 vacas Nelore recém-paridas e inseminação artificial com tempo fixo (IATF), demonstrou taxa de concepção próxima entre o uso do sêmen convencional (58,9%), sexado-X (52,0%) e sexado-Y (49,0%), indicando eficiência semelhante para o sêmen sexado para macho e para fêmea. Dados da sexagem fetal das matrizes gestantes apontaram uma acuidade de 93,9 % de eficiência para determinação do sexo (BARUSELI ET AL, 2007).

Nos Estados Unidos, resultados de um teste de campo compararam as taxas de prenhez, conseguidas com espermatozóides sexados por citometria de fluxo, em rebanhos com baixa, média e alta eficiência reprodutiva. A taxa média de prenhez utilizando doses de sêmen convencional foi de 58%, enquanto que utilizando sêmen com espermatozóides sexados nesses rebanhos as taxas de gestação foram 21%, 37%, e 35%, respectivamente (WEIGEL, 2004).

Schenk et al. (2006) compararam diferentes concentrações de espermatozóides sexados para produção de embriões pela IA. Sêmen convencional na concentração de 40×10^6 espermatozóides/dose, foi comparado à concentração de sêmen sexado de 10×10^6 e 2×10^6 espermatozóides/dose para produção de embriões pela técnica convencional. Resultados demonstraram também neste trabalho que um número menor de embriões foi produzido quando comparadas as técnicas ($8,7 \pm 0,9$) vs ($4,1 \pm 0,9$) e ($3,3 \pm 0,9$).

A outra técnica para seleção de sexo dos espermatozóides denomina-se centrifugação em gradiente de densidade (KANECO et al., 1983; HOSSEPIAN DE LIMA et al., 2000; HOSSEPIAN DE LIMA, 2007). Embora, poucos experimentos tenham sido demonstrados diante do ambiente de campo, dados laboratoriais indicam uma menor acuidade da seleção de sexo (70% para o sexo favorecido) e uma maior qualidade dos resultados de clivagem e gestação.

Dentre as preocupações acerca da implantação da tecnologia do sêmen sexado encontra-se a aparente queda de fertilidade, a baixa sobrevivência após descongelamento e o número reduzido de espermatozóides que podem ser separados em um período específico de tempo (WHEELER et al., 2006).

Assim como em outras biotecnologias, várias questões parecem influenciar o sucesso das taxas quando o sêmen enriquecido é utilizado. Estas questões são as baixas taxas de fertilização, baixas taxas de clivagem (LU et al., 1999), baixas taxas de blastocistos (MERTON et al., 1997; LU et al., 1999), baixas taxas de prenhez, capacitação espermática parcial (LU et al., 2004), amostras de sêmen diluído e variação individual de touros (ZHANG et al., 2003).

Independente da técnica, a idéia de uso do sêmen sexado no país vem sendo disseminada. Várias empresas já fornecem sêmen enriquecido com espermatozóides X ou Y. Entretanto, custo, disponibilidade e resultados obtidos ainda encontram-se aquém dos esperados. É importante que estas doses possuam compatibilidade com congelamento a preços acessíveis. Destaca-se que após sexagem da dose de sêmen para inseminação, não deve haver modificação sensível na estrutura morfológica dos espermatozóides que impactem nas taxas de clivagem, blastocistos e gestação diante do uso nas biotécnicas de reprodução quando comparadas ao sêmen convencional (HOSSEPIAN DE LIMA, 2007).

2.5. USO DE MODELOS MATEMÁTICOS NA REPRODUÇÃO ANIMAL

Na tentativa de resolver problemas e projetar antecipadamente resultados de atividades que envolvam elevado risco, alguns modelos matemáticos têm sido desenvolvidos, permitindo auxílio à tomada de decisões nas diversas esferas em sistemas de produção na espécie bovina (TEDESCHI et al., 2005). Alguns deles têm estudado aspectos reprodutivos das fêmeas bovinas (SLENNINGL et al., 1989; OSTERGAARD et al., 2005; BARIONI et al., 2007; BELTRAME et al., 2009).

Modelos têm sido descritos para prever o status reprodutivo de vacas através da concentração de progesterona no leite (FRIGGENS & CHAGUNDA, 2005), identificar o efeito da seleção do sexo na produção comercial em rebanhos (HOHENBOKEN, 1999), avaliação bioeconômica em sistemas TE em rebanhos selecionados (RUVUNA et al., 1992abc), dentre outros. Entretanto, modelos que descrevam a produção de embriões em doadoras seja para TE ou PIVE ainda não foram desenvolvidos.

Devido à alta variabilidade associada à característica de produção de embriões acredita-se ser impossível prever com elevada acurácia o número de embriões viáveis que serão recuperados ou produzidos por uma doadora, seja em programas de TE ou PIVE. Diante de situações práticas, as escolhas relativas à sincronização de receptoras devem ser feitas com base na expectativa da distribuição dos resultados, e não a partir dos valores médios obtidos (simulação determinística) (BELTRAME et al., 2007; BELTRAME et al., 2009). Apesar disto, a maioria dos modelos bioeconômicos na reprodução assume expectativas médias das variáveis (RUVUNA et al., 1992abc; FRIGGENS & CHAGUNDA, 1993; CARDOSO et al., 1999; HOHENBOKEN, 1999).

Recentemente, alguns modelos incluíram análises estocásticas nos números gerados (OSTERGAARD et al., 2005; BARIONI et al., 2007; BELTRAME et al., 2007). A maioria deles assume uma distribuição normal devido à falta de informação acerca da distribuição de probabilidade conhecida que corresponda ao real comportamento da variável (BARIONI et al., 2007; BELTRAME et al., 2007).

Outros autores têm integrado estudos estocásticos e deterministas para simular questões reprodutivas. Um modelo de simulação foi elaborado para prever a condição reprodutiva com base nas concentrações de progesterona no leite (FRIGGENS & CHAGUNDA, 2005). Este mesmo modelo foi alterado por Ostergaard et al. (2005) para avaliar efeitos técnicos e econômicos diante da inserção de dados no modelo. Neste estudo, distribuição Gamma e simulação de Monte Carlo foram utilizadas para estimar dias após o nascimento e distribuição normal para simular a dinâmica do ciclo estral.

A função de densidade probabilidade do número de embriões viáveis obtidos por coleta foi descrita por Beltrame et al. em 2009. Esta informação parece ser crucial na geração de números aleatórios em simulação, visto haver diferenças quando esta variável é simulada de forma determinista. Uma função similar para técnica de PIVE ainda não foi descrita na literatura. Isto ressalta a necessidade de estudos mais refinados do comportamento desta e de outras variáveis estocásticas e seu uso em predições do resultado das técnicas reprodutivas.

Para doadoras vários fatores de predição têm sido investigados incluindo a mensuração da concentração circulante de Progesterona, colesterol, estradiol, intensidade de estro, mapeamento ovariano por ultra-som, biopsia de tecido ovariano, propriedades do muco cervical e condição corporal (VELAZQUEZ, 2008). Em receptoras foram examinados a concentração sanguínea de progesterona, colesterol, uréia e propriedade do muco cervical. Entretanto, mesmo diante de resultados contraditórios destes trabalhos, a predição de respostas somente pode revelar associações entre as variáveis e não diretamente causa e

efeito. Muitos fatores afetam a resposta aos programas de TE e PIVE e muitas vezes não são mencionados. Entretanto, em vários casos, principalmente sob condições de campo, estes fatores não podem ser controlados. Mesmo assim seria muito importante encontrar uma ferramenta prática para estimar respostas e efeitos das variáveis.

Um modelo matemático foi utilizado para avaliar a dinâmica e o risco da TE em bovinos (SLENNING & WHEELER, 1989). Um total de 1500 coletas foi simulado para testar três estratégias: a) ausência de superovulação; b) superovulação usando FSH; c) superovulação usando PMSG. Neste estudo o modelo assumiu distribuição normal na variação de todas as variáveis, perdendo desta forma a habilidade de refletir a realidade.

Farin et al. (1999) avaliaram as variações morfológicas em embriões TE e PIVE. Neste caso um modelo matemático foi utilizado inserindo-se como dados de entrada notas da avaliação morfológica de embriões oriundos de TE e PIVE por diversos profissionais, para obter como dados de saída o percentual de embriões selecionados para transferência, o percentual de receptoras prenhas após transferência e o número requerido de embriões transferidos por prenhez obtida.

Os autores concluíram que, embora tenham se utilizado somente de simulações deterministas, experientes avaliadores diferiram significativamente na seleção de embriões para transferência, o que modificou a amplitude dos resultados das variáveis de saída.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDERSSON, M.; TAPONEN, J.; KOMMERI, M.; DAHLBOM, M. Pregnancy rates in lactating Holstein-Friesian cows after artificial insemination with sexed sperm. **Reproduction in Domestic Animals**, v.41, p.95-97, 2006.

AVELINO, K.B.; ROSSETTO, M.; MARAIA, A.C.; LANDIM JR., L.P.; GARCIA, J.M. Produção *In vitro* de embriões: sêmen convencional vs. sexado, **Acta Scientiae Veterinariae**. 35 (Supl. 3), 2007.

AYRES, H.; MARTINS, C.M.; FERREIRA, R.M.; MELLO, J.E; DOMINGUEZ, J.H.; SOUZA A.H.; VALENTIN, R.; SANTOS, I.C.C.; BARUSELLI, P.S. Effect of timing of estradiol benzoate administration upon synchronization of ovulation in suckling Nelore cows (*Bos indicus*) treated with a progesterone releasing intravaginal device. **Animal Reproduction Science**, v.109 (1-4), p. 77-87, 2008.

BARIONI, L.G.; BELTRAME, R.T.; QUIRINO, C.R.; FERNANDES, D.R. Modelos determinista e estocástico em programas de transferência de embriões em bovinos. **Archivos Latinoamericanos de Producción Animal**, v.15, n.3, p.107-113, 2007.

BARUSELLI, P.S.; MARQUES, M.O.; CARVALHO, N.A.T.; BERBER, R.C.A.; VALENTIM, R.; CARVALHO FILHO, AF.; COSTA NETO, W.P.; Dinâmica folicular e taxa de prenhez em novilhas receptoras de embrião (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*) tratadas com o protocolo "Ovsynch" para inovulação em tempo fixo. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 40 (2), 2003.

BARUSELLI, P.S.; SA FILHO, M. F.; MARTINS, C. M.; NASSER, L.F.; NOGUEIRA, M. F.G.; BARROS, C.M.; BO, G.A. Superovulation and embryo transfer in *Bos indicus* cattle. **Theriogenology**, v.65(1), p.77-88, 2006.

BARUSELLI, P.S.; SOUZA, A.H.; MARTINS, C.M.; UNNO, L.; AYRES, H.; ANDRADE, A.F.C.; CLÁUDIA, et al. Sêmen sexado: inseminação artificial e transferência de embriões. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 31(3), p.374-381, 2007.

BASTIDAS, P.; RANDEL, R.D. Effects of repeated superovulation and flushing on reproductive performance of *Bos indicus* cows. **Theriogenology**, v.28(6), p. 827-835, 1987.

BELTRAME, R.T. **Simulação bioeconômica da transferência de embriões em bovinos da raça Nelore**. 2006. 86p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF), Campos dos Goytacazes.

BELTRAME, R.T.; BARIONI, L.G.; MAESTRI, B.D.; QUIRINO, C.R. Economic optimization of the number of recipients in bovine embryo transfer programs. **Scientia Agricola**, v. 64, p. 221-226, 2007.

BELTRAME, R.T.; BARIONI, L.G.; QUIRINO, C.R.; DANTAS, O.D. Probability density function of the number of Embryos collected from superovulated Nelore breed donors. **Scientia Agricola**, v. 66, n.4, p.447-450, 2009.

BENYEI, B.; KOMLOSI, I.; PECSI, A.; POLLOTT, G.; MARCOS, C.H.; CAMPOS, A.O.; LEMES, M.P. The effect of internal and external factors on bovine embryo transfer results in a tropical environment. **Animal Reproduction Science**, v. 93, p. 268–279, 2006.

BINELLI, M.; THATCHER, W.W.; MATTOS, R.; BARUSELLI, P.S. Antiluteolytic strategies to improve fertility in cattle. **Theriogenology**, v.56, p.1451-1463, 2001.

BÓ, G. A. Sincronización de celos para programas de inseminación artificial y transferencia de embriones bovinos. In: SIMPÓSIO SOBRE O CONTROLE FARMACOLÓGICO DO CICLO ESTRAL EM RUMINANTES, 1., 2000, São Paulo. **Anais...** São Paulo: Fundação da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, USP, 2000, p. 35-60.

BÓ, G.A.; BARUSELLI, P.S.; MORENO, D.; CUTAIA, L.; CACCIA, M.; TRÍBULO, R.; TRÍBULO, H.; MAPLETOFT, R.J. The control of follicular wave development for self-appointed embryo transfer programs in cattle. **Theriogenology**, v.57, p.53-72, 2002.

BÓ, G.A.; MORENO, D.; CUTAIA, L.; BARUSELLI, P.S.; REIS, E.L. Manipulação hormonal do ciclo estral em doadoras e receptoras de embrião bovino. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 32, p.1-22, 2004.

BÓ, G.A.; PICINATO, D.; PERES, L.; NASSER, L.F.; BARUSELLI, P.S. Protocolos de transferência de embriões em tempo fixo para receptoras de embriões bovinos. **Acta Scientiae Veterinariae**. v. 34 (Supl 1), p.17-23, 2006.

BLONDIN, P.; BEAULIEU, M.; FOURNIER, V.; MORIN, N.; CRAWFORD, L.; MADAN, P.; KING, W. A. Analysis of bovine sexed sperm for IVF from sorting to the embryo. **Theriogenology**, v.71(1), p. 30-38, 2009.

BRACKETT RG, BOUSQUET D, BOICE ML, DONAWICK WJ, EVANS DRESSEL MA. Normal development following *in vitro* fertilization in the cow. **Biology Reproduction**, v.27, p.147-158, 1982.

CARDOSO, V.L.; NOGUEIRA, J.R.; ARENDONK, J.A.M.V. Optimal Replacement and insemination policies for holstein cattle in the southeastern region of Brazil. **Journal of Dairy Science**, v.82(7), p. 9, 1999.

CARVALHO, J. B. P.; CARVALHO, N. A. T.; REIS, E. L.; NICHI, M.; SOUZA, A. H.; BARUSELLI, P. S. Effect of early luteolysis in progesterone-based timed AI protocols in *Bos indicus*, *Bos indicus* × *Bos taurus*, and *Bos taurus* heifers. **Theriogenology**, v.69(2), p.167-175, 2008.

CHEBEL, R.C.; DEMETRIO, D.G.B.; METZGER, J. Factors affecting success of embryo collection and transfer in large dairy herds. **Theriogenology**, v. 69, p. 98–106, 2008.

COLLEAU, J.J. Using embryo sexing within closed mixed multiple ovulation and embryo transfer schemes for selection on Dairy Cattle. **Journal of Dairy Science**. v.74, p. 3973 – 3984, 1991.

DAY, M.L.; GASSER, C.L.; GRUM, D.E. Determinantes da idade a puberdade em novilhas. Novos enfoques na Produção e Reprodução de Bovinos. **Anais...**, Uberlândia, p. 86, 2006.

FARIN, P.W.; SLENNING, B.D.; BRITT, J.H. Estimates of pregnancy outcomes based on selection of bovine embryos produced *in vivo* or *in vitro*. **Theriogenology**, v.52, p.659-670, 1999.

FERNANDES, C.A.C. Inovulações Não cirúrgicas e taxa de gestação em receptoras de embrião. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.51, n.3, p 263-266, 1999.

FERNANDES, C.A.C. Viabilidade econômica da técnica de transferência de embriões bovinos. **Beefpoint**. 13 de Jan. 2003; Disponível: <http://www.beefpoint.com.br/>

FERREIRA, R.M.; RODRIGUES, C.A.; AYRES, H.; MANCILHA, R.F.; FRANCESCHINI, P.H.; ESPER, C.R.; BARUSELLI, P.S. Effect of synchronizing ovulation in cattle administered a norgestomet ear implant in association with eCG and estradiol treatments on pregnancy rate after fixed-time embryo transfer. **Animal Reproduction**, v.3(3), p. 370-375, 2006.

FRICKE, P.M.; GUENTHER, J.N.; WILTBANK, M.C. Efficacy of decreasing the dose of GnRH used in a protocol for synchronization of ovulation and timed AI in lactating dairy cows. **Theriogenology**, v.50, p.1275-1284, 1998.

FRIGGENS, N.C.; CHAGUNDA, M.G.G. Prediction of the reproductive status of cattle on the basis of milk progesterone measures: model description. **Theriogenology**, v.64, p.155-190, 2005.

FUENTES, S.; DE LA FUENTE, J. 1997. Different synchronization treatments for direct embryo transfer to recipient heifers. In: Proceedings of the 13th **Annual Meeting of the European Embryo Transfer Association**, Lyon, France. Lyon: AETE. p.148, 1997.

FUENTES, S.; DE LA FUENTE, J. Pregnancy rates of synchronized recipient heifers with equine chorionic gonadotropin or follicle stimulating hormone. **Acta Scientiae Veterinariae** v.35(Supl. 3), 2007.

GALIMBERT, A.M.; FONSECA, F.A.; ARAÚJO, M.C.C.; COSTA, E.P.C.; FREITAS, C.; GUIMARÃES, J.D.; FERREIRA, A.M. Taxa de gestação e níveis plasmáticos de progesterona, em receptoras de embrião bovino, tratadas com busarelina após a inovulação. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.30 (2), p.353-359, 2001.

GALLI, C.; DUCHI, R.; CROTTI, G.; TURINI, P. Bovine embryo technologies. **Theriogenology**, v.59, p.599-616, 2003.

GONÇALVES, P.B.D.; BARRETA, M.H.; SANDRI, L.R.; FERREIRA, R.; ANTONIAZZI, A.Q. Produção *in vitro* de embriões bovinos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.31(2), p. 212-217, 2007.

GONÇALVES, P.B.D.; FIGUEIREDO, J.R.; FREITAS, V.J.F. **Biotécnicas aplicadas a reprodução animal**. 2^a ed. São Paulo. Roca, 2008.

GIBBONS, J.R., BEAL, W.E., KRISHER, R.L. et al. Effect of once versus twice-weekly transvaginal follicular aspiration on bovine oocyte recovery and embryo development. **Theriogenology**, v.42, p.405-419, 1994.

HAYAKAWA, H.; HIRAI, T.; TAKIMOTO, A.; IDETA, A.; AOYAGI, Y. Superovulation and embryo transfer in Holstein cattle using sexed sperm. **Theriogenology**, v. 71(1), p. 68-73. 2009.

HOHENBOKEN, W.D. Applications of sexed semen in cattle production. **Theriogenology**, v.52(8), p.1421-1433, 1999.

HOSSEPIAN DE LIMA, V.F.M. et al. Separation of X- and Y- bearing bovine spermatozoa by Percoll density gradient centrifugation. **Theriogenology**, v. 53, n. 1, p. 480, 2000.

HOSSEPIAN DE LIMA, V.F.M. Avanços metodológicos na seleção do sexo de espermatozoides bovinos para utilização no melhoramento genético e na produção animal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, suplemento especial, p.219-228, 2007.

JONES, A.L.; LAMB, G.C. Nutrition, synchronization, and management of beef embryo transfer recipients. **Theriogenology**, v.69, p.107-115, 2008.

JOHNSON, S.K. Possibilities with today's reproductive technologies. **Theriogenology**, v.64(3), p. 639-656, 2005.

KANEKO, S. et al. Separation of human X- and Y- bearing sperm using Percoll density gradient centrifugation. **Fertility and Sterility**, v. 40, n. 5, p. 661-665, Abstract, 1983.

LOONEY, C. R.; NELSON, J. S.; SCHNEIDER, H. J.; FORREST, D. W. Improving fertility in beef cow recipients. **Theriogenology**, v.65(1), p. 201-209, 2006.

LU, K.H.; CRAN, D.G.; SEIDEL, J.G.E. *In vitro* fertilization with flow-cytometrically-sorted bovine sperm. **Theriogenology**, v.52(8): p. 1393-1405, 1999.

MADALENA, F.E.; JUNQUEIRA, F.S. The value of sexed bovine sêmen. **Journal of Animal Breeding and Genetics**. v.121, p.253-259, 2004.

MALHI, P.S.; ADAMS, G.P.; MAPLETOFT, R.J.; SINGH, J. Superovulatory response in a bovine model of reproductive aging. **Animal Reproduction Science**. v.109(1-4), p. 100-109, 2008.

MERTON, J. S.; HARING, R. M.; STAP, J.; HOEBE, R. A.; ATEN, J. A. Effect of flow cytometrically sorted frozen/thawed semen on success rate of *in vitro* bovine embryo production. **Theriogenology**, v. 47(1), p. 295-295, 1997.

MERTON, J. S.; ROOS, A. P. W.; MULLAART, E.; RUIGH, L.; KAAL, L.; VOS, P. L. A. M.; DIELEMAN, S. J. Factors affecting oocyte quality and quantity in commercial application of embryo technologies in the cattle breeding industry. **Theriogenology**, v. 59(2), p. 651-674, 2003.

MOLINA, L. **Fisiologia da Reprodução**. Curso Rehagro, Belo Horizonte. 2007.

MORAES, J.C.F.; SOUZA, C.S.F.; GONÇALVES, P.B.D.; FREITAS, V.J.F.; LOPES JR, E.S. Controle do estro e da ovulação em Bovinos e Ovinos. In: GONÇALVES, P.B.D.; FIGUEIREDO, J.R.; FREITAS, V.J.F. **Biotécnicas aplicadas a reprodução animal**. São Paulo: Roca, p 33-57, 2008.

MORENO, D.; CUTAIA, L.; TRÍBULO, R.; CACCIA, M.; TRÍBULO, H.; CHESTA, P.; VILLATA, M.L.; BÓ, G.A. Fixed-Time embryo transfer in cows treated with progesterone

vaginal devices and induced to ovulate with estradiol benzoate or hCG. **Theriogenology**, v. 59, n. 1, p. 307, 2003.

NASSER, L.F.; REIS, E.L.; OLIVEIRA, M A.; BÓ, G.A.; BARUSELLI P.S. Comparison of four synchronization protocols for fixed-time bovine embryo transfer in *Bos indicus* _ *Bos taurus* recipients. **Theriogenology**, v.62, p.1577-1584, 2004.

NOGUEIRA G. P. Puberdade e maturidade sexual de novilhas *Bos Indicus*. **2º Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada**. São Paulo: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de Sao Paulo, 2006.

NOGUEIRA, G.P. Puberty in south américa *Bos Indicus* (Zebu) cattle. **Animal Reproduction Science**. v.82-83, p. 361-372. 2004.

NOGUEIRA, G.P., Barnabe, R.C., Verreschi, I.T.N. Puberty and growth rate in Thoroughbred fillies. **Theriogenology**, v.48, p.581-588, 1997.

ODDE, K.G.; HOLLAND, M.D. Synchronization of estrus in cattle. In: FIELDS, M.J.; SAND, M.S. **Factors affecting calf crop**. New York: CRC Press, p 251-261, 1994.

OSTERGAARD, S.; FRIGGENS, N.C.; CHAGUNDA, M.G.G. Technical and economic effects of an inline progesterone indicator in a dairy herd estimated by stochastic simulation. **Theriogenology**, v. 64, p. 819-843, 2005.

PEIXOTO, M.G.C.D. **Fatores que influenciam resultados de ovulação múltipla e transferência de embriões de doadoras zebuínas**. 2000. 89p. Tese de Mestrado – Universidade Federal de Minas Gerais, UFMG.

PENTEADO, L.; SÁ FILHO, M.F.; MARTINS, C.M.; GIMENES, L.U.; AYRES, H.; BARUSELLI, P.S. Variação na taxa de concepção de vacas Nelore lactantes sincronizadas com dispositivo intravaginal de progesterona associado ao benzoato ou ao cipionato de estradiol. **Acta Scientiae Veterinary**, v.33, p.260, 2005.

PONTES, J. H. F.; NONATO-JUNIOR, I.; SANCHES, B. V.; ERENO-JUNIOR, J. C.; UVO, S.; BARREIROS, T. R. R.; OLIVEIRA, J. A.; HASLER, J. F.; SENEDA, M. M. Comparison of embryo yield and pregnancy rate between *in vivo* and *in vitro* methods in the same Nelore (*Bos indicus*) donor cows. **Theriogenology**, v. 71(4), p. 690-697. 2009.

PURSLEY, J.R.; MEE, M.O.; WILTBANK, M.C. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF_{2alpha} and GnRH. **Theriogenology**, v. 44, p. 915 - 923, 1995.

RATH, D.; MOENCH-TEGEDER, G.; TAYLOR, U.; JOHNSON, L.A. Improved quality of sex-sorted sperm: A prerequisite for wider commercial application. **Theriogenology**, v. 71, p. 22-29, 2009.

REICHENBACH, H.D, Avanços na superovulação, transferência, sexagem e criopreservação de embriões bovinos. **Pré congresso da XVII Reunião Anual da SBTE**, Ceará 2003.

RIZOS, D.; WARD, F.; DUFFY, P.; BOLAND, M.P.; LONERGAN, P. Consequences of bovine oocyte maturation, fertilization or early embryo development *in vitro* versus *in vivo*: implications for blastocyst yield and blastocyst quality. **Molecular Reproduction and Development**, v.61, p.234-248, 2002.

RIZOS, D. FIV em novillas VS. Vacas. **In: XXX curso internacional de reproducción animal**. p.259. INIA. Madrid, 2007.

RUVUNA, F.; TAYLOR, J.F.; WALTER, J.P.; TURNER, J.W.; THALLMAN, R.M. Bioeconomic evaluation of embryo transfer in beef production systems: I. description of a biological model for steer production. **Journal Animal Science**, v.70, p.1077-1083a, 1992.

RUVUNA, F.; TAYLOR, J.F.; WALTER, J.P.; TURNER, J.W.; THALLMAN, R.M. Bioeconomic evaluation of embryo transfer in beef production systems: II. Economic evaluation of steer production. **Journal Animal Science**. v. 70, p.1084-1090b, 1992.

RUVUNA, F.; TAYLOR, J.F.; WALTER, J.P.; TURNER, J.W.; THALLMAN, R.M. Bioeconomic evaluation of embryo transfer in beef production systems: III. Embryo lines for producing bulls. **Journal Animal Science**. v.70, p.1091-1097c, 1992.

SEIDEL Jr, G.E.; JOHNSON, L.A. Sexing mammalian sperm overview. **Theriogenology**, v.52, n.8, p.1267-72, 1999.

SCHENK, J.L.; SUH, T.K.; SEIDEL JR, G.E. Embryo production from superovulated cattle following insemination of sexed sperm. **Theriogenology**, v. 65(2), p. 299-307, 2006.

SLENNINGL, B.D.; WHEELERA, M.B. Risk evaluation for bovine embryo transfer services using computer simulation and economic decision theory. **Theriogenology**, v.31, p 653-673, 1989.

TAYLOR, J.F.; PHILLIPS, K.R.; TOMASZEWSKI, M.A. Net present value and economic merit of sexed semen and splitting units of semen for Australian Holsteins. **Journal of Dairy Science**, v. 71, p. 3100-3111, 1988.

TEDESCHI, L.O.; FOX, D.G.; SAINZ, R.D.; MEDEIROS, S.R.; BOIN, C.; BARIONI, L. G. . Mathematical Models in Ruminant Nutrition. **Scientia Agricola**, Piracicaba, Brasil, v. 62, n. 1, p. 76-91, 2005.

TRÍBULO, H.; MORENO, D.; CUTAIA, L.; GATTI, G.; TRÍBULO, R.; CACCIA,M.; BÓ, G.A. Pregnancy rates in embryo recipients treated with progesterone vaginal device and eCG and transferred without estrus detection. **Theriogenology**, v. 57, p.563, (abstract), 2002.

VELAZQUEZ, M. A.; NEWMAN, M.; CHRISTIE, M. F.; CRIPPS, P. J.; CROWE, M. A.; SMITH, R. F.; DOBSON, H. The usefulness of a single measurement of insulin-like growth factor-1 as a predictor of embryo yield and pregnancy rates in a bovine MOET program. **Theriogenology**, v.64(9), p.1977-1994, 2005.

VELAZQUEZ, M.A. Assisted reproductive technologies in cattle: Applications in livestock production, biomedical research and conservation biology. **O Embrião**. v.37 8-15. 2008.

VIANA J.H.M. & CAMARGO L.S.A. A produção de embriões bovinos no Brasil: Uma nova realidade. **Acta Scientiae Veterinariae**. v.35(Supl. 3), p. s915-s924. 2007.

VISINTIN, J.A.; ARRUDA, R.P.D.; MADUREIRA, E.H.; MIZUTA, K.; CELEGHINI, E.C.C.; ASSUMPÇÃO, M.E.OD.; GUSMÕES, P.P.G.; CANDINI, P.H. Superovulação de novilhas da raça Nelore com diferentes doses de FSH/LH e congelação de embriões pelo método one-step com etilenoglicol. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.36(5), 1999.

WEIGEL, K.A. Exploring the role of sexed semen in dairy production systems. **Journal of Dairy Science**, v.87, (E. Suppl.): p.120-130, 2004.

WHEELER, M.B.; RUTLEDGE, J.J.; AMY, F.B.; TARA, V.; SAMANTHA, M.; BEEBE, D.J. Application of sexed semen technology to *in vitro* embryo production in cattle. **Theriogenology**, v.65(1), p. 219-227, 2006.

WILMUT, I.; YOUNG, L.; DESOUSA, P.; KING, T. New opportunities in animal breeding and production - an introductory remark. **Animal Reproduction Science**. v.60, p. 5-14, 2000.

WILSON, R. D.; FRICKE, P. M.; LEIBFRIED-RUTLEDGE, M. L.; RUTLEDGE, J. J.; PENFIELD,; C. M. SYVERSON; WEIGEL, K. A. *In vitro* production of bovine embryos using sex-sorted sperm. **Theriogenology**, v.65(6), p.1007-1015, 2006.

WILTBANK, M.C. How information on hormonal regulation of the ovary has improved understanding of timed breeding programs. In: annual meeting of the society for theriogenology, **Proceedings**. p. 83-97, 1997.

XU, J.; CHAUBAL, S.A.; DU, F. Optimizing IVF with sexed sperm in cattle. **Theriogenology**, v. 71(1), p. 39-47. 2009.

ZHANG, M.; K.H. LU.; SEIDEL, J.G.E. Development of bovine embryos after *in vitro* fertilization of oocytes with flow cytometrically sorted, stained and unsorted sperm from different bulls. **Theriogenology**, v. 60(9), p. 1657-1663, 2003.

4. OBJETIVOS

Este trabalho teve como objetivo geral avaliar o efeito bioeconômico da sexagem de espermatozoides sobre as técnicas de produção *in vivo* e *in vitro* de embriões na raça Nelore.

Objetivos específicos

- Analisar o panorama histórico das biotécnicas na raça Nelore;
- Identificar uma distribuição de probabilidade que represente a produção embrionária na técnica *in vitro*, efetuando sua comparação com a produção *in vivo* de embriões;
- Descrever a base teórica e matemática do modelo de simulação das técnicas de produção *in vivo* e *in vitro* de embriões e seleção de sexo;
- Analisar o comportamento de cenários tradicionais na produção *in vivo* e *in vitro* de embriões;
- Avaliar a sexagem de espermatozoides em programas de produção *in vivo* e *in vitro* de embriões.

5. TRABALHOS

Os dois primeiros trabalhos foram elaborados segundo as normas das revistas *Acta Scientiarum Animal Sciences* e *Ciência Animal Brasileira*. Os demais trabalhos foram formatados para publicação na revista *Pesquisa Agropecuária Brasileira (PAB)*.

- Estudo da evolução das técnicas de produção *in vivo* e *in vitro* de embriões na raça Nelore no Brasil; (Submetido);
- Análise da produção de embriões *in vitro* e *in vivo* para doadoras Nelore; (Aceito);
- Modelo de simulação como ferramenta de auxílio a tomada de decisões em biotécnicas reprodutivas: I - Base teórica e matemática;
- Modelo de simulação como ferramenta de auxílio a tomada de decisões em biotécnicas reprodutivas: II – Análise econômica da produção *in vivo* e *in vitro* de embriões;
- Modelo de simulação como ferramenta de auxílio a tomada de decisões em biotécnicas reprodutivas: III - Impacto da sexagem de espermatozoides;

Estudo da evolução das biotécnicas de produção *in vivo* e *in vitro* de embriões na raça Nelore
no Brasil

Study of evolution of in vivo and in vitro production in Nelore breed at Brazil

(Evolução de biotécnicas reprodutivas no Brasil)

Renato Travassos Beltrame * ⁽¹⁾; Celia Raquel Quirino ⁽²⁾; Luis Gustavo Barioni ⁽³⁾;

⁽¹⁾ Bolsista do CNPq – Brasil , CCTA – UENF, rtbeltrame@yahoo.com.br

⁽²⁾ Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias - CCTA - UENF, Av. Alberto Lamago,
2000 - Campos dos Goytacazes – RJ- Brasil.CEP 28.013-600, crq@uenf.br

⁽³⁾ Embrapa Cerrados Rod. Brasília-Fortaleza BR 020 Km 18 Planaltina - DF - Brasil CEP
73301-970, barioni@cpac.embrapa.br

RESUMO: Arquivos da Associação Brasileira dos Criadores de Zebu foram utilizados para traçar um panorama da evolução das biotécnicas de produção de embriões *in vivo* e *in vitro* dos anos de 1997 a 2007 para a raça Nelore no Brasil. Registros de 109.775 coletas de embriões e de 73.121 aspirações foram disponibilizados para análise. Observou-se a supremacia da técnica de produção *in vivo* de embriões até o ano de 2004 com posterior crescimento da produção *in vitro*. As regiões Sudeste e Centro-Oeste se destacaram na execução de ambas as biotécnicas. Referente às médias de embriões viáveis produzidos pelas duas biotécnicas no decorrer dos anos nas regiões do país, estas se encontram próximas às relatadas pela literatura (entre cinco e sete embriões por coleta ou aspiração).

PALAVRAS-CHAVE: banco de dados, biotecnologia, embriões, histórico

ABSTRACT: Data from Brazilian Association of Zebu breeders were used to define a numeric behavior from conventional embryo production and *in vitro* technique between 1997 and 2007 in the Nelore breed in Brazil. Data from 109.775 conventional embryo recovery and 73.121 aspirations were used. The *in vivo* embryo production supremacy was observed until the year 2004 when a considerable increase in the aspirations number was showed. The south-east and mid-west regions were important in both biotechnologies development. Related to the mean number of viable embryo produced in both techniques during the years in the districts of the country, it is close to that related in the literature (between 5 and 7 embryos per collection or aspiration).

KEY-WORDS: biotechnology, data bank, embryo, historic

INTRODUÇÃO

Nos últimos 25 anos uma série de descobertas ocorridas em relação aos aspectos da fisiologia da reprodução em bovinos possibilitou o desenvolvimento de tecnologias capazes de aumentar a velocidade e a eficiência da disseminação do material genético de fêmeas zootecnicamente superiores (Christiansen, 1991), promovendo assim uma maior contribuição das mesmas para o melhoramento genético da espécie (Fortune et al., 1991; Ginther et al., 1997).

Neste período, o impacto econômico para a pecuária foi significativo em termos de evolução genética e produção de carne bovina. Novas biotecnologias surgiram e foram incorporadas, modificando um conceito único de múltipla ovulação e transferência de embriões (MOTE), antigamente restrito à produção de embriões por superovulação

convencional, ou *in vivo* (Viana & Camargo 2007). No mercado nacional a raça Nelore responde por mais de 70 % das atividades envolvendo biotecnologias.

Mais recentemente, a revolução observada pelo uso da técnica de produção de embriões em laboratório, conhecida como fertilização *in vitro*, somada ao desempenho da TE produzidos *in vivo* elevou o país à categoria de maior produtor mundial de embriões bovinos e à condição de exportador desta biotecnologia (Viana & Camargo, 2007).

Mesmo diante de toda evolução tecnológica, a eficiência dos índices produtivos e reprodutivos resultantes destas ferramentas em bovinos parece não ter sofrido modificações nos últimos anos (Beltrame 2006).

O objetivo deste trabalho foi estudar a evolução e o panorama da TE e PIVE na raça Nelore a partir de registros obtidos da Associação Brasileira de Criadores de Zebu (ABCZ) entre os anos de 1997 e 2007.

MATERIAIS E MÉTODOS

O presente trabalho tomou por base arquivos de dados concedidos pela ABCZ relativos a TE e PIVE em doadoras da raça Nelore.

Foi utilizada uma base de dados disponibilizada pela ABCZ com arquivos eletrônicos em formato “txt”, com dados de embriões PIVE e TE contendo na linha, o evento, e nas colunas a seguinte padronização: Código da Doadora; Código do Touro; UF da Fazenda; Data da Aspiração / Coleta; Data da Transferência; Embriões produzidos; Embriões Transferidos e Embriões Perdidos.

As informações foram organizadas em planilhas do Microsoft Excel 2003 e a partir deste ponto foram analisadas pela ferramenta SAS (1999). Registros de 109.775 coletas de embriões e 73.121 aspirações foram disponibilizados pela ABCZ. Destes registros foram utilizados para o estudo as TE realizadas entre os anos de 1997 a 2007 e as aspirações realizadas entre os anos de 2002 a 2007. Registros das cinco regiões do Brasil (Centro-Oeste, Norte, Nordeste, Sul e Sudeste) foram estudados.

Foram retiradas da análise as aspirações e TE onde o número de embriões obtidos e/ou perdidos informados eram superiores a 30 e os que apresentavam datas do procedimento inconsistentes e/ou inexistentes.

A aplicação da restrição resultou em um banco de dados de PIVE com 71.013 aspirações e 490.849 embriões. Para TE o banco foi composto por 108.327 coletas e 765.094 embriões.

Foi realizada a análise de variância do número de embriões viáveis para verificar os efeitos de ano e região e o teste SNK para verificar se existiam diferenças entre as médias do número de embriões (Proc GLM - SAS, 1999).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No final dos anos 90 a TE foi pioneira na disseminação de genética nos rebanhos zebuínos no Brasil. Durante o período de 1997 a 2007 foram comunicadas 108.327 coletas de embriões na raça Nelore no país. Ao final do ano de 1997 haviam sido comunicadas 640 coletas de embriões na raça Nelore no país. Posteriormente, instituições privadas, públicas e profissionais de biotecnologia da reprodução animal contribuíram para que em 2004 fosse verificado um crescimento vertiginoso desta biotecnologia, que foi de aproximadamente 4000% em relação às coletas de embriões realizadas no ano de 1997 (Figura 1). Pode-se observar que 26.271 coletas de embriões foram realizadas somente no ano de 2004.

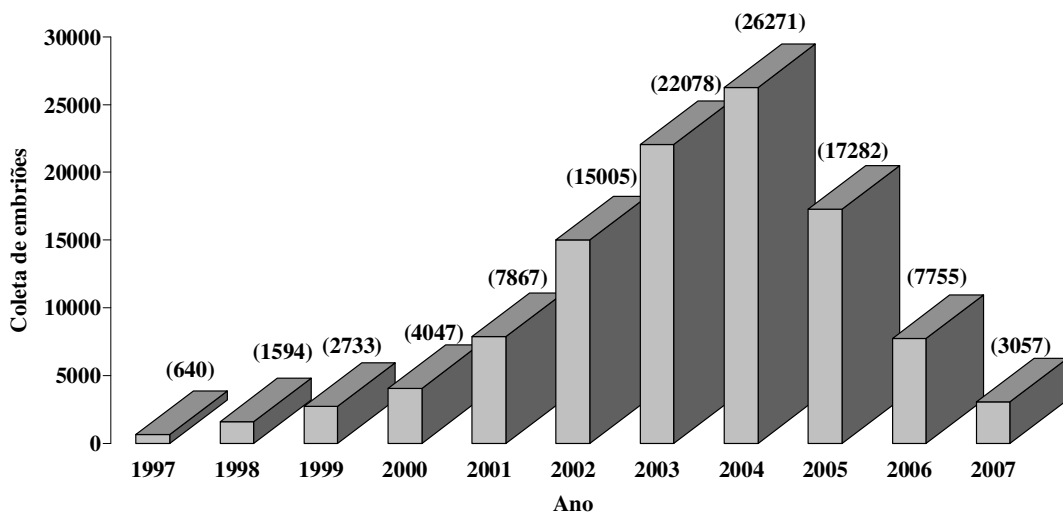


Figura 1 – Número de coletas de embriões (entre parêntesis) na raça Nelore comunicadas à Associação Brasileira de Criadores de Zebu (*Figure1 – Number of embryo recovery (in parenthesis) in Nelore breed reported to Brazilian Association of zebu breeders*)

Ao estudar a evolução destas biotecnologias nas diferentes regiões do Brasil, verificou-se que a disseminação de técnica de TE para produção de embriões *in vivo* concentrou-se nos estados do Sudeste e Centro- Oeste (Figura 2). Seja devido à localização, à maior concentração de profissionais, ou mesmo decorrente de massivo trabalho publicitário,

no ano de 2004 os Estados do Sudeste e Centro-Oeste foram os responsáveis por aproximadamente 77,8% de todos os embriões coletados *in vivo*.

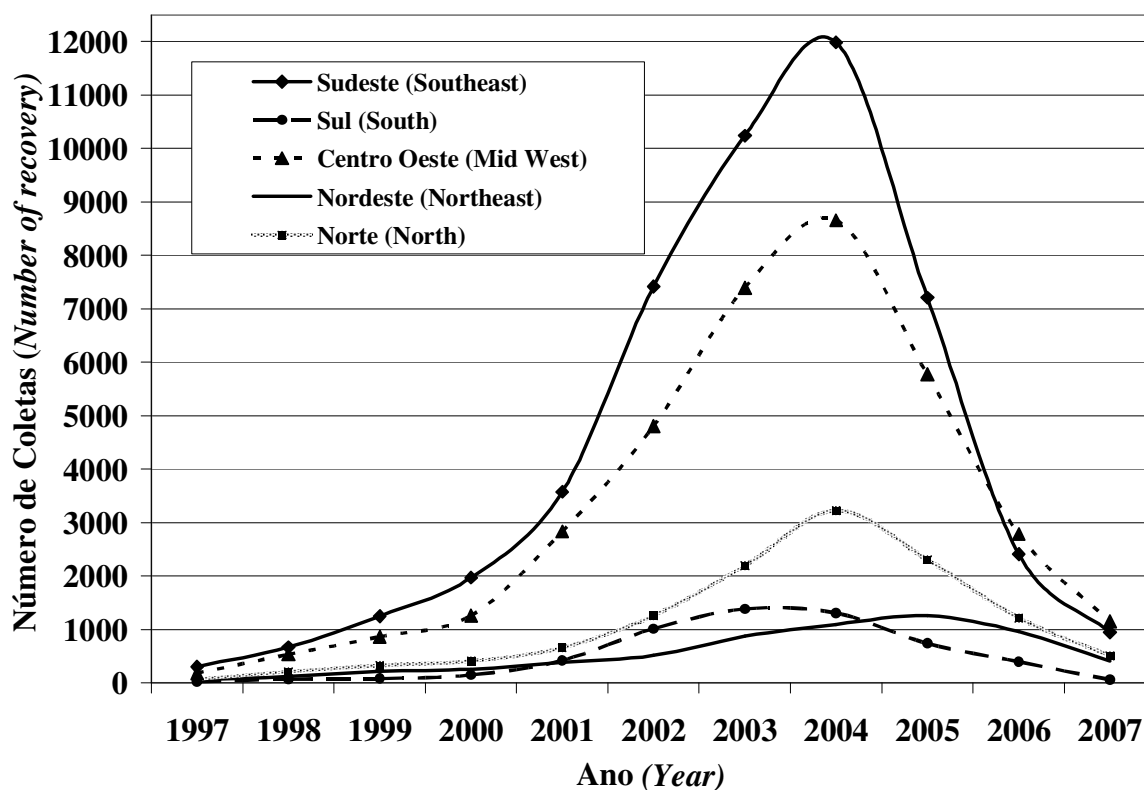


Figura 2 – Distribuição do número de produção *in vivo* de embriões em regiões do Brasil na raça Nelore (Figure 2 - Distribution of number of *in vivo* embryo production in regions of Brazil in Nelore breed)

O número total de embriões produzidos a partir da TE na raça Nelore merece destaque. De 1997 a 2007 aproximadamente 765.094 embriões viáveis foram obtidos. Os estados do Sudeste e Centro-Oeste se destacaram na produção, como pode ser observado na tabela 1.

Tabela 1 – Número total e médias de embriões Nelore obtidos por coleta nas diferentes regiões do Brasil de 1997 a 2007 através da produção *in vivo* de embriões. (Table 1 – Total number and mean of Nelore embryos from recoveries in different regions of Brazil from 1997 to 2007 through embryo transfer)

Regiões (Regions)	Sudeste (Southeast)	Sul (South)	C. Oeste (Mid West)	Nordeste (Northeast)	Norte (North)	Total (Total)
TEV	338.407	35.432	249.804	46.485	94.966	765094
Média Mean	7,05 ± 5,6 ^a	6,28 ± 5,1 ^b	6,90 ± 5,4 ^c	7,58 ± 5,6 ^d	7,6 ± 5,8 ^d	6,55

Médias seguidas de letras diferentes diferem significativamente ($p < 0,05$) Means in the same line with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

TEV- Total de embriões viáveis. (Total of viable embryo)

A média de embriões produzidos por região esteve entre 6,28 e 7,6. Produções similares são relatadas no trabalho de Reincheinbach (2003), onde uma estimativa mundial de seis embriões foi apresentada e em Baruselli et al., (2006), que avaliaram protocolos de superovulação, produção e qualidade embrionária para doadoras Nelore e obtiveram em média de 6,2.

Ao comparar-se as regiões, fatores que expliquem as variações dos resultados da produção embrionária são de difícil determinação. Diversos autores citam a genética, idade, temperatura, estresse, raça, condição corporal, habilidade do técnico, como fatores que potencialmente podem influenciar o resultado da técnica (Slennig et al., 1989; Galli et al. 2003; Nasser et al. 2004; Ferreira et al., 2006; Looney et al., 2006; Carvalho et al., 2008; Chebel et al., 2008; Jones & Lamb 2008).

Como o número de embriões viáveis recuperados e o alto desvio padrão encontrado apresentaram valores muito próximos, sugere-se que as variações nesta variável sejam naturais e inerentes ao processo biológico da TE (Beltrame et al., 2007; Barioni et al., 2007). Uma avaliação mais específica dentro de uma propriedade considerando a linhagem genética, época do ano e idade dos animais, dentre outros, poderia inferir o comportamento da produção de embriões para esta propriedade (Barioni et al., 2007; Beltrame et al., 2007).

Uma mudança no mercado da biotecnologia nacional, com retração no número de coletas de embriões realizadas no país fica evidente a partir do ano de 2004 (Figura 1). Embora neste período uma série de problemas econômicos e sanitários (focos de febre aftosa) tenha ocorrido, esta retração decorre principalmente do avanço da técnica de fertilização *in vitro* no país.

De 2002 em diante expandia-se a técnica de PIVE no país. Uma análise histórica da técnica de produção de embriões *in vitro* através dos anos na raça Nelore (Figura 3) mostra um vertiginoso crescimento a partir do ano de 2004. Subsidiados por uma maior velocidade de avanço de resultados e sob uma perspectiva de menores custos com a PIVE, muitos produtores passaram a optar por essa técnica em detrimento da produção *in vivo*. Aliado a isso, a facilidade no procedimento de recuperação dos oócitos, quando comparada a TE, também contribuiu para tornar a PIVE mais competitiva e mais executada (Viana & Camargo, 2007). Muitas empresas de produção *in vitro* de embriões foram criadas em pouco mais de quatro anos tendo somente em 2006 sido comunicadas 21.439 aspirações na raça Nelore. Já no ano de 2007 verificou-se uma diminuição do número de aspirações realizadas.

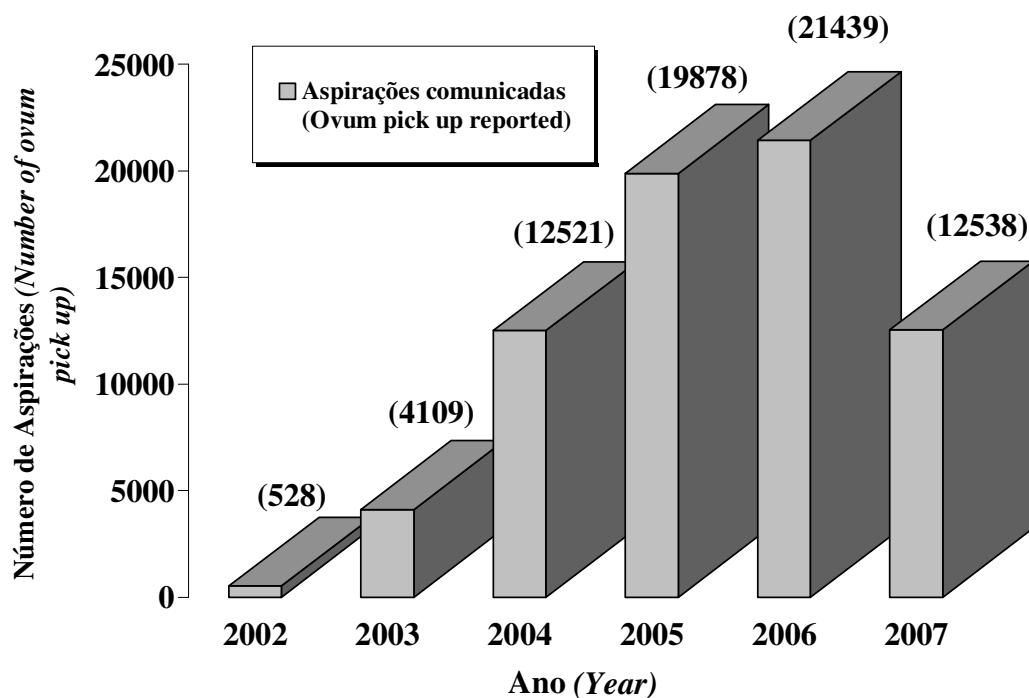


Figura 3 – Número de aspirações realizadas em doadoras da raça Nelore de 2002 a 2007 no Brasil. *Number of ovum pick up realized in Nelore donors from 2002 to 2007 in Brazil.*

A possibilidade de produção de um maior número de prenhez em um menor intervalo de tempo foi responsável, já no ano de 2005, pela contenção dos números de realização de TE em contraste à crescente aplicação da PIVE nos cenários dominados por leilões, exposições, marketing e especulações acerca do mercado de elite bovina.

Seguindo os passos da transferência de embriões convencional, os estados do Sudeste e Centro-Oeste se destacaram no número de comunicações de aspirações realizadas, como demonstrado na Figura 4.

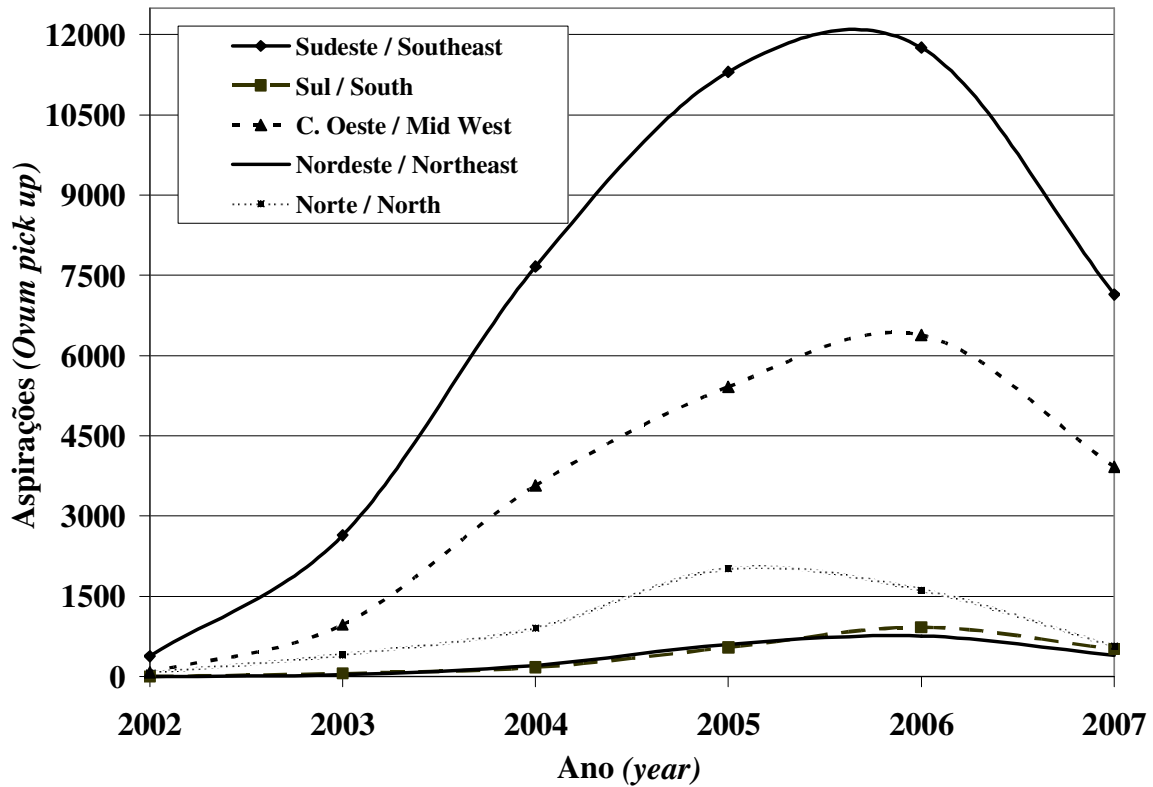


Figura 4- Número de aspirações realizadas nas regiões brasileiras de 2002 a 2007 na raça Nelore (Number of ovum pick up realized in Brazilian regions from 2002 to 2007 in Nelore breed)

O número de embriões produzidos em laboratório seguiu o mesmo caminho conforme pode ser observado na Tabela 2. É interessante destacar que a produção de embriões em laboratório nos estados do Sul, Nordeste e Norte apresentou médias inferiores aos estados do Sudeste e Centro-Oeste. Embora os valores não se distanciem muito daqueles da literatura consultada (Pontes et al., 2009), as diferenças apresentadas podem ser decorrentes de uma maior seleção dos animais nas regiões, melhor processo de produção pelas fazendas e pelos laboratórios ou ainda em menor grau, devido a um menor número de observações informados nesses estados.

Tabela 2 – Número total e médias de embriões obtidos nas diferentes regiões de 1997 a 2007 – pela técnica de produção *in vitro* de embriões na raça Nelore. *Total number and mean of embryos in different regions from 1997 to 2007 by in vitro embryo production in Nelore breed.*

Regiões (Regions)	Sudeste (Southeast)	Sul (South)	C. Oeste (Mid West)	Nordeste (Northeast)	Norte (North)	Total (Total)
TEV	301.503	12.789	133.542	10.613	32.402	490.849
Média	7,37 ± 6,13 ^a	5,79 ± 5,22 ^b	6,57 ± 5,72 ^c	5,29 ± 5,05 ^d	5,8 ± 5,65 ^b	6,9

Médias seguidas de letras diferentes diferem significativamente ($p < 0,05$) Means in the same line with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

TEV- Total de embriões viáveis (*Total of viable embryo*)

Ao comparar as tabelas 1 e 2 com relação ao número de embriões viáveis obtidos, não se observaram grandes discrepâncias entre as técnicas utilizadas. Embora muito se tenha evoluído nos últimos dez anos nas áreas da fisiologia e reprodução animal, poucas modificações ocorreram na média do número de embriões viáveis por doadora nas técnicas estudadas. Estes números normalmente se encontram entre 5 e 7 embriões produzidos por coleta e/ou por aspiração.

Números similares foram descritos por Reichenbach¹ (2003) com registros mundiais de seis embriões, Merton et al. (2003) comparando produção embrionária em vacas ($5,4 \pm 0,5$) e novilhas ($4,0 \pm 0,4$) e Visintin et al. (1999) com cinco embriões trabalhando com novilhas. Slenning et al. (1989), analisando 39 estudos publicados relataram média e desvio padrão 4.4 ± 2.8 . Já Baruselli et al. (2006) descrevem produções variáveis com máximo de $9,8 \pm 0,9$ na raça Nelore. Em comum, todos os autores afirmam que a variabilidade de respostas em termos de embriões viáveis existe mesmo diante de situações ideais e similares de trabalho.

A Figura 5 apresenta uma comparação entre a evolução das biotécnicas de TE e PIVE no Brasil. Percebe-se claramente o momento de desenvolvimento e crescimento das tecnologias e seus respectivos momentos de contração. Também uma preferência pela técnica de PIVE fica evidenciada a partir do ano de 2005, devido a uma maior velocidade de multiplicação da produção. No ano de 2007, observou-se uma retração ou redução no crescimento do número das PIVE realizadas, acompanhando a tendência já observada nos anos de 2005 e 2006 na técnica de TE. É importante destacar que os motivos dessa retração são diferentes entre as biotécnicas. No caso da TE sugere-se que a retração foi devida à

¹ Citado por Horst-Dieter Reichenbach (17ª SBTE Reunião da Sociedade Brasileira de Transferência de Embriões, Fortaleza, Brazil, 2003)

supremacia da técnica de PIVE, enquanto na biotécnica de PIVE a retração decorreu de alterações e dificuldades nos cenários agropecuários.

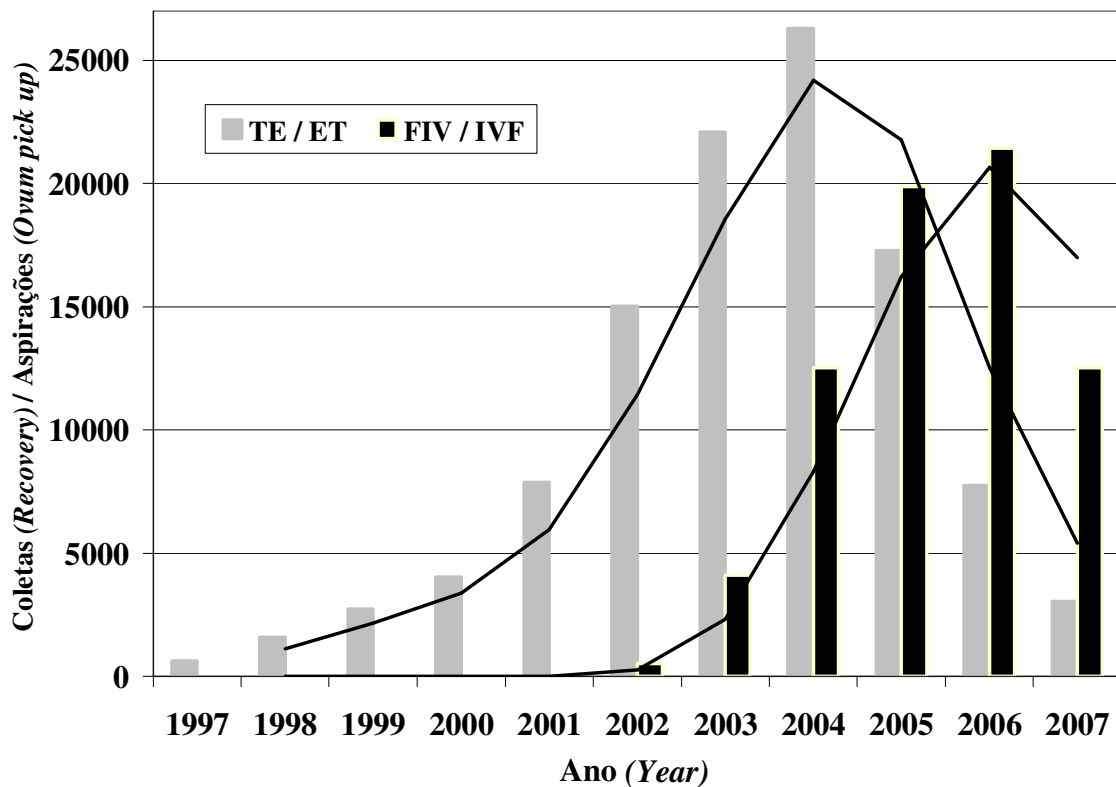


Figura 5 – Comparação entre produção *in vivo* e *in vitro* de embriões da raça Nelore de 1997 a 2007 no Brasil (*Comparison between in vivo and in vitro embryo production in Nelore breed from 1997 to 2007 in Brazil*)

Em contraste a outros países, onde existe uma limitação para a produção de embriões *in vitro*, restrito às doadoras que não respondam a superovulação tradicional, no Brasil os entraves à produção de embriões *in vitro* não são evidentes. A idéia de execução das técnicas *in vitro* e *in vivo* de forma conjunta, exibida por alguns trabalhos (Farin et al,1999; Pontes et al, 2009), não é representada numericamente em território nacional, já que ocorreu uma inversão numérica no total de coletas de embriões e aspirações no período analisado no país.

Outro fator a considerar foi que a modificação no mercado de trabalho associado à transferência de embriões acompanhou as mudanças decorrentes do avanço da PIVE. Nas diferentes regiões do país observou-se uma necessidade de terceirização dos procedimentos de

aspiração folicular e transferência propriamente dita, antes fornecidos somente pelos laboratórios. Visualizou-se, também, a migração de muitos profissionais exclusivos da TE que foram incorporados à rotina das diversas etapas da PIVE. A concentração de ações características da produção *in vivo* de embriões foi substituída pela associação de diversos profissionais em um mesmo processo, com maior grau de especialização e necessidade de maior controle em cada atividade.

Em 2008 e 2009, embora dados não tenham sido analisados, o cenário nacional mostrou sucessivos momentos de crise na agropecuária. Estas situações podem ser sugestivas de estagnação ou mesmo decréscimo na utilização da TE e da PIVE.

CONCLUSÃO

1. Ocorreu uma transformação na escolha pela biotécnica utilizada no cenário nacional entre os anos de 1997 e 2007.
2. A média do número de embriões viáveis por coleta ou aspiração manteve-se entre 5 e 7 para TE e PIVE no período estudado.
3. As regiões Sudeste e Centro-Oeste se destacaram na execução de ambas as biotécnicas.

AGRADECIMENTOS:

À ABCZ em nome do Sr. Carlos Henrique Cavalari, pela concessão dos dados deste trabalho e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de estudo de Renato Travassos Beltrame.

REFERÊNCIAS:

BARIONI, L.G.; BELTRAME, R.T.; QUIRINO, C.R.; FERNANDES, D.R. Modelos determinista e estocástico em programas de transferência de embriões em bovinos. **Archivos Latinoamericanos de Producción Animal**, v.15, p.107-113, 2007.

BARUSELLI, P.S.; SA FILHO, M.F.; MARTINS, C.M.; NASSER, L.F.; NOGUEIRA, M.F.G.; BARROS, C.M.; BÓ, G. Superovulation and embryo transfer in *Bos indicus* cattle. **Theriogenology**, v.65(1), p. 77-88, 2006.

BELTRAME, R.T. **Simulação bioeconômica da transferência de embriões em bovinos da raça Nelore**. 2006. 86p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF), Campos dos goytacazes.

BELTRAME, R.T.; BARIONI, L.G.; MAESTRI, B.D.; QUIRINO, C.R. Economic optimization of the number of recipients in bovine embryo transfer programs. **Scientia Agricola**, v. 64, p. 221-226, 2007.

BELTRAME, R.T.; BARIONI, L.G.; QUIRINO, C.R.; DANTAS, O.D. Probability density function of the number of Embryos collected from superovulated Nelore breed donors. **Scientia Agricola**, v. 66, n.4, p. 447-450, 2009.

CARVALHO, J. B. P.; CARVALHO, N. A. T.; REIS, E. L.; NICHI, M.; SOUZA, A. H.; BARUSELLI, P. S. Effect of early luteolysis in progesterone-based timed AI protocols in *Bos indicus*, *Bos indicus* × *Bos taurus*, and *Bos taurus* heifers. **Theriogenology**, v. 69(2), p. 167-175, 2008.

CHEBEL, R.C.; DEMETRIO, D.G.B.; METZGER, J. Factors affecting success of embryo collection and transfer in large dairy herds. **Theriogenology**, v.69, p.98–106, 2008.

CHRISTIANSEN, L.G. Use of embryo transfer in future cattle breeding schemes. **Theriogenology**, v.35(1), p.141-149, 1991.

FARIN, P.W.; SLENNING, B.D.; BRITT, J.H. Estimates of pregnancy outcomes based on selection of bovine embryos produced *in vivo* or *in vitro*. **Theriogenology**, v.52, p.659-670, 1999.

FERREIRA, R.M.; RODRIGUES, C.A.; AYRES, H.; MANCILHA, R.F.; FRANCESCHINI, P.H.; ESPER, C.R.; BARUSELLI, P.S. Effect of synchronizing ovulation in cattle administered a norgestomet ear implant in association with eCG and estradiol treatments on pregnancy rate after fixed-time embryo transfer. **Animal Reproduction Science**, v.3(3), p. 370-375, 2006.

FORTUNE, J.E.; SIROIS, J.; TURZILLO, A.M.; LAVOIR, M. Follicle selection in domestic ruminants. **Journal of Reproduction Fertility**. v.43, p.187-198, 1991.

GALLI, C.; DUCHI, R.; CROTTI, G.; TURINI, P. Bovine embryo technologies. **Theriogenology**, v.59, p.599-616, 2003.

GINTHER, O.J.; KOT, K.; KULIC, L.J.; WILTBANK, M.C. Emergence and deviation of follicles during the development of follicular waves in cattle. **Theriogenology**. v.48, p 75-87, 1997.

JONES, A.L.; LAMB, G.C. Nutrition, synchronization, and management of beef embryo transfer recipients. **Theriogenology**, v.69, p.107-115, 2008.

LOONEY, C. R.; NELSON, J. S.; SCHNEIDER, H. J.; FORREST, D. W. Improving fertility in beef cow recipients. **Theriogenology**, v.65(1), p. 201-209, 2006.

MERTON, J. S.; ROOS, A. P. W.; MULLAART, E.; RUIGH, L.; KAAL, L.; VOS, P. L. A. M.; DIELEMAN, S. J. Factors affecting oocyte quality and quantity in commercial application of embryo technologies in the cattle breeding industry. **Theriogenology**, v.59(2), p. 651-674, 2003.

NASSER, L.F.; REIS, E.L.; OLIVEIRA, M A.; BÓ, G.A.; BARUSELLI P.S. Comparison of four synchronization protocols for fixed-time bovine embryo transfer in *Bos indicus* _ *Bos taurus* recipients. **Theriogenology**, v. 62, p.1577-1584, 2004.

PONTES, J. H. F.; NONATO-JUNIOR, I.; SANCHES, B. V.; ERENO-JUNIOR, J. C.; UVO, S.; BARREIROS, T. R. R.; OLIVEIRA, J. A.; HASLER, J. F.; SENEDA, M. M. Comparison of embryo yield and pregnancy rate between *in vivo* and *in vitro* methods in the same Nelore (*Bos indicus*) donor cows. **Theriogenology**, v.71(4), p. 690-697, 2009.

REICHENBACH, H.D, Avanços na superovulação, transferência, sexagem e criopreservação de embriões bovinos. Pré congresso da **XVII Reunião Anual da SBTE**, Ceará 2003.

SLENNING, B. D.; WHEELER, M.B. Risk evaluation for bovine embryo transfer services using computer simulation and economic decision theory. **Theriogenology**. v. 31(3), p.653-673, 1989.

VIANA J.H.M. & CAMARGO L.S.A. A produção de embriões bovinos no Brasil: Uma nova realidade. **Acta Scientiae Veterinariae**. v.35(Supl. 3), p. s915-s924. 2007.

VISINTIN, J.A.; ARRUDA, R.P.D.; MADUREIRA, E.H.; MIZUTA, K.; CELEGHINI, E.C.C.; ASSUMPÇÃO, M.E.OD.; GUSMÕES, P.P.G.; CANDINI, P.H. Superovulação de novilhas da raça Nelore com diferentes doses de FSH/LH e congelamento de embriões pelo método one-step com etilenoglicol. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.36(5), 1999.

Análise da produção de embriões *in vitro* e *in vivo* para doadoras da raça Nelore

Renato Travassos Beltrame ⁽¹⁾; Celia Raquel Quirino ⁽²⁾; Luis Gustavo Barioni ⁽³⁾; Ângelo José Burla Dias ⁽²⁾; Paulo Marcelo de Souza ⁽²⁾

⁽¹⁾ Bolsista do CNPq – Brasil, CCTA – UENF, rtbeltrame@terra.com.br

⁽²⁾ Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias - CCTA - UENF, Av. Alberto Lamego, 2000 - Campos dos Goytacazes – RJ- Brasil.CEP 28.013-600, crq@uenf.br

⁽³⁾Embrapa Cerrados Rod. Brasília-Fortaleza BR 020 Km 18 Planaltina - DF - Brasil CEP 73301-970, barioni@cpac.embrapa.br

Resumo - Uma função de densidade probabilidade para o número de embriões viáveis produzidos *in vitro* em doadoras da raça Nelore foi ajustada a partir de dados fornecidos pela Associação Brasileira de Criadores de Zebu (ABCZ). Os resultados partiram da análise referente a 20.619 doadoras, 71.602 aspirações e um total de 509.643 embriões. A densidade probabilidade do número de embriões viáveis foi modelada utilizando a função exponencial. A determinação dos parâmetros foi executada utilizando a máxima verossimilhança em um método de gradiente não linear. O nível de precisão obtido foi de RMSE = 0,040 e $R^2 = 0,98$ para a representação da probabilidade do número de embriões viáveis produzidos por doadoras Nelore na técnica *in vitro*. A comparação destes resultados com a curva de densidade probabilidade da recuperação embrionária determinada em Beltrame 2006, foi realizada pela técnica de comparação de curvas pelo teste F segundo o descrito por Silva & Azevedo (2002). Não foram encontradas diferenças entre as curvas do número de embriões viáveis obtidos após coleta e produzidos após aspiração de doadoras na raça Nelore. Ainda sugere-se a existência de um fator limitante que afete biologicamente a produção de embriões nas técnicas *in vivo* e *in vitro*.

Palavras-chave: doadoras, densidade probabilidade, simulação, banco de dados

Abstract - A probability density function for the number of viable embryos produced after a *in vitro* fertilization program in Nelore donors was adjusted through data provided by the Brazilian Association of Zebu Breeders. Results were based on 20.619 donors, 71.602 aspirations and the total of 509.643 embryos. The probability density function of the number of viable embryos was modeled using exponential distribution. Parameters fitting were carried out for the maximum likelihood using a non-linear gradient method. The precision level was

RMSE = 0.040 and $R^2 = 0.98$ for the representation of probability of number of viable embryos at *in vitro* fertilization technique. To analyze probability density of embryo recovery (Beltrame, 2006) with *in vitro* fertilization adjust was used the curve comparison test through F test (Silva and Azevedo, 2002). There were no differences between the curves. These results suggest that there may be a unique and restrict factor that affects biologically the embryo production on the embryo transfer and *in vitro* fertilization techniques.

Key-words: Donors, probability density, simulation, data bank,

Introdução

Na bovinocultura nacional, diversos avanços têm sido demonstrados na produção *in vitro* de embriões (PIVE), na produção *in vivo* de embriões (TE) e na sexagem de espermatozoides. Entretanto, a incerteza dos resultados é permanente, o que gera imprecisões nas respostas simuladas quando comparadas aos resultados observados. Estas distinções têm sido minimizadas quando metodologias corretas de simulação são implementadas (Beltrame, 2006; Beltrame, 2007; Barioni, 2007). Durante o processo de PIVE de uma doadora qualquer é impossível prever com exatidão o número de oócitos que serão aspirados, assim como o número de embriões viáveis que serão produzidos. Inúmeras decisões pertinentes a PIVE e a TE são dependentes desta informação (número de receptoras a sincronizar, custo, número de embriões a congelar, material utilizado, tempo). Mesmo assim, em algumas biotécnicas da reprodução animal, é necessário fazer previsões a respeito do valor futuro de certas variáveis, tomando por base dados históricos (Beltrame et al., 2007). Fica evidente, portanto, a necessidade de um estudo mais apurado do comportamento de uma série de variáveis aleatórias, objetivando determinar seu comportamento em cenários simulados e não sua utilização como variáveis deterministas.

Uma vez definida uma variável aleatória, existe interesse no cálculo dos valores das probabilidades associadas a esta variável. Ao conjunto das variáveis e das probabilidades correspondentes denomina-se distribuição de probabilidades, isto é: $\{(x_i, p(x_i), i=1,2,\dots,n)\}$. Neste caso, a função de densidade de probabilidade é a função que associa a cada valor assumido pela variável aleatória a probabilidade do evento correspondente, tal como: $P(X=x_i) = P(A_i), i=1,2,\dots,n$ (Freitas Filho., 2001; Levine et al., 2005).

A simulação de sistemas requer o uso de seqüências de valores de determinadas variáveis aleatórias. Podem-se considerar três modos de obter estas seqüências: o uso de

seqüências provenientes de observações efetuadas previamente; seqüências geradas aleatoriamente a partir de distribuições empíricas construídas com observações efetuadas previamente; seqüências geradas aleatoriamente a partir de distribuições clássicas, cujos parâmetros foram estimados de acordo com observações efetuadas previamente (Perin filho, 1995).

No primeiro caso, exige-se um processo demorado, que requer bastante memória e que, portanto, é inadequado para a aplicação em simulação de sistemas. As outras duas alternativas são dependentes de um gerador de números aleatórios, que permite obter valores de variáveis aleatórias com as distribuições desejadas.

A determinação da curva de densidade probabilidade da variável número de embriões viáveis, objetiva sua projeção de forma realista em estudos de simulação. Assim, estimativas do número de prenhez, número de receptoras e doadoras a se utilizar, custo da técnica, elaboração de projetos e cálculos de viabilidade financeira podem ser realizados com maior precisão minimizando risco (Beltrame, 2006).

Neste contexto, o objetivo deste trabalho é determinar a curva de densidade probabilidade do número de embriões viáveis produzidos por PIVE para doadoras da raça Nelore, efetuando sua comparação com a curva de densidade probabilidade da TE determinada por Beltrame em 2006.

Materiais e Métodos

O presente trabalho tomou por base dados concedidos pela Associação Brasileira de Criadores de Zebu (ABCZ) relativo à PIVE na raça Nelore. Ainda, a frequência do número de embriões viáveis obtidos após TE e descrita por Beltrame em 2006 foi utilizada neste trabalho.

Por intermédio da ABCZ uma base de dados compondo arquivos eletrônicos em formato “txt”, contendo dados de embriões PIVE foi recebida contendo na linha, o evento, e nas colunas a seguinte padronização: código da doadora; código do touro; UF da fazenda; data da aspiração; data da transferência; embriões produzidos; embriões transferidos; embriões perdidos.

As informações relativas à PIVE foram organizadas em planilhas do Microsoft Excel 2003 e a partir deste ponto, analisadas pela ferramenta SAS for Windows 1999. Dados de 73.121 aspirações foram disponibilizados.

Uma vez na ferramenta SAS, eliminaram-se da análise todos os dados incoerentes ou de valores nulo. Consideraram-se apenas as aspirações realizadas entre os anos de 2000 a 2007.

Foram retiradas da análise as aspirações onde o número de embriões obtidos e/ou perdidos foram superiores a 35, apresentaram datas inconsistentes e valores em branco.

A aplicação da restrição resultou na eliminação de 1519 aspirações. A análise partiu então de dados referentes a 20.619 doadoras, 71.602 aspirações e 509.643 embriões.

A seleção dos dados relevantes foi realizada pela função ‘proc freq’ do SAS for Windows 1999. No caso específico, esta função retornou o somatório do número observado de aspirações, para cada valor de número de embriões viáveis gerados. O número total de aspirações que obtiveram embrião viável nulo, até o somatório de aspirações que obtiveram 35 embriões viáveis, número máximo de embriões viáveis por doadora restringido no banco, foi gerado a partir deste “comando”.

Uma comparação gráfica e análise numérica baseada na frequência observada e estimada a partir do modelo de distribuição (ou distribuições) selecionado foi realizada. Definiu-se por estimar a frequência nula como sendo similar à frequência de obtenção de um embrião viável e a partir daí realizar seu ajuste.

O comportamento gráfico dos dados observados torna-se fundamental para um diagnóstico preliminar da escolha de uma distribuição conforme é demonstrado na Figura 1.

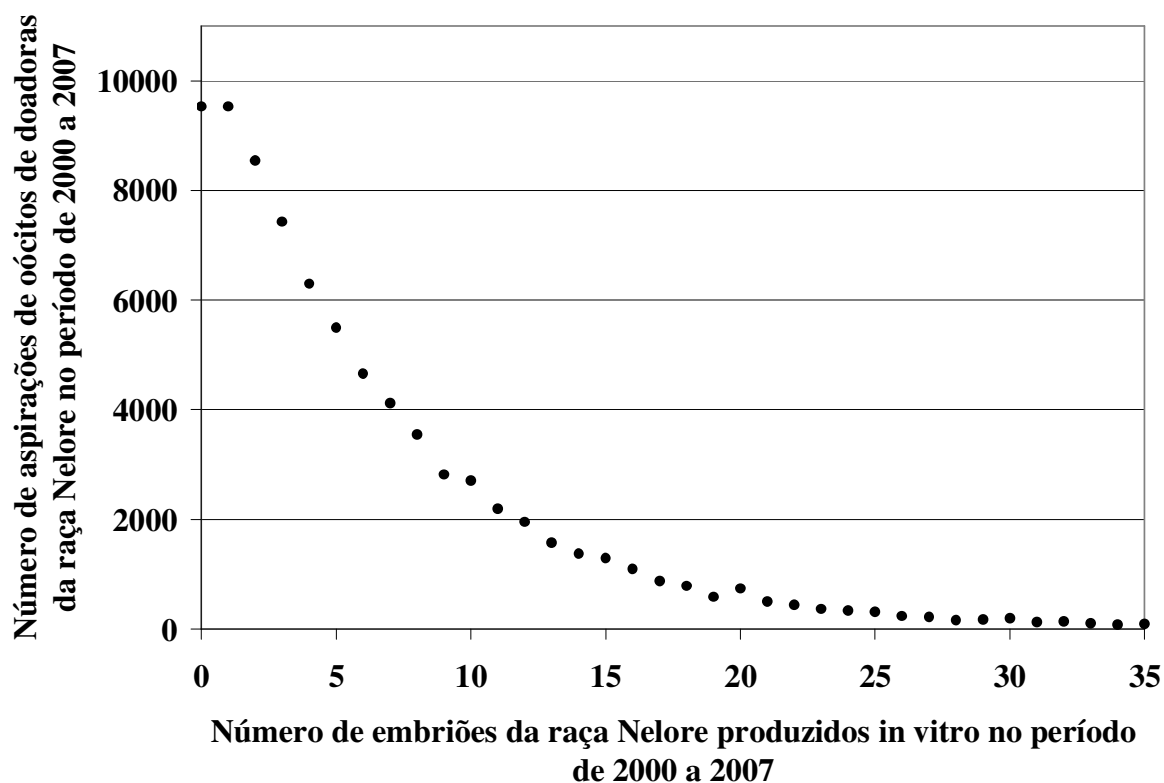


Figura 1 – Frequência observada da produção embrionária em relação ao número de aspirações realizadas para técnica de produção *in vitro* na raça Nelore no período de 2000 a 2007.

A disposição gráfica das diversas distribuições existentes, e o comportamento dos dados observados sugerem uma aproximação à distribuição exponencial negativa [$EX(\lambda)$] (Benjamin & Cornell, 1970). Sendo assim, uma metodologia numérica foi utilizada, no intuito de identificar o melhor valor dos parâmetros e comparar o ajuste destes modelos em relação aos dados observados.

A estimação dos parâmetros da distribuição e seu ajuste, para representar com eficiência a variância e minimizar o erro total, foram realizados através do método da “máxima verossimilhança” e de seu estimador (Kostina, 2004). O método GRG2 como instrumento de otimização foi aplicado usando Microsoft Excel 2003[®] Solver.

Os procedimentos de ajuste descritos foram resumidos e podem ser observados na Tabela 1, para o uso de uma distribuição exponencial [$EX(\lambda)$].

Tabela 1 – Procedimentos de ajuste da distribuição exponencial negativa do número de embriões viáveis na técnica de produção *in vitro* na raça Nelore.

Nº. embriões (1)	Freq. Obs. (2)	Freq. Estimada. (3)	Erro pred. (4)
0	0,118	$F(x) = 1 - e^{-\lambda x}, x > 0$	(3)-(2)
1	0,118	$F(x) = 1 - e^{-\lambda x}, x > 0$	(3)-(2)
2	0,105	$F(x) = 1 - e^{-\lambda x}, x > 0$	(3)-(2)
...	$\sum erro$

(1) Nº. de embriões viáveis por aspiração; (2) Freqüência observada dos dados coletados; (3) Freqüência estimada a partir da distribuição de probabilidade; (4) Erro de predição;

Estatisticamente, após a parametrização do modelo, procedeu-se o teste F e calculou-se o coeficiente de determinação. Assim, foi determinado o quanto da variância obtida na parametrização era explicada pelo modelo e a significância dos dados obtidos pela nova distribuição.

Como critérios de escolha da melhor função de distribuição que se ajusta aos dados observados foram avaliados em fator de importância respectivamente: a) soma do quadrado do erro (SQerro); b) erro de predição

$$\sum EP = \frac{Freq.Observada - Freq.estimada}{Freq.Observada} \times 100$$

Comparação dos modelos

Em Beltrame (2006) o banco de dados de TE obtido foi ajustado por meio de um aplicativo de gerenciamento de banco de dados. Neste trabalho, optou-se por um software livre modelado por meio da ferramenta IAdmin 4.0, onde foram analisadas 26.767 doadoras, 61.928 coletas e 451.322 embriões.

Partindo do descrito acima, em Beltrame (2006), o ajuste da TE foi realizado pela distribuição exponencial negativa. Assim, de posse de um mesmo modelo e dois (ou mais) conjuntos de dados (TE e PIVE), objetivou-se saber se estes conjuntos de dados se comportariam da mesma forma.

Assim, para comparar a significância estatística das diferenças entre os modelos (curvas de probabilidade de TE ajustada por Beltrame, em 2006 e de PIVE neste trabalho),

aplicou-se uma nova análise estatística. Utilizou-se a técnica de comparação de curvas com o teste F. Representou-se o teste de verossimilhança pela seguinte equação (Silva & Azevedo, 2002):

$$F = \frac{[SQR_{(comb)} - (SQR_{TE} + SQR_{FIV})]/1}{(SQR_{TE} + SQR_{FIV})/35}$$

Onde F é o valor da distribuição F correspondente à razão da diferença entre a soma dos quadrados residuais da curva combinada ; SQR_{TE} é a soma dos quadrados residuais da curva de probabilidade de TE; SQR_{FIV} é a soma dos quadrados residuais da curva de probabilidade de PIVE; $SQR_{(comb)}$ é a soma dos quadrados residuais da curva de probabilidade resultante do ajuste com os dados proveniente da curva de TE e PIVE combinadas. Os divisores 1 e 35 representam os respectivos graus de liberdade do numerador e denominador, utilizados no cálculo da razão entre os quadrados médios residuais de cada par de curvas comparadas. O nível crítico de probabilidade estabelecido para julgar a significância das diferenças foi de 5%, o qual nesse caso, correspondeu ao valor de $F = 4,13$ para 1 e 34 graus de liberdade no numerador e denominador, respectivamente.

Resultados e Discussão

A frequência observada corresponde à demonstração do evento específico no passado. Os dados obtidos representam o somatório do número de coletas com embriões viáveis variando de 0 a 35. Tais informações possibilitaram a determinação da curva de densidade probabilidade. A Tabela 2 apresenta estes dados.

Tabela 2 – Frequência observada e acumulada do número de embriões viáveis produzidos *in vitro* para doadoras da raça Nelore de 2000 a 2007.

Emb. Viáveis	Total de aspirações	Freq. obs (%)	Freq. Acum (%)
0	448	0,63	0,63
1	9531	13,31	13,9
2	8542	11,93	25,9
3	7431	10,38	36,3
4	6300	8,8	45,1
5	5494	7,67	52,7
6	4660	6,51	59,2
7	4125	5,76	65,0
8	3548	4,96	70,0
9	2820	3,94	73,9
10	2704	3,78	77,7
11	2194	3,06	80,7
12	1955	2,73	83,5
13	1573	2,2	85,7
14	1376	1,92	87,6
15	1292	1,8	89,4
16	1098	1,53	90,9
17	878	1,23	92,1
18	789	1,1	93,2
19	589	0,82	94,1
20	742	1,04	95,1
21	507	0,71	95,8
22	438	0,61	96,4
23	369	0,52	96,9
24	338	0,47	97,4
25	314	0,44	97,9
26	241	0,34	98,2
27	220	0,31	98,5
28	161	0,22	98,7
29	176	0,25	99,0

30	200	0,28	99,3
31	124	0,17	99,4
32	136	0,19	99,6
33	108	0,15	99,8
34	81	0,11	99,9
> 35	100	0,14	100,0

Como observado na tabela 2 a frequência de embriões nulos apresenta-se como um dado atípico na tabela ($f(0)= 0,63$). Embora passível de ocorrência, sugere-se que tal dado seja proveniente da falha de comunicação por veterinários e fazendeiros das aspirações que apresentam número de embriões viáveis nulos, apresentando portanto frequência extremamente baixa.

No processo de análise dos dados coletados para uso em um simulador em análises estocásticas, uma das principais ações é a identificação de uma distribuição teórica de probabilidades que represente, da melhor maneira possível, o comportamento da variável (Freitas Filho, 2001).

Para PIVE, a média de embriões viáveis por aspiração, revelados pela frequência observada foi de $6,43 \pm 5,5$. A obtenção desta média teve como pressuposto que o número de aspirações que resultaram em zero e um embrião foi similar. O parâmetro de ajuste do modelo para PIVE foi $k= 0,148$ para a distribuição exponencial negativa. Considerou-se o ajuste altamente significativo ($P<0,0001$; tabela 3 e figura 2).

O coeficiente de determinação também pode ser considerado alto ($R^2 = 0,98$), indicando que a distribuição explica a maior parte da variância nos dados observados. O erro padrão da regressão foi de 0,040.

Tabela 3 – Caracteres da análise de variância para a distribuição exponencial ajustada do número de embriões produzidos *in vitro* viáveis por aspiração de folículos de doadoras da raça Nelore

FV	GL	SQ	QM	F	P<
Regressão	1	0,04023	0,0402	2510,9	0.0001**
Erro	34	0,00062	0,000016	-	-
Total	35	0,04085	-	-	-
R ²	0,98471		-	-	-

FV=Fonte de variação; GL= Grau de liberdade; SQ= Soma do quadrado do erro; QM= Quadrado médio; F= Teste de Significância; ** = probabilidade P<0,0001.

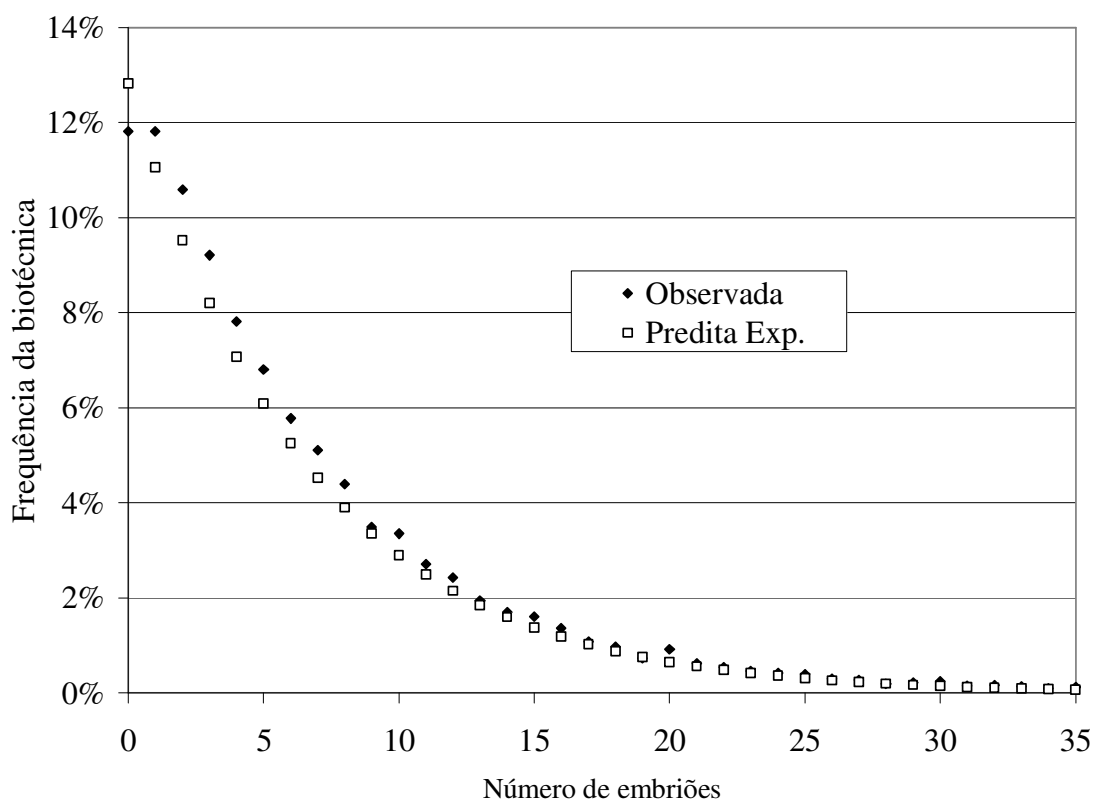


Figura 2 – Comparação entre a frequência observada e a frequência estimada do número de embriões produzidos *in vitro* viáveis por aspiração de folículos de doadoras Nelore obtida pela distribuição exponencial.

Tenta-se prever a eficiência dos programas de PIVE por medida em relação ao número de blastocistos obtidos a partir do número de ovócitos postos em maturação e

fertilizados com um sêmen determinado (Fuentes, 2006). Entretanto o comportamento destas variáveis não é conhecido na técnica de PIVE.

A média de embriões viáveis obtidos por aspiração neste trabalho encontra-se próxima ao relatado na literatura. Nonato JR et al. (2006), compararam quatro protocolos de OPU em vacas Nelore. O número de embriões produzidos variou de $6,1 \pm 1,0$ a $12,0 \pm 2,6$, este último com utilização de progestágeno.

O grupo de Machado et al. (2006), intencionando estudar a variabilidade na produção *in vitro* de embriões bovinos, analisou a hipótese de que uma menor variabilidade ocorreria entre gêmeos idênticos do que quando indivíduos não relacionados eram trabalhados. Diferença foi encontrada no número de blastocistos produzidos entre os grupos comparados.

Chaubal et al. (2007) comparam tratamentos hormonais na tentativa de promover estimulação ovárica e aumentar a produção de embriões na técnica de PIVE. Embora um número menor de embriões tenha sido produzido diante dos tratamentos utilizados a variabilidade na produção de embriões persistiu.

Fica clara a importância do conhecimento do comportamento da variável e suas projeções dentro de sistemas de simulação. Na figura 2, demonstra-se que existe um comportamento característico da variável analisada independente do sistema em estudo. Este comportamento é decrescente e proporcional ao aumento no número de embriões produzidos sendo ajustável a situações específicas. Ainda, os resultados deste trabalho indicam que o número de embriões viáveis produzidos por aspiração de doadoras da raça Nelore pode ser estimado através da distribuição exponencial.

Comparação de modelos

A figura 3 e os resultados obtidos decorrentes da avaliação de comparação dos modelos indicam a não significância da hipótese testada, ou seja, não existe diferença ($P > 0,05$) entre as curvas de TE e PIVE analisadas. A demonstração estatística do resultado pode ser observada na tabela 4.

Tabela 4 – Caracteres da análise de variância para modelos combinados do número de embriões viáveis produzidos após coleta e aspiração de doadoras da raça Nelore

FV	GL	SQ	QM	F	P>
Regressão	1	0,0853	0,0853	0,81	0,05 ^{ns}
Erro	34	0,0024	0,0000715	-	-
Total	35	0,0877	-	-	-
R²	0,9723		-	-	-

FV=Fonte de variação; GL= Grau de liberdade; SQ= Soma do quadrado do erro; QM= Quadrado médio; F= Teste de Significância; ns = probabilidade P>0,05 – não significativo

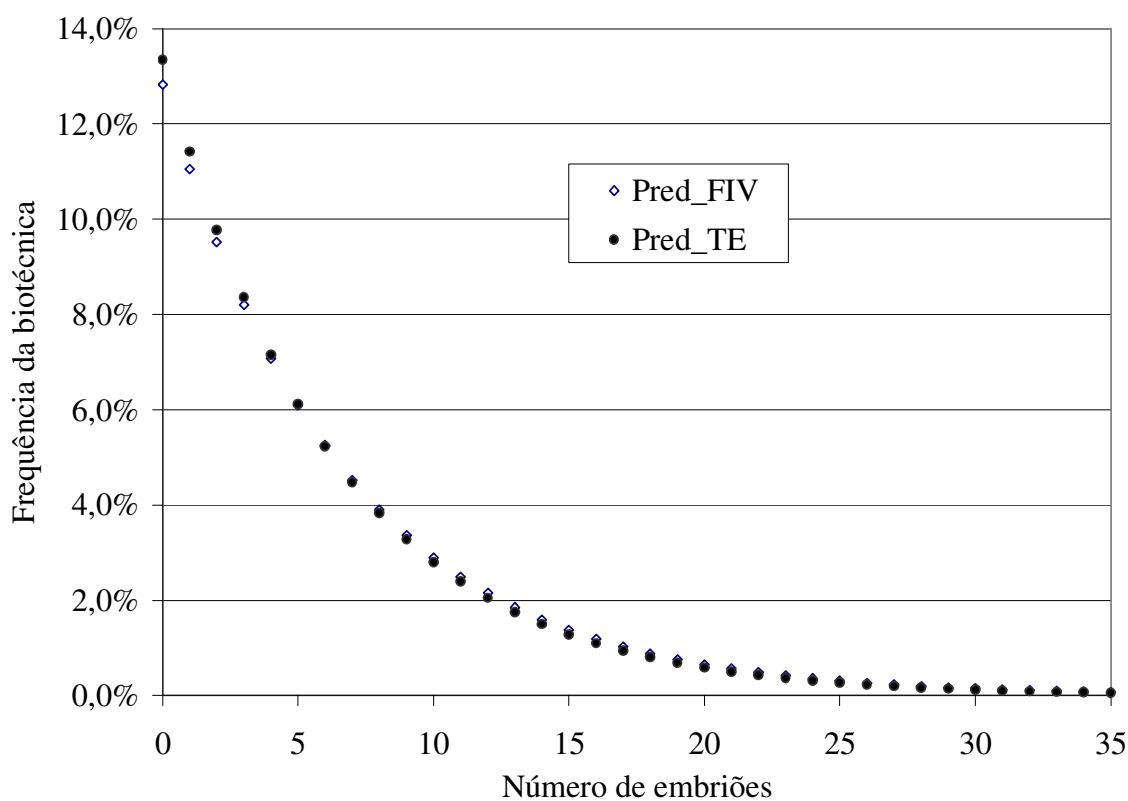


Figura 3- Frequência predita na distribuição exponencial do número de embriões viáveis produzidos após produção *in vivo* e *in vitro* da raça Nelore.

É importante destacar que estudo como este é incipiente na esfera da reprodução animal. Embora matematicamente se chegue a um resultado pontual, a explicação biológica de similaridade de curvas engloba uma série de suposições.

Pelos resultados apresentados, inicialmente, supõe-se que exista um processo em comum que limita o número de embriões viáveis nas duas técnicas. Esta idéia pode ser consequência de fatores que influenciam a dinâmica folicular na resposta ovulatória de

doadoras, fatores que afetam a fertilização e a viabilidade embrionária, e ainda fatores relacionados ao programa de manejo animal, como descrevem Peixoto et al. (2002).

Tendo-se a dinâmica folicular como fator limitante na produção de embriões, a elaboração de modelos matemáticos que retratassem a evolução do crescimento folicular de forma individual, excluindo-se o comportamento da população, poderia ser útil para estimar de forma mais precisa o número de embriões viáveis obtidos por coleta. Entretanto, estudos visando tal modelagem são complexos e ainda não foram descritos na medicina veterinária.

Em relação à similaridade das curvas, um dos pontos que se cogita é que diante da projeção do número de embriões viáveis na TE ou na PIVE, o número de embriões gerados pelo processo aleatório possuirá a mesma capacidade de evolução. Neste caso, a dinâmica temporal deve ser alterada. A aceleração do melhoramento genético animal fica evidenciada pelo tempo (repetição) e não pela técnica utilizada. Em situações similares onde o efeito genético e ambiental não for considerado, a produção embrionária projetada em um modelo de simulação, pode ser a mesma.

Ainda com relação à comparação PIVE e TE, os resultados permitem identificar as biotécnicas como auxiliares e não como concorrentes. Neste caso, ineficiências de uma biotécnica podem ser cobertas pelos benefícios da outra. Animais que não respondem a TE podem ser utilizados na PIVE. Da mesma forma animais com consecutivas TE's podem ser inseminados e ao início da gestação serem submetidos à PIVE. Desta forma, uma maior velocidade de seleção pode ser obtida. Destaca-se que outros bancos de dados devem ser testados no intuito de confirmar os resultados obtidos neste estudo.

Ressalta-se que uma maior atenção deve ser destinada aos índices das biotécnicas. Embora não tenham sido demonstradas diferenças nas curvas de produção de embriões entre TE e PIVE, algumas variáveis como taxas de gestação, utilização de doadoras consecutivamente e possibilidade de congelamento de embriões podem ser decisivas na escolha por uma das biotécnicas de forma específica.

Conclusões

Os resultados expostos permitem concluir que:

- 1) A distribuição de densidade de probabilidade exponencial se mostra adequada ao ajuste à frequência observada para a finalidade proposta (uso em simulação) na biotécnica de PIVE.
- 2) Existe grande proximidade de comportamento do número de embriões viáveis obtidos após coleta e aspiração entre as curvas de TE e PIVE testadas.

Agradecimentos

A Associação Brasileira dos Criadores de Zebu (Sr. Carlos Henrique Cavalari) pela concessão e permissão de uso dos dados. Ao CNPq pela concessão da bolsa de estudos do primeiro autor.

Referências

BARIONI, L.G.; BELTRAME, R.T.; QUIRINO, C.R.; FERNANDES, D.R. Modelos determinista e estocástico em programas de transferência de embriões em bovinos. **Archivos Latinoamericanos de Producción Animal**, v. 15, p. 107-113, 2007.

BELTRAME, R.T.; BARIONI, L.G.; MAESTRI, B.D.; QUIRINO, C.R. Economic optimization of the number of recipientes in bovine embryo transfer programs. **Scientia Agricola**, v. 64, p. 221-226, 2007.

BELTRAME, R.T. **Simulação bioeconômica da transferência de embriões em bovinos da raça Nelore**. 2006. 86p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF), Campos dos goytacazes.

BENJAMIN, J.R.; CORNELL, C.A. **Probability, statistics and decision for engineers**. San Francisco, USA, Mcgraw-Hill book , 1970.

CHAUBAL, S.A.; FERRE, L.B.; MOLINA, J.A.; FABER, D.C.; BOLS, P.E.J.; REZAMAND, P.; TIAN, X.; YANG, X. Hormonal treatments for increasing the oocyte and embryo production in an OPU–IVP system, **Theriogenology**, v.67, p. 719–728, 2007.

DE LA FUENTE, J. Reproduccion asistida en Bovinos. In: XXX Curso Internacional de Reproducción Animal, INIA, Madrid, 2007

FREITAS FILHO, P.J. **Introdução a modelagem e simulação de sistemas (Com aplicações em Arena)**. Santa Catarina: Visual Books, 2001

KOSTINA, E. Robust parameter estimation in dynamic systems. **Optimization and Engineering**, v. 5, p. 461-484, 2004.

LEVINE, D. M., STEPHAN, D., KREHBIEL, T.C., BERENSON, M.L. **Estatística - Teoria e aplicações usando o Microsoft Excel em português**. Rio de Janeiro, LTC, 2005.

MACHADO, S.A.; REICHENBACH, H.D.; WEPPERT, M.; WOLF, E.; GONÇALVES, P.B.D. The variability of ovum pick-up response and *in vitro* embryo production from monozygotic twin cows. **Theriogenology**, v.65, p. 573–583, 2006.

PEIXOTO, M.G.C.D.; FONSECA, C.G.; PENNA, V.M.; ALVIM, M.T.T . Análise multivariada de resultados da ovulação múltipla seguida de transferência de embriões de doadoras zebuínas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.54 (5), 2002

PERIN FILHO, C. **Introdução à simulação de sistemas**. Campinas, SP: Editora da Unicamp, 1995, 163 p.

NONATO JR, I; PONTES, J.H.F.; ERENO JR, J.C.; GIMENES, L.U.G.; TORRES JR, J.R.S.; BARUSELLI, P.S. Utilização de progesterona exógena em protocolos de OPU de vacas Nelore – resultados preliminares . **Acta Scientiae Veterinariae**, v.34 (1), p. 452, 2006.

Modelo de simulação como ferramenta de auxílio à tomada de decisões em biotécnicas reprodutivas: I - Base teórica e matemática

Renato Travassos Beltrame * ⁽¹⁾; Celia Raquel Quirino ⁽²⁾; Luis Gustavo Barioni ⁽³⁾

⁽¹⁾ Bolsista do CNPq – Brasil , CCTA – UENF, rtbeltrame@yahoo.com.br

⁽²⁾ Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias - CCTA - UENF, Av. Alberto Lamego, 2000 - Campos dos Goytacazes – RJ- Brasil.CEP 28.013-600, crq@uenf.br

⁽³⁾ Embrapa Informática - barioni@cnptia.embrapa.br

Resumo - Um modelo de simulação empírico, dinâmico contendo elementos determinísticos e estocásticos foi desenvolvido para posterior implementação no software de programação Delphi Rad Studio 2007[®]. O modelo teve como propósito a demonstração das biotécnicas reprodutivas de produção *in vivo*, *in vitro* de embriões e seleção de sexo por parâmetros computacionais. O estudo foi desenvolvido a partir de duas dinâmicas: 1) receptoras, que foi similar para as técnicas de produção *in vivo* e *in vitro* de embriões e, 2) embriões. Matematicamente uma metodologia determinista e estocástica foi elaborada para representar a produção embrionária e a obtenção do número de prenhez total, número de prenhez do sexo desejado e número de prenhez provenientes de embriões descongelados. Observou-se que a metodologia estocástica é a abordagem ideal para uso em variáveis reprodutivas. Ainda, o uso de otimizações e análise de sensibilidade podem sugerir, a partir da implantação de um cenário, um número ótimo de uso de receptoras por doadora utilizada na produção *in vivo* ou *in vitro*.

Termos para indexação: bovinos, fertilização *in vitro* , modelagem, sexagem

Simulation model as taking decision advantages in reproductive biotechniques: Theory and mathematical basis

Abstract - An empiric, dynamic, simulation model presenting deterministic and stochastic elements was developed for later implementation at Delphi 2007[®] software. This model has as objective to demonstrate embryo *in vivo*, *in vitro* production and sex selection by computational parameters. This study was developed through two dynamics: Recipients, that was similar for *in vivo* and *in vitro* production and, embryo. Mathematically, a deterministic and stochastic methodology was developed to generate embryo production, number of total pregnancy, number of total pregnancy of sex selected, and pregnancy derived from unfreezing. It was possible to observe that stochastic methodology is the correct idea to use in reproductive variables. Optimizations and sensible analyses in an elaborate scenery, may suggest an optimal recipient for donor to be selected to use at *in vivo* and *in vitro* production biotechniques.

Index terms: cattle, *in vitro* fertilization, modeling, sexing

Introdução

Na pecuária de corte, o uso de modelos de simulação ainda é bastante reduzido. Apesar disso, a aplicação deste tipo de ferramenta é cada vez mais demandada nos sistemas de produção e gestão alimentar, buscando sua otimização e garantindo a viabilidade da atividade.

Diante da importância da informática, a utilização de programas computacionais de gerenciamento na pecuária ainda é pequena (Moreira Filho, 2004). Na reprodução animal poucos são os softwares que possibilitam processos de simulação e os pesquisadores envolvidos nestas linhas de pesquisa (Beltrame 2006).

Na tentativa de resolver problemas e projetar antecipadamente resultados de atividades que envolvam elevado risco, alguns modelos matemáticos têm sido desenvolvidos, permitindo auxílio à tomada de decisões nas diversas esferas em sistemas de produção na espécie bovina (Tedeschi et al., 2005). Alguns deles têm estudado aspectos reprodutivos das fêmeas bovinas (Slenningsl et al., 1989; Ostergaard et al., 2005; Barioni et al., 2007; Beltrame et al., 2007).

Embora os avanços da informática tenham possibilitado o desenvolvimento de modelos capazes de efetuar análises de risco com relativa facilidade, estas são feitas muitas vezes de forma determinística, ou seja, a partir de parâmetros fixos (Maya, 2003; Barioni et al., 2007).

Nesse contexto a possibilidade de simulação de cenários a partir de dados que considerem os fatores mutáveis dentro de um sistema de produção, contribui para o processo de tomada de decisão. Os modelos de simulação devem ser simples e direcionados a resolver os problemas onde a experimentação tradicional acarreta elevado custo (Fontoura Junior, 2008).

Alguns modelos têm sido descritos para prever a condição reprodutiva de vacas pela concentração de progesterona no leite (Friggens & Chagunda, 2005), para identificar o efeito da seleção do sexo na produção comercial em rebanhos (Hohenboken, 1999), para avaliação bioeconômica em sistemas de múltipla ovulação e transferência de embriões (MOTE) em rebanhos selecionados (Ruvuna et al., 1992), dentre outros. Entretanto, modelos de simulação que descrevam a interação bioeconômica das biotécnicas de produção de embriões *in vivo* (TE), *in vitro* (PIVE) e sexagem de espermatozoides, ainda não foram descritos.

A área de simulação de sistemas tem recebido pouca contribuição no Brasil ao longo dos anos, quer seja no desenvolvimento de modelos ou na sua utilização para orientação da pesquisa ou na tomada de decisão em sistemas de produção. (Euclides Filho, 1999).

Diante do descrito, este trabalho teve como intuito elaborar um modelo conceitual de TE, PIVE e seleção de sexo, para sua posterior ação exploratória e preditiva no desenvolvimento de um software de simulação.

Material e Métodos

Elaborou-se um modelo de simulação com o intuito de projetar e especular os caracteres biológicos e econômicos financeiros relativos às técnicas de TE, PIVE e seleção de sexo. O modelo empírico, dinâmico que contém elementos determinísticos e estocásticos foi posteriormente implementado no software de programação Delphi Rad Studio 2007[®].

Este modelo trabalhou com duas dinâmicas: 1 - Receptoras, que foi similar para as técnicas de TE e PIVE e, 2 - Embriões. Em um momento inicial, o modelo pressupõe a compra de receptoras com histórico desconhecido. Nesta situação, as receptoras são alocadas em estágios de evolução conforme seu posicionamento no sistema de Filas criado (first in first out – FIFO) (Perin Filho, 1995). Assim, cinco estágios e respectivos custos são caracterizados para cada animal: 1) adaptação; 2) prontas para sincronizar; 3) receptoras aptas; 4) aguardando diagnóstico; 5) diagnóstico de gestação. Esta descrição de evolução de eventos seguiu o descrito por Beltrame (2006) (Figura 1).

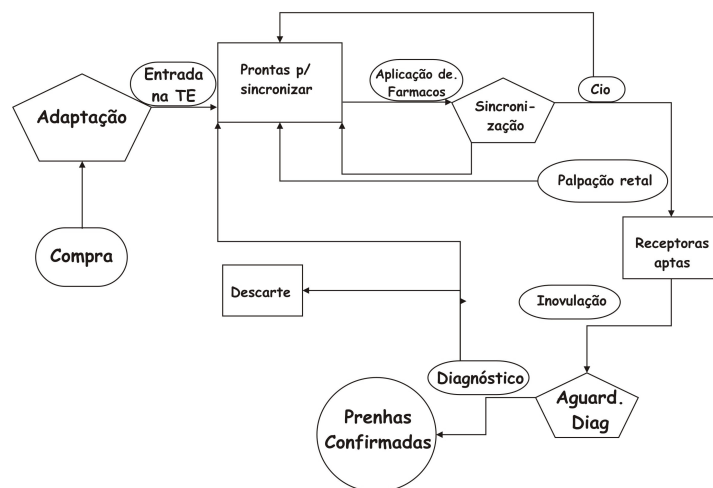


Figura 1. Fluxograma da dinâmica de fêmeas bovinas receptoras de embriões nos modelos de simulação para produção *in vivo* e *in vitro* de embriões .

A pressuposição do modelo de simulação considerou que os embriões gerados pelo evento “*embriões viáveis coletados ou produzidos*”, no dia da coleta ou sete dias após aspiração puderam, diante da disponibilidade na fila de “receptoras aptas”, serem inovulados a fresco ou diante da escassez destas serem congelados (“*evento congelamento*”) (Figura 2).

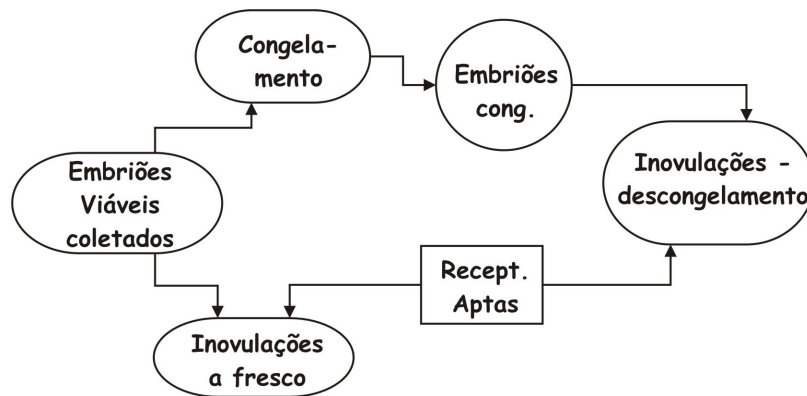


Figura 2. Fluxograma da dinâmica de embriões bovinos nos modelos de simulação na produção *in vivo* e *in vitro*.

O modelo modifica o estoque de “*embriões congelados*”, nas seguintes situações: 1) quando o número de receptoras aptas ocorre em excesso; 2) quando a produção de embriões excede o número de receptoras aptas.

Os eventos de “*congelamento*” e “*inovulações com embriões descongelados*” são controlados pelo estoque de “*embriões congelados*” e pela fila de “*receptoras aptas*”. Ainda, estes eventos estão condicionados ao evento “*inovulação*”. Quando se excede o número de embriões produzidos em relação ao número de receptoras aptas, o evento de “*congelamento*” é realizado. Por outro lado, pode acontecer de existir escassez de embriões e, conseqüentemente sobra de receptoras aptas. Neste caso um descongelamento de embriões em estoque é realizado e um evento de inovulação é lançado à simulação (Figura 2).

Como a dinâmica de doadoras extrapola os objetivos desse estudo, não foram avaliadas respostas individuais de doadoras a coletas e aspirações consecutivas e eventos

correspondentes à sua utilização na TE ou PIVE. Assim, tanto para TE como PIVE foram contabilizados uma estimativa do número de embriões viáveis gerados por doadora, que teve por base um processo aleatório de Simulação de Monte Carlo (Perin Filho, 1995), com frequência esperada que pressupôs uma distribuição exponencial negativa de densidade de probabilidade conforme demonstrado em Beltrame et al., (2009 e 2010).

No modelo foram inseridas a sexagem fetal e sexagem de espermatozóides. Embora biologicamente as técnicas de seleção de sexo estejam descritas na literatura (Wheeler et al., 2006 ; Xu et al., 2009), sua implicação financeira e projeções quando relacionadas à produção de prenhez é problemática e pouco conhecida. Destacam-se como problemas e distanciamentos entre as estimativas projetadas e as executadas, fatores como o número de receptoras que comportem inovulação de todos os embriões produzidos e ainda a sexagem dos embriões obtidos para garantir o desvio da proporção de sexo ao nascimento.

Em toda a literatura consultada não foram encontrados relatos acerca de uma distribuição que permita projetar com certa realidade o número de embriões produzidos por TE ou PIVE após sexagem dos espermatozóides. Os dados disponibilizados pelo Laboratório de Reprodução Animal da Unesp Jaboticabal não permitam identificar um comportamento característico confiável do pequeno número de embriões produzidos devido aos oócitos serem provenientes de ovário de matadouro. Desta forma, decidiu-se por projetar a produção de embriões sexados para TE e PIVE pela distribuição exponencial negativa ajustando-se o parâmetro da distribuição para produzir uma média de embriões próxima à relatada por Baruselli et al. (2007), ou seja 4,2 embriões por coleta ou aspiração realizada. Neste caso o modelo pressupôs a dinâmica de embriões e sua utilização em receptoras de forma similar à utilizada para obtenção dos embriões de forma tradicional.

No modelo de simulação, pressupõe-se que a sexagem fetal não influencia o número de prenhez obtidas ao final da técnica. Neste caso, um montante financeiro predeterminado é inserido ao custo de formação da prenhez.

Modelagem Matemática

Método Determinista

No método determinista, a premissa é a de que o número ótimo de receptoras é aquele no qual, todas as receptoras aptas seriam inovuladas, seja por embriões provenientes de TE ou PIVE. Assim, não existiriam embriões excedentes, implicando, em máxima eficiência de uso dos recursos e conseqüentemente, máximo retorno econômico das biotécnicas reprodutivas. Essa condição ideal pode ser expressa matematicamente pela equação:

$$A_i = (E_{te} + E_{fiv}), \quad (1)$$

Onde: A_i é o número de receptoras aptas; E_{te} é o número de embriões viáveis coletados na i -ésima coleta de embriões e E_{fiv} o número de embriões viáveis produzidos pela i -ésima aspiração de oócitos.

Considerando que A_i é igual ao produto do número ótimo de receptoras (R_i) e da proporção esperada de receptoras aptas (P_i) à inovulação a equação seria:

$$A_i = R_i * P_i, \quad (2)$$

Substituindo, tem que:

$$R_i * P_i = (E_{te} + E_{fiv}), \quad (3)$$

Finalmente o número ótimo de receptoras em um programa de embriões pode ser calculado como:

$$R_i = \frac{E_{te} + E_{fiv}}{P_i} \quad (4)$$

Considerando que o número esperado de embriões em uma coleta ou aspiração ($E_{te} + E_{fiv}$) é o produto do número de doadoras em coleta e / ou aspiração (D_i) e do número médio de embriões esperado por doadora (μ_i), tem que:

$$E_{te} + E_{fiv} = D_i \cdot \mu_i \quad (5)$$

A proporção de receptoras aptas à inovulação (P_i) pode ser calculada pela Equação 6.

$$P_i = \alpha_c \cdot \alpha_r \cdot \alpha_a \quad (6)$$

onde α_c é a proporção de receptoras ciclando; α_r é a proporção de receptoras que respondem aos protocolos de sincronização; α_a é a taxa de aproveitamento das receptoras no momento da inovulação. É importante salientar que P_i depende do protocolo de sincronização de receptoras utilizado.

Finalmente, o número ótimo de receptoras pode ser calculado como:

$$R_i = \frac{D_i \cdot \mu_i}{\alpha_c \cdot \alpha_r \cdot \alpha_a} \quad (7)$$

Método Estocástico

No caso de haver excesso de embriões, é possível congelá-los para futuras inovulações. A possibilidade de congelamento implica em um estoque de embriões que varia ao longo do tempo, dependendo do número de embriões produzidos e do número de receptoras aptas em cada procedimento. Visando contemplar o estoque de embriões, utilizou-se um modelo matemático dinâmico no qual o tempo foi dividido em intervalos.

Igual metodologia foi utilizada para considerar a variabilidade no número de embriões em cada coleta ou aspiração e seu efeito sobre o número ótimo de receptoras a se utilizar.

Considerando a possibilidade de congelamento e descongelamento de embriões (Fig. 2), o modelo pode ser expresso matematicamente como:

$$G_i = I_f \cdot \alpha_{gf} + I_c \cdot \alpha_{gc} \quad (8)$$

Onde: G_i é o número de gestações obtidas por coleta ou aspiração, I_f é o número de inovulações com embriões frescos e I_c é o número de inovulações com embriões congelados. Os parâmetros α_{gf} e α_{gc} são as taxas de prenhez de embriões TE ou PIVE inovulados a fresco e inovulados após descongelamento, respectivamente. O número de inovulações a fresco (I_f) pode ser limitado pelo número de embriões viáveis coletados (E_{te}), pelo número de embriões produzidos após aspiração (E_{fiv}) ou pelo número de receptoras aptas (A_i). Portanto pode ser calculado como o mínimo entre os valores dessas variáveis:

$$I_f = \text{Min} (E_{te}, E_{fiv}, A_i) \quad (9)$$

As inovulações a partir de embriões congelados (I_c) ocorrem somente quando o número de receptoras aptas é maior que o número de embriões viáveis coletados ou produzidos por aspiração, isto é, quando $A_i - (E_{te} + E_{fiv}) > 0$, ou seja, quando há sobra de receptoras. O número de receptoras que podem ser inovuladas é o mínimo entre o número de receptoras aptas não inovuladas a fresco ($A_i - (E_{te} + E_{fiv})$), e o número de embriões congelados em estoque (C_i). Essas premissas são expressas algebricamente como:

$$I_c = \text{Min} (\Delta C_i, 0) \quad (10)$$

Onde ΔC_i é a variação no estoque de embriões congelados e definido como.

$$\Delta C_i = \text{Max} ((E_{te} + E_{fiv}) - I_i, - C_i) \quad (11)$$

Onde

$$C_i = \sum_{j=1}^{i-1} \Delta C_j; C_0 = 0$$

$\Delta C_i > 0$ indica que houve congelamento, $\Delta C_i < 0$ indica que houve inovulação. Assim, uma variação negativa ($\Delta C_i < 0$) indica que $-\Delta C_i$ embriões foram descongelados e inovulados. Uma variação positiva ($\Delta C_i > 0$) indica que houve congelamento e não houve inovulações.

A introdução de variabilidade na produção de embriões foi realizada por meio do método de Monte Carlo. O método de Monte Carlo consiste na geração de números aleatórios com distribuição conhecida para uma ou mais variáveis (Perin Filho, 1995).

Assumiu-se que o número de embriões produzidos em uma coleta ou após uma aspiração possui distribuição exponencial negativa e parâmetros de ajuste conhecidos. O ajuste da distribuição para a técnica de TE foi determinado em Beltrame et al.(2009) e para a PIVE em Beltrame et al. (2010).

Como o número de embriões coletados não pode assumir valores negativos, a distribuição consagrada utilizada é truncada pela função Max (que retorna ao valor máximo entre dois argumentos) para que os valores de E_{te} e E_{fiv} sejam sempre iguais ou maiores que zero.

A sexagem de espermatozóides foi modelada por intermédio do número de blastocistos obtidos por coleta ou aspiração, pressupondo a fertilização com dose de sêmen enriquecida com espermatozóides do sexo requerido. Matematicamente pode ser expressa pela equação:

$$B_{Sex} = Bi \cdot \alpha_m + Bi \cdot \alpha_f \quad (12)$$

Onde: B_{Sex} é o número de blastocistos sexados; Bi é o número de blastocistos; α_m é a probabilidade dos blastocistos serem do sexo masculino; α_f é a probabilidade dos blastocistos serem do sexo feminino.

Uma vez executada a simulação parâmetros econômicos podem ser inseridos ao modelo. Ao final do processamento, podem ser determinados os indicadores de viabilidade da atividade, o número total de prenhez, o número de prenhez do sexo desejado, o número de prenhez geradas após descongelamento, o custo da prenhez e o número ótimo de receptoras por doadora utilizada.

Resultados e Discussão

O benefício do uso da modelagem encontra-se no fato de que se pode identificar de forma rápida sistemas de produção viáveis bioeconomicamente, tanto para fazendas quanto em projetos de pesquisa.

Beltrame (2006) concluiu que a modelagem pode ser utilizada para avaliar a eficiência das biotécnicas reprodutivas, permitindo definir estratégias visando maior rentabilidade. Este autor relata que, matematicamente, se não houvesse variação nos coeficientes técnicos considerados, particularmente no número de embriões viáveis *in vivo* ou *in vitro*, um método determinista seria preciso na determinação do número ótimo de receptoras a serem utilizadas nas técnicas de TE e PIVE. Vários modelos têm sido desenvolvidos desta forma (Ruvuna et al., 1992; Friggens & Chagunda, 2005). Entretanto, o número de embriões varia consideravelmente entre doadoras e para uma mesma doadora em diferentes coletas ou aspirações realizadas. Por esta razão, a utilização de modelos estocásticos que considerem a variabilidade desta variável é uma decisão acertada e seguida por outros autores quando consideram variáveis com comportamento similar (Ostergaard et al., 2005; Beltrame et al., 2007).

A modelagem do número de embriões é a base do processo de simulação das biotécnicas de TE e PIVE. Números de embriões variáveis são apresentados nos estudos de Slenning et al. (1989), Visintin et al. (1999), Merton et al. (2003), Reichenbach (2003) e Baruselli et al. (2006). Em comum, todos os autores afirmam que a variabilidade de respostas em termos de embriões viáveis existe mesmo diante de situações ideais e similares de trabalho.

Assim, a geração do número de embriões viáveis por coleta ou aspiração de forma estocástica pode ser utilizada em modelos de simulação. Visto que esta variável apresenta amplas distinções quando considerada de forma determinista e estocástica (Barioni et al.,

2007), a determinação do seu comportamento descrita por Beltrame et al. (2009) para TE e por Beltrame et al.(2010) para PIVE, possibilita perspectivas acerca de especulações de resultados econômicos próximos a realidade de campo.

À modelagem da dinâmica de receptoras considera-se um processo complexo. As receptoras devem ser adquiridas e sincronizadas antes que se tenha conhecimento sobre o número de embriões viáveis, a ser obtido a partir de doadoras superovuladas ou aspirações realizadas. Assim, mesmo utilizando-se o número ótimo de receptoras, haverá, por vezes, número excessivo de embriões coletados ou produzidos e, por outras, número insuficiente para as receptoras aptas à inovulação (Beltrame et al., 2007).

O modelo elaborado no presente estudo permite que as variáveis embriões e receptoras trabalhem de forma conjunta. Desta maneira, como sugerido por Perim Filho (1995), a inserção de uma análise de sensibilidade permite a realização da otimização do sistema e determinação do número ótimo de receptoras por doadora utilizada.

O número ótimo de receptoras também deve considerar as ineficiências das biotécnicas reprodutivas. Assim, o congelamento de embriões, o excesso de produção embrionária e a escassez de receptoras são eventos indispensáveis na modelagem, visto que retratam fidedignamente a realidade de campo. A variabilidade destes eventos não deve ser excluída da análise, uma vez que influencia diretamente na estimativa do custo da prenhez.

Entretanto, o modelo não considera uma série de efeitos biológicos decorrentes da nutrição ou sanidade. Efeitos da condição corporal, estresse, manejo, variáveis climáticas, efeitos de ano, de época do ano, do touro, diferentes protocolos de superovulação, doses de fármacos e as interações entre esses fatores não são considerados pelo modelo. É importante observar que esses fatores podem ter influência na resposta reprodutiva. No entanto, decidiu-se não usar mais fontes de variação, baseado na premissa de que o aumento de variáveis e

parâmetros de um modelo pode torná-lo de mais difícil manipulação e interpretação por parte do usuário, além de aumentar também a probabilidade de propagação de erros.

Assim, no futuro o desenvolvimento de modelos de simulação poderá incluir alguns dos fatores citados acima ou ainda o comportamento estocástico de variáveis que não foram consideradas neste estudo.

A vantagem da simulação como ferramenta no auxílio à tomada de decisões de biotécnicas reprodutivas é que a utilização do modelo é flexível. As simulações podem ser feitas a partir de dados reais (a partir de um relatório) ou estimativas elaboradas, visando testar estratégias no intuito de alterar respostas do sistema e, então, realizar a tomada de decisão.

Outro tópico que merece destaque é a maneira como o modelo pode ser utilizado para executar a simulação. Inicialmente, os parâmetros de saída podem ser gerados a cada ciclo da simulação ou diante de um número específico de receptoras. Posteriormente, os parâmetros de saída podem ser analisados de forma conjunta (resultando nos valores médios obtidos pela simulação), apresentando um ótimo econômico do cenário proposto que pode ser determinado e elaborado graficamente.

É importante destacar que a inserção da modelagem na produção e melhoramento animal de forma abrangente já foi prevista nos trabalhos de Lovatto (2003), que sugeriu que, a curto prazo, nas distintas áreas da ciência animal todos os pesquisadores ou profissionais que atuam em pesquisa, ensino ou extensão sentiriam necessidade de desenvolver modelos capazes de simular situações específicas de sua área de conhecimento.

Conclusões

A base teórica do modelo sugere que o uso de simulação permite a identificação de cenários viáveis economicamente de forma antecipada; que a simulação estocástica é a abordagem

ideal para uso em variáveis reprodutivas; que o uso de otimização e análise de sensibilidade determinariam o número ótimo de receptoras por doadora para serem utilizadas na produção *in vivo* ou *in vitro* de embriões, e que o uso da modelagem permite a projeção embrionária de forma realista, auxiliando na tomada de decisões acerca de biotécnicas reprodutivas a serem incorporadas em diversos sistemas de produção.

Referências

BARIONI, L.G.; BELTRAME, R.T.; QUIRINO, C.R.; FERNANDES, D.R. Modelos determinista e estocástico em programas de transferência de embriões em bovinos. **Archivos Latinoamericanos de Producción Animal**, v.15, n.3, p.107-113, 2007.

BARUSELLI, P.S.; SA FILHO, M. F.; MARTINS, C. M.; NASSER, L.F.; NOGUEIRA, M. F.G.; BARROS, C.M.; BO, G.A. Superovulation and embryo transfer in *Bos indicus* cattle. **Theriogenology**, v.65(1), p.77-88, 2006.

BARUSELLI, P.S.; SOUZA, A.H.; MARTINS, C.M.; UNNO, L.; AYRES, H.; ANDRADE, A.F.C.; CLÁUDIA, et al. Sêmen sexado: inseminação artificial e transferência de embriões. **Rev Bras Reprod Anim**, v.31(3), p. 374-381. 2007.

BELTRAME, R.T. **Simulação bioeconômica da transferência de embriões em bovinos da raça Nelore**. 2006. 86p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF), Campos dos goytacazes.

BELTRAME, R.T.; BARIONI, L.G.; MAESTRI, B.D.; QUIRINO, C.R. Economic optimization of the number of recipients in bovine embryo transfer programs. **Scientia Agricola**, v. 64, p. 221-226, 2007.

BELTRAME, R.T.; BARIONI, L.G.; QUIRINO, C.R.; DANTAS, O.D. Probability density function of the number of Embryos collected from superovulated Nelore breed donors. **Scientia Agricola**, v. 66, p. 447-450, 2009.

BELTRAME, R.T.; QUIRINO, C.R.; BARIONI, L.G.; BURLA, A.J.B.; SOUZA, P.M. Análise da produção de embriões na fertilização *in vitro* e transferência de embriões para doadoras Nelore. **Ciência Animal Brasileira**, v.11, n.1, 2010.

EUCLIDES FILHO, K. Retrospectiva e desafios da produção de ruminantes no Brasil. In: PENZ JÚNIOR, A. M.; AFONSO, L. O. B.; WASSERMANN, G. J. (Ed.). XXXVI REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, **Anais dos Simpósios e Workshops**, Simpósios. Porto Alegre, RS. 1999.

FONTOURA JÚNIOR, J.A.S. **Modelo de simulação do desempenho reprodutivo de vacas de corte baseado no escore de condição corporal**. 2008. 98f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

FRIGGENS, N.C.; CHAGUNDA, M.G.G. Prediction of the reproductive status of cattle on the basis of milk progesterone measures: model description. **Theriogenology**, v.64, p.155-190, 2005.

HOHENBOKEN, W.D. Applications of sexed semen in cattle production. **Theriogenology**, v.52(8), p.1421-1433, 1999.

LOVATTO P. A. Princípios de modelagem e sua aplicação no estudo de cadeias de produção agrícola. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 40, 2003. Santa Maria, **Anais...** CD-ROM. Palestras.

MAYA F. L. A. **Produtividade e viabilidade econômica da recria e engorda de bovinos em pastagens adubadas intensivamente com e sem uso de irrigação.** Dissertação de Mestrado (Área de concentração ciência animal e pastagens), 94 f. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queirós, Universidade de São Paulo. 2003.

MERTON, J. S.; HARING, R. M.; STAP, J.; HOEBE, R. A.; ATEN, J. A. Effect of flow cytometrically sorted frozen/thawed semen on success rate of *in vitro* bovine embryo production. **Theriogenology**, v. 47(1), p. 295-295, 1997.

MOREIRA FILHO, P. O papel da transferência de tecnologia no desenvolvimento da produção animal. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41., 2004, Campo Grande. **Anais...** Mato Grosso do Sul: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2004. CD-ROM. Palestras.

OSTERGAARD, S.; FRIGGENS, N.C.; CHAGUNDA, M.G.G. Technical and economic effects of an inline progesterone indicator in a dairy herd estimated by stochastic simulation. **Theriogenology**, v. 64, p. 819-843, 2005.

PERIN, F.C. **Introdução à simulação de sistemas.** Campinas, SP: Editora da Unicamp, 1995, 163 p.

REICHENBACH, H.D, Avanços na superovulação, transferência, sexagem e criopreservação de embriões bovinos. **Pré congresso da XVII Reunião Anual da SBTE**, Ceará 2003.

RUVUNA, F.; TAYLOR, J.F.; WALTER, J.P.; TURNER, J.W.; THALLMAN, R.M. Bioeconomic evaluation of embryo transfer in beef production systems: III. Embryo lines for producing bulls. **Journal Animal Science**. v.70, p.1091-1097c, 1992.

SLENNINGL, B.D.; WHEELERA, M.B. Risk evaluation for bovine embryo transfer services using computer simulation and economic decision theory. **Theriogenology**, v.31, p 653-673, 1989.

TEDESCHI, L.O.; FOX, D.G.; SAINZ, R.D.; MEDEIROS, S.R.; BOIN, C.; BARIONI, L. G. Mathematical Models in Ruminant Nutrition. **Scientia Agricola**, Piracicaba, Brasil, v. 62, n. 1, p. 76-91, 2005.

VISINTIN, J.A.; ARRUDA, R.P.D.; MADUREIRA, E.H.; MIZUTA, K.; CELEGHINI, E.C.C.; ASSUMPÇÃO, M.E.OD.; GUSMÕES, P.P.G.; CANDINI, P.H. Superovulação de novilhas da raça Nelore com diferentes doses de FSH/LH e congelamento de embriões pelo método one-step com etilenoglicol. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.36(5), 1999.

WHEELER, M.B.; RUTLEDGE, JJ.; AMY, F.B.; TARA,V.; SAMANTHA, M.; BEEBE, D.J. Application of sexed semen technology to *in vitro* embryo production in cattle. **Theriogenology**, v. 65(1), p. 219-227. 2006.

XU, J.; CHAUBAL, S.A.; DU, F. Optimizing IVF with sexed sperm in cattle. **Theriogenology**, v.71(1), p. 39-47. 2009.

Modelo de simulação como ferramenta de auxílio à tomada de decisões em biotécnicas reprodutivas: II – Análise econômica da produção de embriões *in vivo* e *in vitro*

Renato Travassos Beltrame * ⁽¹⁾; Celia Raquel Quirino ⁽²⁾; Luis Gustavo Barioni ⁽³⁾; Vera
Fernanda Martins Hossepian de Lima⁽⁴⁾

⁽¹⁾ Bolsista do CNPq – Brasil , CCTA – UENF, rtbeltrame@yahoo.com.br

⁽²⁾ Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias - CCTA - UENF, Av. Alberto Lamego, 2000 - Campos dos Goytacazes – RJ- Brasil.CEP 28.013-600, crq@uenf.br

⁽³⁾ Embrapa Informática - barioni@cnptia.embrapa.br

⁽⁴⁾ Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal – UNESP- Jaboticabal – veralima@fcav.unesp.br

Resumo - Um modelo de simulação foi implementado no software de programação Delphi Rad Studio 2007[®]. Criou-se um aplicativo de simulação que permite ao usuário inserir os parâmetros das variáveis de entrada. No intuito de promover a visualização dos resultados da simulação, um cenário base originado a partir de taxas tradicionais de eficiência nas técnicas de produção *in vivo* (TE) e *in vitro* (PIVE) de embriões bovinos foi proposto e introduzido no aplicativo de simulação como referência para comparações. O aplicativo desenvolvido foi capaz de reproduzir os cenários de TE e PIVE. Verificou-se que a sincronização para inovulação em tempo fixo em comparação à metodologia tradicional, minimizou a ociosidade de receptoras e conseqüentemente o custo final da prenhez. Concluiu-se que a sexagem fetal deve estar associada à biotécnica de PIVE. Em adicional, o número ótimo de receptoras por doadora é variável e dependente dos parâmetros de entrada do sistema.

Termos para indexação: bovinos, modelagem, receptoras, reprodução, software, viabilidade.

Simulation model as taking decision advantages in reproductive biotechniques: II – Economic analysis of *in vivo* and *in vitro* embryo production biotechniques

Abstract – A simulation model was developed in Delphi Rad Studio 2007[®] programming software. This software allows the user to insert parameters in the variables of the system to begin the simulation. A basic scenario, from *in vivo* (ET) and *in vitro* production (IVP) of bovine embryos biotechniques was introduced to the software as base to compare the results. This software achieved to reproduce both biotechniques and scenarios. As results synchronization to fixed time embryo transfer (FTET) decrease the recipient idleness and the pregnancy cost when comparing the use of prostaglandin. It was possible to conclude that foetal sexing must be associated to IVP of bovine embryos.

Index terms: cattle, modeling, recipients, reproduction, software, viability.

Introdução

Estudos bioeconômicos das variáveis que influenciam os resultados das técnicas de produção *in vivo* (TE) e *in vitro* (PIVE) de embriões bovinos são escassos na literatura. Desta forma, a viabilidade destas atividades permanece à mercê dos índices reprodutivos, sendo questionável em diversas situações. Projeções antecipadas dos resultados bioeconômicos da TE e PIVE facilitam a tomada de decisões na medida em que proporcionam a especulação antecipada dos prováveis resultados e da formação do custo da prenhez.

Alguns trabalhos recentes têm tentado projetar a produção embrionária para uso em simulação. Como a variação na produção embrionária é inerente ao processo reprodutivo, simulações e projetos considerando o uso do número médio de embriões viáveis representam situações inexistentes e distantes da realidade. Estas situações têm sido minimizadas quando

metodologias corretas de simulação são implementadas (Beltrame et al., 2007; Barioni et al., 2007).

Seja na biotécnica de TE ou PIVE, a grande variabilidade na produção de embriões pelas doadoras (Slenningsl & Wheeler., 1989; Galli et al., 2003) e a necessidade de compra e sincronização de receptoras antes que se conheça o número de embriões coletados ou produzidos, dificultam a decisão acerca do número de animais que devem ser destinados à sincronização.

Na tentativa de resolver estes problemas e projetar antecipadamente resultados de atividades que envolvam elevado risco, alguns modelos matemáticos têm sido desenvolvidos (Slenningsl & Wheeler., 1989; Ostergaard et al.,2005), auxiliando a tomada de decisões nas diversas esferas do sistema de produção de bovinos. Entretanto, nenhum modelo foi direcionado a comparar e analisar os aspectos econômicos e biológicos das biotécnicas de TE e PIVE.

Diante do descrito, este trabalho teve como intuito implementar um modelo de simulação no software de programação Delphi Rad Studio 2007[®] e analisar os cenários bioeconômicos propostos para as biotécnicas de TE e PIVE.

Materiais e Métodos

Implementou-se o modelo de simulação descrito previamente (Beltrame, 2010) no software de programação Delphi Rad Studio 2007[®], permitindo ao usuário inserir parâmetros e índices técnicos e econômicos como variáveis de entrada.

No intuito de promover a visualização dos resultados da simulação, um cenário base originado a partir das taxas tradicionais de desempenho reprodutivo nas técnicas de TE e PIVE encontrados na bibliografia (Spell et al., 2001; Tomita, 2003, Barreiros et al., 2004; Sá Filho et al., 2004) e obtidos no laboratório de Reprodução da UNESP Jaboticabal, foi

proposto e introduzido no aplicativo de simulação como referência para comparações. Neste cenário, definiu-se que cinco doadoras seriam trabalhadas em cada colheita e/ ou aspiração, que o período de simulação seria de 10 anos, e que o intervalo entre colheita ou aspiração seria de 60 dias para TE e 30 dias para PIVE. Na Tabela 1, são apresentados os parâmetros utilizados. Destacam-se o método de sincronização das receptoras, a ciclicidade do rebanho, a taxa de sincronização das receptoras, a taxa de aptidão (receptoras prontas para inovulação) e taxas de prenhez após a inovulação dos embriões não congelados e descongelados, diante da produção embrionária em sua forma convencional.

Tabela 1. Taxas e períodos estabelecidos no cenário base para receptoras de embriões produzidos in vivo de bovinos.

Intervalo protocolo/cio - TE(dias)	21	
Protocolo de sincronização da receptora	Prostaglandina *	
Ciclicidade do rebanho (%)	70	
Taxa de sincronização das receptoras (%)	70	
Taxa de aptidão (%)	60	
Taxa de prenhez com embrião não congelado (%)	50 – TE	40 – PIVE
Taxa de prenhez com embrião descongelado (%)	30 – TE	25 – PIVE
Porcentagem de machos/fêmeas (macho/fêmea)	50 / 50	57/43

Fonte: Modificado de Spell et al., 2001; Tomita, 2003, Barreiros et al., 2004; Souza et al, 2004.

*Pressupõe a aplicação intervalada de onze dias de fármaco a base de prostaglandina

Para a inserção dos custos no modelo, foram sugeridas cinco categorias, que englobaram as possibilidades de localização das receptoras na atividade. A Tabela 2 ilustra estas categorias.

Tabela 2. Estimativa de custo em reais (R\$) correspondente à localização das receptoras no modelo de simulação (Valores arredondados).

Item	Custo mensal (R\$)	Custo diário (R\$)
Adaptação	62,60	2,09
Receptoras prontas para sincronizar	34,20	1,14
Receptoras aptas	56,20	1,87
Aguardando Diagnóstico de gestação	34,20	1,14
Diagnóstico de gestação	38,50	1,28

De acordo com a Tabela 2, o cálculo do item adaptação engloba os custos referentes à manutenção dos animais por um mês, incluindo vermifugação, vacinação, honorários veterinários e exames, como apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Estimativa de custos em reais (R\$) das receptoras de embriões bovinos alocadas no modelo de simulação.

	Unidade (R\$)	Total (R\$)
1 – Vermífugo		
Ivermectina 1%	R\$ 1,50	R\$ 1,50
2 – Vacinas		
Raiva; Febre Aftosa; Clostridioses; Leptospirose		R\$ 9,70
3- Mão-de-obra para observação de estro		
PGF _{2α} ¹	R\$ 2,57	R\$ 2,57
P ₄ ²	-	-
4 – Hormônios		
PGF _{2α} ¹	R\$ 12,00	R\$ 12,00
P ₄ ²	R\$ 38,40	R\$ 38,40
5- Exames		
Brucelose	R\$ 6,00	R\$ 6,00
Tuberculose	R\$ 7,00	R\$ 7,00
6 - Antibioticoterapia		
Valor da aplicação por animal	R\$ 10,00	R\$ 10,00

7 - Avaliação reprodutiva

Honorários veterinários por animal	R\$ 4,29	R\$ 4,29
------------------------------------	----------	----------

¹PGF_{2alfa} - protocolo de sincronização do estro baseado na aplicação intramuscular de duas doses de prostaglandina com intervalo de 11 dias.

²P₄ = protocolo de sincronização do estro e da ovulação com base em implante intravaginal de progesterona (Nasser et al. 2004).

A estimativa de custo das receptoras nas categorias prontas para sincronizar e aguardando diagnóstico, foi relativa à manutenção mensal da receptora, sendo apresentada na Tabela 4.

Receptoras aptas englobam o somatório dos custos mensais de manutenção, o custo do protocolo de sincronização utilizado e, caso haja involução, antibioticoterapia com dihidroestreptomicina.

A estimativa referente à categoria diagnóstico de gestação foi obtida pelo somatório da manutenção mensal, mais a avaliação reprodutiva, como apresentada nas Tabelas 3 e 4.

Nas estimativas, foram consideradas receptoras mestiças adquiridas a um peso médio de 360 quilos e um ágio de compra de 20%. No descarte assumiu-se um peso de 420 quilos. O preço de venda adotado partiu do caracterizado para o Estado de São Paulo, obtido para vaca gorda no mês de Novembro de 2008 (Scot Consultoria, Nov, 2008). Neste caso, o preço de aquisição e descarte de receptoras considerados foram R\$ 1008,00 e R\$ 980,00 respectivamente.

Tabela 4. Estimativa de custos em reais (R\$) de manutenção de receptoras alocadas no modelo de simulação.

1 – Item	Custos
Pastagem (R\$/Receptora/mês)	18,75
Minerais (R\$/Receptora/mês)	4,67
Identificação/monitoramento	0,50
Mão-de-obra (R\$/Receptora/mês)	10,27
Total mensal	34,19

Referências financeiras mensais foram inseridas ao modelo conforme apresentado na Tabela 2. Além destes custos, foram inseridos os campos para o custo de aquisição da doadora², valor residual da doadora, valor de descarte da receptora, custo de manutenção da doadora, custo do protocolo de superovulação ou aspiração, custo do embrião, honorários para aspiração e valor de venda da prenhez não sexada, sexada (após ultra-sonografia) de macho ou de fêmea. Estes valores estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5. Valores considerados no cenário base em uma fazenda.

Item	Base (R\$)
Custo de aquisição da doadora	15.000,00
Valor residual da doadora	15.000,00
Valor de descarte da receptora	980,00
Custo do protocolo de adaptação	62,60
Custo de manutenção da receptora	34,20
Custo de sincronização da receptora	12,00
Custo de manutenção da doadora	49,19
Custo do protocolo de superovulação	303,20
Honorários Veterinários por doadora em coleta e em aspiração	500,00 / 300,00
Valor de venda da prenhez	2.500,00
Valor de venda da prenhez macho	2.500,00
Valor de venda da prenhez fêmea	4000,00

O cenário proposto visou contemplar a atividade em uma propriedade, onde taxas e custos tradicionais da TE e PIVE fossem introduzidos como dados de entrada. Assim, possibilitou-se a determinação de taxas de viabilidade desta atividade na situação proposta. Neste caso, custos de doadoras, receptoras e taxas de eficiência reprodutiva foram completamente inseridos no modelo, possibilitando a determinação e a especulação do valor

² Devido a variabilidade de potencial genético e custo de uma doadora de oócitos ou de embriões, convencionou-se neste estudo a igualdade entre custo de aquisição e valor residual de doadoras.

presente líquido e da taxa interna de retorno, sob uma taxa de desconto de 0,5% mensal, conforme apresentado na Tabela 5.

No cenário base, o modelo foi utilizado para determinar e projetar um fluxo de caixa da atividade, estimando o número de prenhez produzidas, as receitas provenientes do descarte de receptoras, da venda de prenhez e os índices econômicos ao final do período. Uma relação de 40 receptoras por doadora na propriedade foi utilizada, sendo então utilizadas 200 receptoras em todos os cenários em um momento inicial.

No intuito de se observar a variação numérica provocada pela utilização de inovulação em tempo fixo, um cenário alternativo para TE ($C1 = TE - TETF$) e outro para PIVE ($C2 = PIVE - TETF$) foram projetados a partir dos cenários tradicionais, conforme pode ser observado na Tabela 6.

Tabela 6. Cenários utilizados nas análises de simulação (TE e PIVE) em bovinos.

Cenários TE – PIVE				
Item	Base - TE	TE-TETF(C1)	Base - PIVE	PIVE-TETF(C2)
Período de simulação (anos)	10	10	10	10
Intervalo entre coletas (dias)	60	60	30	30
Adaptação (dias)	50	50	50	50
Intervalo protocolo/cio (dias)	14	10	14	10
Intervalo cio/TE (dia)	7	7	7	7
Diagnóstico de gestação (dia)	60	60	60	60
Item	Taxas			
Protocolo	PGf2α	P₄	PGf2α	P₄
% ciclicidade	0,7	1	0,7	1
% sincronização	0,7	1	0,7	1
% aptidão	0,6	0,85	0,6	0,85
% concepção fresco	0,5	0,5	0,4	0,4
% de concepção descongelamento	0,35	0,35	0,25	0,25
Estoque inicial de embriões	nulo	Nulo	nulo	nulo
% macho fêmea	50 / 50	50 / 50	43 / 57	43 / 57

PGf_{2 α} - protocolo de sincronização do estro baseado na aplicação intervalada de prostaglandina

P₄ = protocolo de sincronização do estro e da ovulação com base em implante endovaginal de progesterona (Nasser et al. 2004)

Na PIVE utilizando espermatozoides não sexados, a sexagem fetal também foi simulada em cenários adicionais. Neste caso considerou-se a sexagem sendo realizada simultaneamente ao diagnóstico de gestação e ao custo de R\$ 70,00 por procedimento. A cada inovulação de embriões provenientes de PIVE foram computados R\$ 20,00.

Critérios e pressupostos

No caso da resolução por simulação, consideram-se as ineficiências inerentes ao sistema. Uma vez que o número de embriões recuperados ou obtidos por intermédio de

aspiração folicular é aleatório, o acréscimo no custo por prenhez pode ser diferente devido à ociosidade de receptoras e à perda ou ao congelamento de embriões. É necessário, portanto, definir um critério para estabelecer o ponto ótimo. Vários critérios poderiam ser utilizados. Em um negócio de venda de embriões, por exemplo, o Valor Presente Líquido (Puccini, 1999; Penedo, 2005) poderia ser utilizado. Nesse estudo, entretanto, decidiu-se que o critério seria o custo por prenhez e que o número ótimo de receptoras seria aquele no qual o custo por prenhez fosse mínimo para cada cenário e para cada biotécnica reprodutiva proposta.

As estimativas de custo inseridas no modelo tiveram como intuito permitir o cálculo dos indicadores econômicos de rentabilidade VPL e a TIR (PUCCINI, 1999; PENEDO, 2005), a determinação do número ótimo de receptoras, a comparação entre os protocolos de sincronização de receptoras e a escolha da técnica mais rentável nos cenários propostos. Estas estimativas tiveram como base valores de mercado pesquisados em Novembro de 2008, e paridade de câmbio de U\$S 1 para R\$ 2,60. A taxa de desconto utilizada foi de 0,5% ao mês. Neste caso, baseou-se em um negócio que obtivesse um rendimento próximo ao oferecido, anualmente, pela caderneta de poupança (6%) (A Gazeta, 2008).

Alguns dos cenários considerados neste estudo dificilmente acontecerão na prática, mas foram necessários nesta parte experimental do trabalho. Assim, puderam-se avaliar algumas práticas no seu limite máximo de eficiência técnica especulando-se sobre seu desempenho e resultados.

Como o objetivo do modelo visa identificar se os ganhos propiciados pela tecnologia superam os custos adicionais que ela acarreta, é importante destacar que custos inerentes à atividade pecuária como instalações, manutenções e custos indiretos não foram aqui considerados.

Para efeito de desenvolvimento do modelo e no intuito de aproximar as estimativas de custo à realidade, assumiu-se que todas as doadoras foram coletadas consecutivamente por 3

vezes e/ou aspiradas durante período similar (6 meses), considerando-se então, a partir daí, uma gestação a termo. Foi considerado também um valor diferenciado de venda para as prenhez após sexagem por ultra-sonografia. É importante ressaltar que não se considerou “correlação” entre coletas para uma mesma doadora e, portanto, a geração de embriões respeitou os trabalhos de Beltrame et al. (2009) e Beltrame et al. (2010).

A compra e venda de doadoras embora tenha sido considerada biologicamente (substituição a cada 6 meses) teve efeito financeiro nulo, visto terem sido efetuadas as relações de compra e venda por preços idênticos e momentos similares da dinâmica temporal. Em referência aos custos relativos a doadoras, valores similares foram utilizados na TE e PIVE para custos de aquisição, valor residual e manutenção destes animais. Estas informações são demonstradas na Tabela 7.

Tabela 7. Despesas em reais (R\$) de doadoras de oócitos e embriões bovinos referentes a aquisição, valor residual e custo de manutenção considerados para simulação das biotécnicas de produção *in vivo* e *in vitro* de embriões.

	Valor
1 – Valor de aquisição	R\$ 15.000,00
2- Valor residual	R\$ 15.000,00
3- Manutenção	
Alimentação	
Pastagem (R\$/animal/mês)	R\$ 18,75
Minerais (R\$/animal/mês)	R\$ 4,67
Suplementação - concentrado/mês	R\$ 15,00
Identificação/monitoramento/ mês	R\$ 0,50
Mão-de-obra (R\$/UA/mês)	R\$ 10,27
Total mensal	R\$ 49,19

Mortalidade de animais, variáveis climáticas e alteração de variáveis nutricionais não foram consideradas, sendo objeto de pesquisas futuras.

As simulações foram executadas 5000 vezes para cada cenário, estabelecendo médias do número de prenhez e índices de eficiência de cada cenário. Uma análise de sensibilidade do número de receptoras foi executada em cada caso na tentativa de identificar a relação ótima de uso de receptoras por doadora. Este número ótimo de receptoras foi inserido no modelo para encontrar os coeficientes biológicos e financeiros que otimizavam a produção *in vivo e in vitro* de embriões (cenários otimizados).

Estatisticamente comparou-se se existiam diferenças entre o número médio de prenhez nos cenários simulados (Teste de Tukey - SAS, 1999), A partir destes resultados uma extrapolação para a comparação monetária foi realizada.

Resultados e Discussão

Todos os resultados apresentados a seguir foram obtidos com o programa de simulação desenvolvido, e destacam as principais variáveis físicas e econômicas para a realização da TE e PIVE em uma fazenda. Foi possível avaliar a migração do sistema de inovulação com observação de cio (tradicional) para um novo sistema (TETF). Na PIVE, a hipótese tradicional incorporou-se à sexagem fetal e sua posterior avaliação.

O modelo implementado foi capaz de gerar resultados a partir das informações estabelecidas para entrada. A partir dos cenários propostos procedimentos de otimização foram executados para TE (Base-TE-M, C1M) (Tabela 8) e PIVE (Base-PIVE-M, C2M) (Tabela 9), sugerindo dados de entrada diferentes para a variável “número de receptoras”, proporcionando em todos os casos valores inferiores de custo para produção das prenhez.

Análise Econômica

A análise do VPL de forma individual caracteriza simplesmente a diferença entre o valor presente do projeto e o custo do projeto na data atual. Neste caso, se este custa mais do que vale, em caso de implementação, trará prejuízo (Abreu Filho, 2003). Embora a TIR nem

sempre seja suficiente para caracterizar a viabilidade de um projeto, sua utilização conjunta ao VPL é uma potencial informação para manutenção e retorno do valor monetário investido.

No caso de fenômenos biológicos onde a variabilidade está inserida a utilização da TIR deve ser evitada. Segundo Penedo (2005), deve-se ter cautela na escolha da TIR como critério para análise do investimento. No caso da biotecnologia de TE e PIVE duas armadilhas são visualizadas. Primeiramente, a pressuposição de uma taxa constante de atratividade ignorando as possíveis oscilações do mercado financeiro em tempos futuros. Segundo, a presença de fluxos de caixa não convencionais (mais de uma inversão de sinal do resultado do fluxo de caixa), admitindo-se a possibilidade de ocorrência de mais de uma TIR e com isso duas taxas que anulam o valor presente do fluxo líquido de caixa.

Os resultados encontrados sugeriram a não utilização da TIR como parâmetro de decisão nos projetos envolvendo biotecnologia da reprodução associada à variabilidade das variáveis. Tal fato decorreu da impossibilidade de obter um valor absoluto para TIR e efetuar o processo de simulação pelo software desenvolvido (Delphi Rad Studio-2007) em alguns dos cenários propostos. Assim, as comparações foram realizadas pelo VPL.

Para a TE, na quase totalidade dos projetos simulados, foi possível identificar a inviabilidade dos mesmos quando o número sugerido, inicialmente, para receptoras foi utilizado (200 animais). Valores negativos para o VPL foram encontrados (Tabela 8).

Analisando-se os cenários otimizados, percebeu-se o efeito da variabilidade das situações propostas. Utilizando-se sêmen convencional apenas o cenário baseado na sincronização para inovulação em tempo fixo (C2M) apresentou viabilidade.

Uma análise mais criteriosa permitiu sugerir que a sincronização para inovulação em tempo fixo mesmo diante de taxas de prenhez similares à sincronização tradicional minimizou o número de receptoras na propriedade (95 animais), impactando de maneira positiva no custo final da prenhez (R\$ 1.615,97).

Tabela 8. Resultados do modelo de simulação para projeção da biotecnologia de produção *in vivo* de embriões bovinos em fazendas em um período de dez anos.

Transferência de Embriões	Cenário Base – PGF _{2alfa}		TETF – P ₄	
	Base	BaseM	C1	C1M
Nº de doadoras	5	5	5	5
Nº de receptoras	200	160	200	95
Número de prenhez	1056 ^a	912 ^b	957 ^c	955 ^d
Custo médio por prenhez	R\$ 1.935,67	R\$ 1.858,68	R\$ 4.531,10	R\$ 1.615,97
VPL* - Convencional	-R\$106.729,49	-R\$ 16.310,45	-R 2.558.294,96	R\$212.862,90

Médias seguidas de letras diferentes diferem significativamente (p<0,05)

* VPL = Valor Presente Líquido

A pequena diferença apresentada entre o custo da prenhez para o cenário base e sua derivante otimizada indicam a proximidade entre os dados de entrada sugeridos e impostos ao modelo (R\$ 1.846,53 vs R\$ 1.844,12) na técnica de PIVE (Tabela 9).

Tabela 9. Resultados do modelo de simulação para projeção da biotecnologia de produção *in vitro* de embriões bovinos em fazendas sob um horizonte de dez anos.

PIVE	Cenário Base – PGF _{2alfa}		TETF ¹ – P ₄	
	Base	BaseM	C2	C2M
Nº de doadoras	5	5	5	5
Nº de receptoras	200	210	200	145
Nº de fêmeas	611 ^a	636 ^b	793 ^c	655 ^d
Número de prenhez	1421 ^a	1480 ^b	1843 ^c	1523 ^d
Custo médio por prenhez	R\$ 1.846,53	R\$ 1.844,12	R\$ 1.905,74	R\$ 1.719,79
(VPL) ² - Convencional	-R\$ 4.685,83	-R\$ 4.292,32	-R\$ 127.044,79	R\$ 184.566,36

Sexagem fetal

Custo médio por prenhez	R\$ 1.897,84	R\$ 1.894,53	R\$ 1.952,41	R\$ 1.771,82
(VPL) ² – Sexagem fetal	R\$ 621.588,22	R\$ 612.746,56	R\$ 651.821,46	R\$ 776.875,78

Médias seguidas de letras diferentes diferem significativamente (p<0,05)

¹ Transferência de embriões com tempo fixo

² Valor Presente Líquido

No cenário base para TE a sensibilidade do VPL em relação ao número de receptoras é apresentada na figura 1. Embora o VPL seja negativo em toda sua trajetória, identifica-se pelo comportamento de sua curva o número de receptoras que acarreta menor prejuízo no cenário simulado (32 receptoras por doadora utilizada). Assim qualquer modificação numérica no número total de prenhez e no acréscimo ou decréscimo no número de receptoras ou doadoras não teria benefício econômico na atividade.

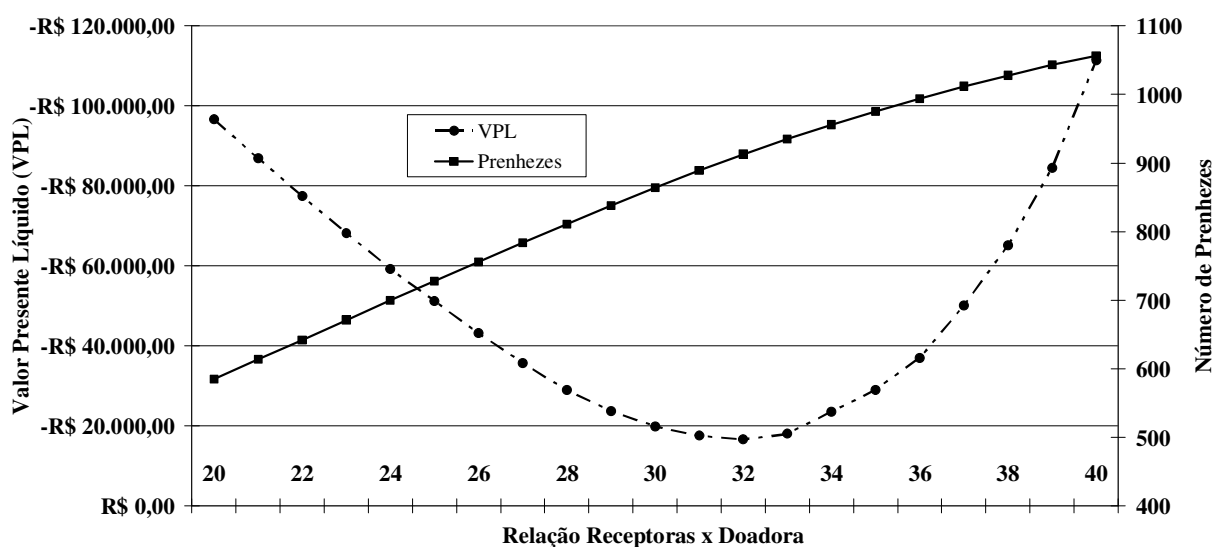


Figura 1. Representação gráfica do Valor Presente Líquido e do número de prenhez, com diferentes números de receptoras por doadora, no cenário base para produção *in vivo* de embriões bovinos.

Para os cenários que envolvem PIVE, os indicadores exibem comportamento similar ao demonstrado na TE. Indicadores otimistas são observados no cenário onde ocorre a sincronização para inovulação com tempo fixo (Tabela 9 – C2M).

A pressuposição da sexagem fetal na elaboração dos cenários tem como intuito eliminar falhas decorrentes na taxa de acuidade em uma seleção de sexo e precisar a venda de uma prenhez de um sexo característico. Entretanto, embora não esteja inserida na PIVE tradicional, sugere-se que a sexagem fetal esteja sempre associada a estes procedimentos. Nas projeções em longo prazo onde foi utilizada, acrescentando-se cerca de 3% ao valor de custo da

prenhez, permite-se identificar o sexo do produto sem alterar as taxas de blastocisto e gestação dos embriões (Tabela 9).

Na PIVE, a análise dos indicadores econômicos pressupondo-se a sexagem fetal por ultra-sonografia no momento do diagnóstico de gestação merece destaque. Observa-se a viabilidade em todos os cenários simulados. Tal comportamento pode ser decorrente de um montante de prenhez similar à técnica tradicional (cenário BaseM), do diagnóstico do sexo precoce a baixo custo e do acréscimo no valor de venda pela prenhez do sexo feminino pressuposto neste trabalho.

Grandes discrepâncias entre os valores para o VPL entre os cenários impostos e sugeridos foram proporcionais às diferenças entre o número de receptoras nas duas situações.

Diversas investigações têm sido realizadas acerca das técnicas de TE e PIVE nos últimos anos (Farin et al., 1999; Gonçalves et al., 2007; Mahli et al., 2008; Pontes et al., 2009). Alguns trabalhos têm relatado o estudo conjunto destas técnicas (Farin et al., 1999; Pontes et al., 2009). Estes trabalhos em sua grande maioria descrevem benefícios reprodutivos diante da adoção destas tecnologias, englobando em sua grande maioria estratégias que correlacionem positivamente métodos de sincronização de receptoras e doadoras a uma maior produção de blastocistos e/ou taxa de prenhez.

Embora se verifique o acréscimo na eficiência reprodutiva diante do citado acima, nada se tem discutido acerca da viabilidade econômica da aplicação destas técnicas, e, principalmente, quando e onde utilizá-la nos sistemas comerciais. Os trabalhos em sua maioria direcionam-se unicamente aos benefícios reprodutivos, sem estudar financeiramente como se comportam variáveis e resultados na atividade como um todo.

Avaliando-se os cenários para TE e PIVE baseados na utilização de sêmen tradicional, foram obtidas menores estimativas para o custo da prenhez diante da sincronização de receptoras para inovulação em tempo fixo. Idéia similar já havia sido demonstrada em

Beltrame (2006) e Beltrame et al. (2007) com inseminação artificial com sêmen convencional na TE.

Na TE (Tabela 8), diante da otimização dos cenários em que a inseminação artificial com sêmen convencional é utilizada, o cenário otimizado (C1M) considerando-se a sincronização de receptoras para inovulação em tempo fixo possibilita a produção de prenhez ao custo de R\$ 1.615,97 cada.

A determinação do número ótimo de receptoras pressupõe o custo mínimo da prenhez. Embora seja variável e individualizado nos diferentes sistemas, uma relação aparente entre as variáveis e um número ótimo de receptoras não foram definidos. Entretanto, a redução da ociosidade no uso de receptoras, e o menor descarte de embriões maximizando a produção do descongelamento foram considerados no modelo de simulação. Neste caso, o modelo foi capaz em todos os cenários de reproduzir uma situação real de escassez e de sobra de receptoras e de embriões, otimizando o número de receptoras que deveria ser utilizado para produzir prenhez com custo mínimo (Tabela 8 e 9).

Comparando-se os cenários onde a sincronização de receptoras foi realizada por aplicação de prostaglandina, um número maior de animais é necessário independente da técnica escolhida (Tabela 8 e 9).

Nos cenários onde a TETF foi considerada, um menor número de receptoras foi necessário para otimização em relação ao protocolo tradicional. Em adicional, um custo inferior pôde ser obtido diante da utilização de menores quantidades de receptoras (TE-TETF – 95 vs PIVE-TETF – 145).

Em uma comparação entre as duas técnicas, observou-se que um montante maior de prenhez foi obtido pela técnica de PIVE em todos os cenários (Tabela 10). Isto decorre de um menor intervalo entre aspirações e, conseqüentemente, uma maior produção de bezerros

Em relação à sincronização de receptoras, os cenários programados para TETF responderam com menores estimativas de custo em comparação aos cenários tradicionais.

Tabela 10. Comparação entre número de prenhez, número de fêmeas e custo da prenhez para as técnicas de produção *in vivo* e *in vitro* de embriões bovinos nos cenários otimizados.

TE / PIVE	Cenário Base – PGF _{2alfa}		TETF – P ₄	
	TE	PIVE	TE	PIVE
Nº de doadoras	5	5	5	5
Nº de receptoras	160	210	95	145
Número de fêmeas	456 ^a	636 ^b	477 ^c	655 ^d
Número de prenhez	912 ^a	1480 ^b	955 ^c	1523 ^d
Custo médio por prenhez	R\$ 1.858,68	R\$ 1.844,12	R\$ 1.615,97	R\$ 1.719,79
(VPL) - Convencional	-R\$ 16.310,45	-R\$ 4.292,32	R\$ 212.862,90	R\$ 184.566,36

Médias seguidas de letras diferentes diferem significativamente (p<0,05)

A disponibilidade de receptoras é um fator crucial no desenvolvimento de técnicas como TE e PIVE. Visto sua escassez e aliado às inconsistências inerentes à técnica, grande proporção dos custos são decorrentes da variabilidade dos resultados. A utilização de protocolos de TETF, pode minimizar a ociosidade de animais e a necessidade de observação de estro.

Destaca-se, que a escolha pela biotécnica não determina a produção de prenhez com menor custo. Prenhez produzidas pela técnica *in vivo* podem custar menos em comparação aos produtos produzidos por PIVE, ou vice-versa. A interação entre os dados de entrada nos cenários e a utilização do número ótimo de receptoras por doadora são fundamentais na reflexão do resultado final e na determinação da técnica a utilizar.

É importante ressaltar que os indicadores econômicos apresentados refletem a viabilidade das técnicas estudadas nos cenários elaborados, e não da atividade, visto não terem sido considerados todos os custos envolvidos. Os indicadores econômicos foram calculados em relação ao momento e oscilações podem ocorrer.

Conclusões

A análise bioeconômica destas técnicas mostra que a sincronização para inovulação em tempo fixo minimiza o número de receptoras na propriedade e conseqüentemente o custo final da prenhez. O uso do número ótimo de receptoras por doadora sugere a produção de prenhezes com menor custo e, conseqüentemente, a escolha pela técnica a se utilizar.

Referências

ABREU FILHO, J.C.F., SOUZA, C.P., GONÇALVES, D.A., CURY, M.V.Q. **Finanças Corporativas**. 3ª ed. rev. Rio de Janeiro: Editora FGV, 2003.

BARREIROS, T.R.R., BORSATO, E.A., LUDWIG JR, H.E., MARQUES, M.O., RIBEIRO JR, M., SILVA, R.C.P., SENEDA, M.M. Eficiência de diferentes protocolos para sincronização de cio em receptoras de embrião em bovinos. **Acta Scientiae Veterinariae** – v. 32, p. 195, Porto Alegre: UFRGS – Out, 2004.

BELTRAME, R.T.; BARIONI, L.G.; MAESTRI, B.D.; QUIRINO, C.R. Economic optimization of the number of recipients in bovine embryo transfer programs. **Scientia Agricola**, v. 64, p. 221-226, 2007.

BELTRAME, R.T.; BARIONI, L.G.; QUIRINO, C.R.; DANTAS, O.D. Probability density function of the number of Embryos collected from superovulated Nelore breed donors. **Scientia Agricola**, v. 66, n.4, p. 447-450, 2009.

BELTRAME, R.T. **Impacto bioeconômico da sexagem de espermatozoides em programas de transferência de embriões e fertilização *in vitro* em zebuínos.** 2010. 113p. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF), Campos dos Goytacazes.

BELTRAME, R.T, QUIRINO, C.R, BARIONI, L.G., DIAS A.J.B, SOUZA, P.M. Análise da produção de embriões na fertilização *in vitro* e transferência de embriões para doadoras Nelore. **Ciência Animal Brasileira (UFG)**, v.11, n.1, 2010.

FARIN, P.W.; SLENNING, B.D.; BRITT, J.H. Estimates of pregnancy outcomes based on selection of bovine embryos produced *in vivo* or *in vitro*. **Theriogenology**, v.52, p.659-670,1999.

GALLI, C.; DUCHI, R.; CROTTI, G.; TURINI, P. Bovine embryo technologies. **Theriogenology**, v.59, p.599-616, 2003.

GONÇALVES, P.B.D.; BARRETA, M.H.; SANDRI, L.R.; FERREIRA, R.; ANTONIAZZI, A.Q. Produção *in vitro* de embriões bovinos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.31(2), p. 212-217, 2007.

MALHI, P.S.; ADAMS, G.P.; MAPLETOFT, R.J.; SINGH, J. Superovulatory response in a bovine model of reproductive aging. **Animal Reproduction Science**. v.109(1-4), p. 100-109. 2008.

NASSER, L.F., REIS, E.L., OLIVEIRA, M A., BÓ, G.A., BARUSELLI P.S. Comparison of four synchronization protocols for fixed-time bovine embryo transfer in *Bos indicus* _ *Bos taurus* recipients. **Theriogenology**, v 62 (9), p 1577-1584, 2004.

OSTERGAARD, S.; FRIGGENS, N.C.; CHAGUNDA, M.G.G. Technical and economic effects of an inline progesterone indicator in a dairy herd estimated by stochastic simulation. **Theriogenology**, v. 64, p. 819-843, 2005.

PENEDO, R.C. **A taxa Interna de Retorno na análise de investimentos**. 1ed – Brasília: Lettera Editora Ltda.2005

PONTES, J. H. F.; NONATO-JUNIOR, I.; SANCHES, B. V.; ERENO-JUNIOR, J. C.; UVO, S.; BARREIROS, T. R. R.; OLIVEIRA, J. A.; HASLER, J. F.; SENEDA, M. M. Comparison of embryo yield and pregnancy rate between *in vivo* and *in vitro* methods in the same Nelore (*Bos indicus*) donor cows. **Theriogenology**, v. 71(4), p. 690-697. 2009.

PUCCINI, A.L. **Matemática financeira Objetiva e aplicada**. 6^a ed, São Paulo: Saraiva, 1999.

SAS. User's Guide Statistics. **SAS** Institute Inc, 1999.

SLENNINGL, B.D.; WHEELER, M.B. Risk evaluation for bovine embryo transfer services using computer simulation and economic decision theory. **Theriogenology**, v.31, p 653-673, 1989.

SOUZA, J.A.T., CARTER, J.A., BACELAR, F.H., PORTELA, F.J.A., SANTOS, P.A.C. Influência da raça, sincronismo do estro, tipo de corpo lúteo, e concentrações de P sobre a taxa de gestação de receptoras de embriões bovinos. **Acta Scientiae Veterinariae** – v. 32, p 202, Porto Alegre: UFRGS – Out, 2004b

SPELL, A.R., BEAL, W.E., CORHA, L.R., LAMB.C.G. Evaluate recipient and embryos factors that affect pregnancy rates of embryo transfer in beef cattle. **Theriogenology**, v. 56, p 287-297, 2001.

TOMITA, S. Y. **Viabilidade prática e custo da indução de gestações gemelares em bovinos de corte, a partir de embriões produzidos *in vitro* e criopreservados para transferência direta.** 70 f. Tese (Doutorado). FCAV, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2003.

Modelo de simulação como ferramenta de auxílio à tomada de decisões em biotécnicas reprodutivas: III - Impacto da sexagem de espermatozóides

Renato Travassos Beltrame * ⁽¹⁾; Celia Raquel Quirino ⁽²⁾; Luis Gustavo Barioni ⁽³⁾; Vera
Fernanda Martins Hossepian de Lima ⁽⁴⁾

⁽¹⁾ Bolsista do CNPq – Brasil , CCTA – UENF, rtbeltrame@yahoo.com.br

⁽²⁾ Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias - CCTA - UENF, Av. Alberto Lamago, 2000 - Campos dos Goytacazes – RJ- Brasil.CEP 28.013-600, crq@uenf.br

⁽³⁾ Embrapa Informática - barioni@cnptia.embrapa.br

⁽⁴⁾ Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal – UNESP-Jaboticabal – veralima@fcav.unesp.br

Resumo - O objetivo do presente trabalho, foi utilizar o modelo de simulação elaborado em Beltrame (2010), para implementar um aplicativo de simulação no software de programação Delphi Rad Studio 2007[®], permitindo ao usuário inserir os parâmetros referentes aos índices técnicos e econômicos da seleção de sexo como variáveis de entrada. O modelo desenvolvido possibilitou uma comparação da seleção de sexo mediante obtenção dos espermatozóides pela técnica de citometria de fluxo (C3) e centrifugação em gradiente de densidade (C4) tanto para produção *in vivo* (TE) como para produção *in vitro* (PIVE) de embriões. Foi possível concluir que a análise da sexagem de espermatozóide sobre as técnicas de TE e PIVE sugere que a utilização de doses de sêmen sexado não dilui o custo da prenhez. Em adicional a análise de sensibilidade pode identificar o número ótimo de receptoras (C3M – 115 e C4M - 105) por doadora e, conseqüentemente, o mínimo custo da prenhez no cenário proposto

Termos de indexação: bovinos, simulação, modelagem, fertilização *in vitro*.

Simulation model as taking decision advantages in reproductive biotechniques: III –

Effect of spermatozoa sexing

Abstract – The aim of this study was to use the simulation model developed in Beltrame (2010) to implement a simulation applicative in the programming software Delphi Rad Studio 2007[®]. This software allows the user to insert reproductive and economical data from sex selection to start the analysis. The model allowed to compare the results from sex selection by flow cytometry (C3) and in the density gradient centrifugation (C4) *in vivo* (ET) and *in vitro* production (IPV) of bovine embryos. It was possible to conclude that the sex selection in the ET and IPV biotechniques using sexed semen will not decrease pregnancy cost. In additional, sensibility analysis may identify the optimal recipient number to use (C3M – 115 e C4M - 105) and consequently the minimal pregnancy cost in the proposed situation.

Index terms: cattle, *in vitro* fertilization, modeling, simulation

Introdução

A eficiência reprodutiva exerce um importante impacto sobre a viabilidade econômica dos sistemas de produção de corte ou leite em bovinos. Entretanto, poucas são as propriedades que se beneficiam das tecnologias reprodutivas e ainda em menor número aquelas que exibem resultados economicamente promissores (Johnson, 2005).

O controle da seleção do sexo em animais permite rápido progresso genético, alta produtividade por área e flexibilidade do sistema de produção diante da possibilidade de seleção do sexo desejado (Rath et al., 2009). Entretanto, a escolha antecipada do sexo dos descendentes deve ser efetiva e eficiente, resultando em fertilidade próxima ou igual ao método convencional. Ainda deve possuir um preço acessível que permita sua expansiva aplicação (Hohenboken, 1999; Madalena et al., 2004).

A quantidade de DNA nos cromossomos X e Y varia entre as espécies. Cientificamente esta diferença é utilizada para a separação eficiente de espermatozóides. Com base nesta diferença, duas técnicas principais podem ser utilizadas para a seleção do sexo dos espermatozóides: a citometria de fluxo e a centrifugação em gradiente de densidade (Hossepian de Lima, 2007).

A disseminação da técnica de sexagem dos espermatozóides nos últimos anos também tem sido evidente. Seja para utilização do sêmen sexado na produção *in vivo* (Baruseli et al., 2007; Hayakawa et al., 2009) ou PIVE (Lu et al., 1999; Wilson et al., 2006; Wheeler et al., 2006; Blondin et al., 2009; Xu et al., 2009), diversos trabalhos têm sido escritos. Estes trabalhos em sua grande maioria descrevem benefícios reprodutivos diante da adoção destas tecnologias, englobando em sua grande maioria estratégias que correlacionem positivamente métodos de sincronização de receptoras, estratégias para obtenção de sêmen sexado e diferenciados tratamentos às doadoras que traduzem em uma maior produção de blastocistos e/ou taxa de prenhez.

Embora se verifique o acréscimo na eficiência reprodutiva diante do exposto acima, nada se tem discutido acerca da viabilidade econômica da aplicação da seleção de sexo, e principalmente quando utilizá-la nos sistemas comerciais de TE e PIVE tradicionais.

Diante do descrito, este trabalho teve como objetivo implementar o modelo de simulação, descrito no trabalho 3, no software de programação Delphi Rad Studio 2007[®] e analisar o impacto da seleção de sexo no resultado bioeconômico das biotécnicas de produção *in vivo* (TE) e *in vitro* (PIVE) de embriões de bovinos.

Materiais e Métodos

Por intermédio do modelo de simulação elaborado no trabalho 3, implementou-se um aplicativo de simulação no software de programação Delphi Rad Studio 2007[®], permitindo ao

usuário inserir os parâmetros referentes a taxa de gestação, acuidade e valores econômicos da seleção de sexo como variáveis de entrada.

No intuito de promover a visualização dos resultados da simulação em situações onde a seleção de sexo foi considerada, o cenário base (baseado na sincronização de receptoras com prostaglandina) na TE e PIVE (Tabela 1) foi utilizado como referência para determinação dos efeitos da sexagem em termos econômicos.

Tabela 1. Taxas e períodos estabelecidos no cenário base para receptoras a serem utilizadas nas técnicas de produção *in vivo* e *in vitro* de bovinos.

Intervalo protocolo/cio - TE(dias)	21
Protocolo de sincronização da receptora	Prostaglandina *
Ciclicidade do rebanho (%)	70
Taxa de sincronização das receptoras (%)	70
Taxa de aptidão (%)	60

Os cenários C3 e C4 representam as entradas da taxa de prenhez por embrião não congelado, taxa de prenhez por embrião descongelado, e taxa de acuidade (percentual macho / fêmea) (Tabela 2).

Tabela 2. Taxas reprodutivas considerados na utilização da sexagem de espermatozóides pela técnica de citometria de fluxo (C3) e centrifugação em gradiente de densidade (C4) para as técnicas de produção *in vivo* (TE) e *in vitro* (PIVE) de embriões

SEXAGEM	TE ⁽¹⁾		PIVE ⁽²⁾	
	C3	C4	C3	C4
Método de sexagem / Índices	C3	C4	C3	C4
Taxa prenhez fresco (%)	35	50	27 ⁽³⁾	40
Taxa prenhez descong. (%)	20	25	20	25
Taxa de acuidade	85	65	85	65

Fonte: Lu et al., 1999; Wheeler et al., 2006; Wilson et al., 2006; Hossepian de Lima, 2007; Blondin et al., 2009, Hayakawa et al., 2009; Lucio et al., 2009; Resende et al., 2009; Xu et al, 2009⁽³⁾

¹ TE: Produção *in vivo* de embriões

² PIVE: Produção *in vitro* de embriões

Critérios e Pressupostos

As resoluções por simulação consideraram as ineficiências inerentes ao sistema. Diante da variabilidade do número de embriões recuperados ou obtidos por intermédio de aspiração folicular, a ociosidade de receptoras e o congelamento de embriões apresentam impacto direto no custo da prenhez. É necessário, portanto, definir um critério para estabelecer o ponto ótimo. Nesse estudo, decidiu-se que o critério seria o custo por prenhez. O número ótimo de receptoras, considerando a técnica de seleção de sexo, seria aquele no qual o custo por prenhez fosse mínimo para cada cenário e em cada biotécnica reprodutiva.

De forma complementar as outras estimativas de custo já consideradas no trabalho 4 foram utilizadas neste estudo. Os valores referentes à compra de sêmen sexado, e ao valor de venda das prenhez sexadas de macho e fêmea estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Valores (em reais R\$) considerados para compra da dose de sêmen sexado e venda das prenhez produzidas pela técnica de produção *in vivo* ou *in vitro* de bovinos.

1 - Custo do Sêmen / dose / doadora	
<i>Convencional</i>	R\$ 150,00
Sexado fêmea	R\$ 400,00
Sexado macho	R\$ 200,00
2 - Valor das prenhez de acordo com o sexo	
Indeterminado	R\$ 2.500,00
Macho	R\$ 2.500,00
Fêmea	R\$ 4.000,00

A inserção das estimativas de custo no modelo tiveram como intuito permitir o cálculo dos indicadores econômicos de rentabilidade Valor Presente Líquido (VPL) e a Taxa Interna de Retorno (TIR), a determinação do número ótimo de receptoras, e a escolha da técnica mais rentável nos cenários propostos. Utilizou-se como referência valores de mercado obtidos em Novembro de 2008, e paridade de câmbio de U\$S 1 para R\$ 2,60. As simulações foram baseadas em um negócio que obtivesse um rendimento próximo ao oferecido anualmente pela caderneta de poupança (6%).

Para efeito de desenvolvimento do modelo e no intuito de aproximar as estimativas de custo à realidade, assumiu-se que todas as doadoras foram superovuladas com subsequente colheita dos embriões por 3 vezes e/ou aspiradas durante período similar (6 meses), levando-se a partir daí, uma gestação a termo. As correlações entre coletas para uma mesma doadora não foram consideradas. Projetou-se a produção de embriões sexados para TE e PIVE através da distribuição exponencial negativa, ajustando-se o parâmetro da distribuição para produzir

uma média de 4,2 embriões por coleta ou aspiração (Baruselli et al., 2007). Considerou-se que todos os fetos foram sexados por ultra-sonografia no momento do diagnóstico de gestação.

A compra e venda de doadoras, embora tenha sido considerada biologicamente (substituição a cada 6 meses), teve efeito financeiro nulo, visto terem sido efetuadas as relações de compra e venda por preços idênticos e momentos similares da dinâmica temporal que teve duração de dez anos.

Para custos relativos a doadoras, valores similares foram utilizados na TE e PIVE para aquisição, valor residual e manutenção destes animais. Informações adicionais de manutenção destes animais são demonstradas na Tabela 4.

Tabela 4. Custo de doadoras referentes a aquisição, valor residual e custo de manutenção considerados para simulação das biotécnicas de produção *in vivo* ou *in vitro* de embriões de bovinos.

1 - Custo de aquisição	R\$ 15.000,00
2- Valor residual	R\$ 15.000,00
3- Manutenção	
Alimentação	
Pastagem (R\$/animal/mês)	R\$ 18,75
Minerais (R\$/animal/mês)	R\$ 4,67
Suplementação - concentrado/mês	R\$ 15,00
Identificação/monitoramento/ mês	R\$ 0,50
Mão-de-obra (R\$/UA/mês)	R\$ 10,27
Total mensal	R\$ 49,19

Mortalidade de animais, variáveis climáticas e alteração de variáveis nutricionais não foram consideradas, sendo objeto de pesquisas futuras.

Em cada cenário proposto as simulações foram repetidas 5000 vezes. Foram estabelecidas as médias do número de prenhezes e as taxas de eficiência de cada cenário. A análise de sensibilidade do número de receptoras foi executada em cada caso na tentativa de identificar a relação ótima de uso de receptoras por doadora. Estatisticamente comparou-se se existiam diferenças entre o número médio de prenhezes entre os cenários simulados (Teste de Tukey (SAS, 1999)). A partir destes resultados uma extrapolação para a comparação monetária foi realizada.

Resultados e Discussão

O modelo desenvolvido possibilitou uma comparação da seleção de sexo mediante obtenção dos espermatozoides pela técnica de citometria de fluxo (C3) e centrifugação em gradiente de densidade (C4) tanto para TE como para PIVE.

As simulações tiveram como ponto de partida a existência do cenário “base” ou tradicional. O modelo implementado foi capaz de gerar resultados a partir das informações estabelecidas para entrada. Nas tabelas 5 e 6 verifica-se que a partir dos cenários propostos, procedimentos de otimização foram executados para TE (C3M) e PIVE (C4M), sugerindo dados de entrada diferentes para a variável número de receptoras, proporcionando em todos os casos, valores inferiores de custo para produção das prenhezes.

Os resultados encontrados sugeriram a não utilização da TIR como parâmetro de decisão nos projetos envolvendo biotecnologia da reprodução associada à variabilidade das variáveis de seleção de sexo. Tal fato decorreu da impossibilidade de obter um valor absoluto para TIR e efetuar o processo de simulação pelo software desenvolvido (Delphi Rad Studio-

2007) em alguns dos cenários propostos. Assim, as comparações foram realizadas pelo VPL e pela taxa de desconto.

O impacto da sexagem de espermatozoides nas biotécnicas de TE e PIVE bem como o comportamento e otimização de receptoras nas situações elaboradas foram estabelecidos neste trabalho. Analisando-se os resultados, sugere-se que a utilização de doses de sêmen sexado, seja pela técnica de citometria de fluxo ou por gradiente por densidade, não possui o comportamento econômico de diluir o custo da prenhez e conseqüentemente obter menores estimativas de custo para a mesma. O número de prenhezes obtidos ao final da simulação ao incorporar a sexagem de espermatozóides no modelo é consideravelmente menor em comparação às técnicas tradicionais usadas (Trabalho 4) em todos os cenários elaborados para TE e PIVE. Relatos similares em relação ao decréscimo de produtividade são citados nos trabalhos de Madalena et al. (2004) e Rath et al. (2009).

Para a TE, na quase totalidade dos cenários simulados, foi possível identificar a inviabilidade dos mesmos quando o número sugerido inicialmente para receptoras foi utilizado (200 animais). Em três dos quatro cenários, valores negativos para o VPL foram encontrados (Tabela 5). Analisando-se os cenários otimizados (C3M e C4M) percebeu-se o efeito da variabilidade nas situações propostas. Na TE, diante da utilização do sêmen sexado para inseminação das doadoras (C3, C3M, C4, C4M) apenas o cenário C4M, que considera sexagem por gradiente de densidade, apresentou viabilidade quando da utilização do número de receptoras sugerido pelo software desenvolvido.

Tabela 5 - Resultados do modelo de simulação para projeção da biotecnologia de Produção *in vivo* em fazendas, sob um horizonte de dez anos, considerando seleção de sexo pela técnica de citometria de fluxo (C3 e C3M) e gradiente de densidade (C4 eC4M).

TE	Cenário Base – PGF _{2α}			
	Método de sexagem	C3	C3M	C4
Nº de doadoras	5	5	5	5
Nº de receptoras	200	115	200	105
Número de fêmeas	365 ^a	381 ^b	390 ^c	381 ^b
Número de prenhez	429 ^e	448 ^f	600 ^g	586 ^h
Custo médio por prenhez	R\$ 6.029,16	R\$ 2.906,17	R\$ 4.556,87	R\$ 2.315,10
(VPL) – Sexagem	-R\$ 1.394.366,26	-R\$ 62.106,85	-R\$ 1.204.921,41	R\$ 139.635,36

Médias seguidas de letras diferentes diferem significativamente (p<0,05)

Aspectos de viabilidade do sêmen sexado também foram estudados por Ruvuna et al. (1992), e Madalena et al. (2004). Estes autores se basearam no VPL para avaliar a utilização do sêmen sexado na IA e TE, demonstrando perspectivas otimistas para implementação desta biotecnologia.

Uma análise das diferentes proporções de seleção de sexo envolvendo características de crescimento de produtos de TE utilizando como parâmetro de decisão o VPL foi realizada por Ruvuna et al. (1999), que relataram correlação positiva entre a acuidade da seleção e o VPL obtido.

As simulações de Madalena et al. (2004) exibiram a relação entre o valor da dose de sêmen sexado e a diferença entre os valores pagos pelos produtos. Embora este trabalho tenha sido realizado somente com IA, estes autores sugeriram que a redução na taxa de fertilidade usando IA com sêmen sexado em relação ao sêmen convencional poderia influenciar negativamente as estimativas de VPL projetadas. Esta suposição foi confirmada no presente

trabalho, já que um número menor de prenhez foi obtida quando a sexagem de espermatozoides foi projetada para as técnicas de TE e PIVE.

Na TE (Tabela 5), diante da otimização dos cenários onde a sexagem de espermatozoides foi aplicada, as estimativas de custo da prenhez foram de R\$ 2.315,10 na utilização de sêmen obtido por gradiente de densidade e cerca de 20% superior (R\$ 2.906,17) no procedimento onde a citometria de fluxo foi considerada.

Nos casos onde a sexagem de espermatozoides é utilizada, dois fatores são cruciais para viabilidade da atividade: o número de prenhez do sexo desejado e o montante adicional pago diante da confirmação de uma prenhez desse sexo (Madalena et al., 2004). Ruvuna et al. (1992) encontraram grandes benefícios do aumento na proporção de machos ao usar a sexagem de espermatozoides para produção de touros. Smeaton e Vivanco (2002) notaram que o valor da sexagem de sêmen na TE para rebanhos de corte foi dependente dos valores pagos por machos e fêmeas ao nascimento.

Embora na PIVE tradicional, a análise dos indicadores econômicos pressupondo-se a sexagem fetal por ultra-sonografia no momento do diagnóstico de gestação tenha merecido destaque (Trabalho 4), o mesmo comportamento não é visto quando se considera a seleção de sexo na PIVE. A redução na produção de um grande número de prenhez do sexo desejado representa pequena diferença nas receitas obtidas. Diante da utilização de sêmen sexado, a técnica de ultra-sonografia tem como fundamento a confirmação pelo sexo escolhido (Tabela 6).

Ao analisar a PIVE (Tabela 6) o cenário otimizado mostrou que uma prenhez decorrente de sêmen onde a seleção de sexo pelo método de citometria foi utilizada custou R\$ 2.717,26 (C3M). Em cenário similar a utilização de sêmen proveniente da técnica de gradiente por densidade seria capaz de gerar uma prenhez 22% mais barata (Tabela 6). Neste caso a redução do número de blastocistos (Blondin et al., 2009) e, conseqüentemente, no

número de prenhez aliada à variação do número de receptoras ao final da simulação possui impacto direto no acréscimo no custo da prenhez.

Tabela 6 - Resultados do modelo de simulação para projeção da biotecnologia de PIVE em fazendas, sob um horizonte de dez anos considerando seleção de sexo pela técnica de citometria de fluxo (C3 e C3M) e gradiente de densidade (C4 e C4M).

PIVE	Cenário Base – PGF _{2alfa}			
	C3	C3M	C4	C4M
Nº de doadoras	5	5	5	5
Nº de receptoras	200	145	200	140
Número de fêmeas	657 ^e	583 ^f	714 ^g	632 ^h
Número de prenhez	773 ^e	687 ^f	1098 ^g	972 ^h
Custo médio por prenhez	R\$ 3.526,90	R\$ 2.717,26	R\$ 2.766,10	R\$ 2.122,47
(VPL) – Sexagem	-R\$ 577.513,11	R\$ 39.343,40	-R\$ 232.669,79	R\$ 423.802,96

Médias seguidas de letras diferentes diferem significativamente (p<0,05)

Comparando-se os cenários otimizados onde se utilizam espermatozóides sexados (Tabela 5 e 6), percebe-se uma superioridade no número total de prenhez geradas no cenário baseado no sêmen produzido por gradiente de densidade. Assim como relatado por alguns autores (Andersson et al., 2006) e utilizado neste trabalho, sugere-se uma redução nas taxas de prenhez quando sêmen sexado por citometria de fluxo é utilizado.

Embora diversos autores tenham encontrado benefício econômico diante do uso de sêmen sexado (Taylor et al., 1988; Ruvuna et al., 1992; Madalena et al., 1994) em cenários similares, destaca-se que em decorrência das ineficiências do procedimento de seleção de sexo, redução do número de blastocistos e baixa taxa de prenhez, estimativas de custo da prenhez inferiores às técnicas tradicionais não foram encontradas neste trabalho (Figura 1). De maneira diferente, a análise do VPL corrobora o descrito por Madalena et al., (2004),

possibilitando maiores receitas (visto pagamento diferenciado) na medida em que um maior número de prenhez do sexo escolhido é obtido.

A pressuposição da sexagem fetal na elaboração dos cenários onde a seleção de sexo foi projetada teve como intuito eliminar falhas decorrentes na taxa de acuidade da técnica escolhida e precisar a venda de uma prenhez de um sexo determinado. Neste estudo, ao contrário do trabalho 4, esta técnica não foi responsável por acréscimo nas receitas.

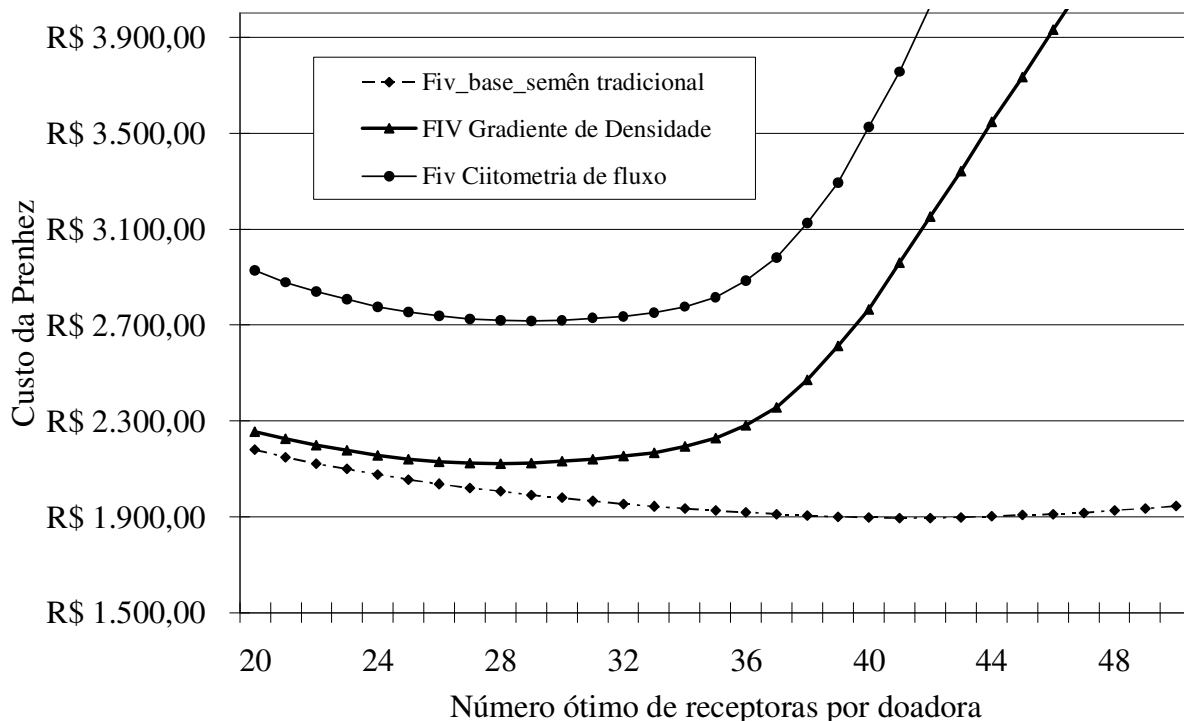


Figura 1. Variação do custo da prenhez em reais (R\$) diante da utilização de sêmên tradicional e sexado para a produção *in vitro*.

Ao comparar a média do número de prenhez do sexo feminino gerado ao final do procedimento de simulação, distinções numéricas são apresentadas (Figura 2 e 3) quando considera a utilização do sêmên sexado por citometria de fluxo ou gradiente de densidade nas técnicas de produção *in vivo e in vitro* de embriões. Apesar de taxas inferiores de acuidade, fica evidenciado um maior número de fêmeas produzidas ao final da simulação pelo método

de gradiente de densidade na TE e PIVE. Este fato decorre da diferença entre a taxa de prenhez considerada nos dois métodos de sexagem.

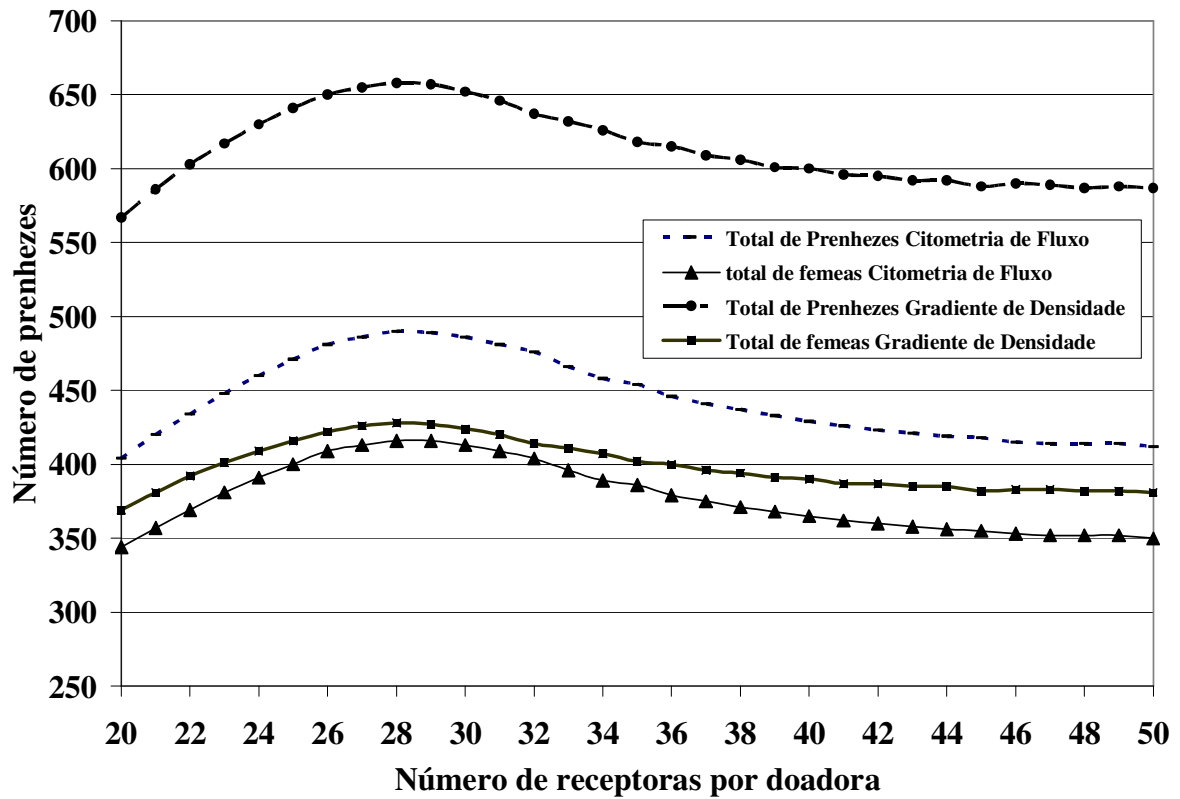


Figura 2. Estimativa do número total de prenhez e do número total de fêmeas produzidas nos cenários utilizando sêmen sexado para produção *in vivo* de embriões.

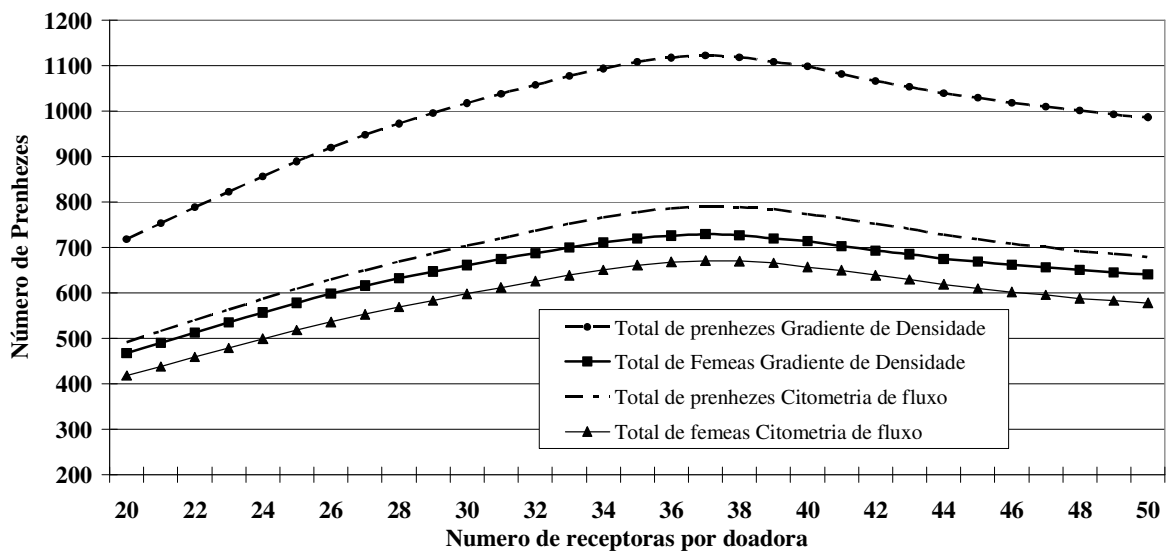


Figura 3. Estimativa do número total de prenhez e do número total de fêmeas produzidas nos cenários utilizando sêmen sexado para produção *in vitro*.

O comportamento gráfico do cenário C4M (Gradiente de Densidade) na PIVE é demonstrado na figura 4. Evidencia-se que não existe uma relação entre o mínimo custo da prenhez, o número total de prenhez de ambos os sexos, prenhez do sexo feminino e os produtos obtidos por descongelamento. Após a razão de 30 receptoras por doadora utilizada, acréscimo nos valores das variáveis destacadas não contribui para decréscimo do custo da prenhez.

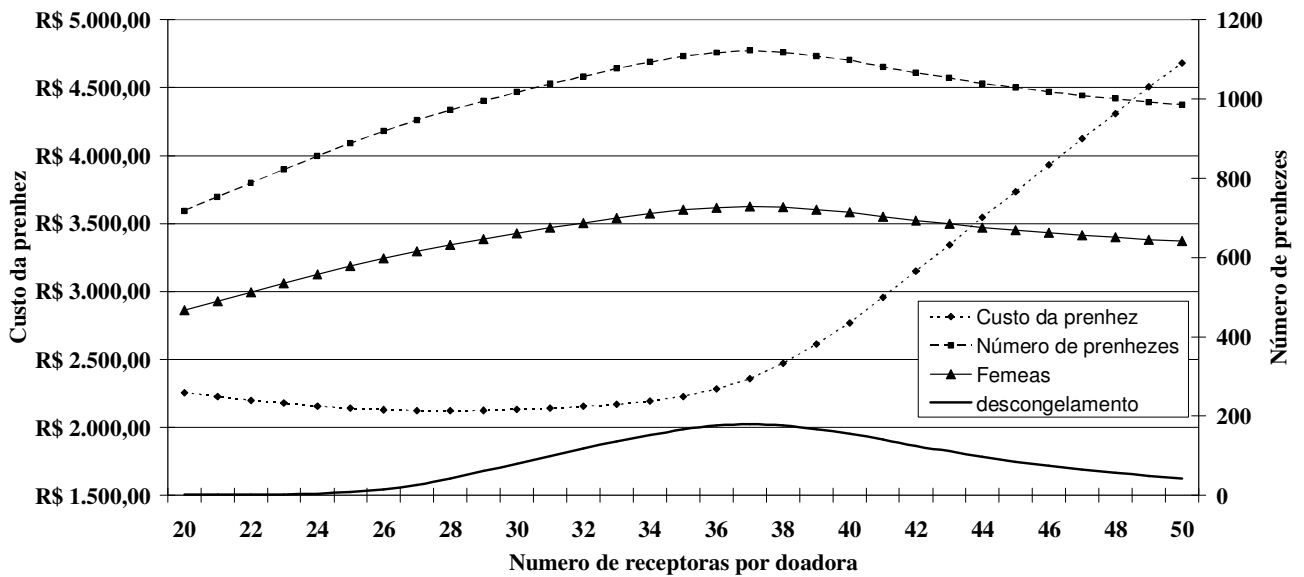


Figura 4. Comportamento das curvas do custo da prenhez, número de prenhez, número de fêmeas e número de produtos por descongelamento no cenário baseado na utilização de sexagem de espermatozoides por gradiente de densidade na produção *in vitro* de embriões bovinos.

Com relação à determinação do número ótimo de receptoras por doadora, este trabalho demonstrou que a análise de sensibilidade permite sua identificação. Embora o número de receptoras seja variável e individualizado nos diferentes sistemas, sempre existirá um número de receptoras que minimizará o custo da prenhez. Este número de receptoras, em qualquer cenário e biotécnica idealizada, será responsável por reduzir a ociosidade no uso de receptoras e apresentar o menor desperdício embrionário, maximizando a produção oriunda do congelamento de embriões.

Ao comparar as biotécnicas de TE e PIVE considerando seleção de sexo, percebe-se que um montante maior de prenhez foi obtido pela PIVE em todos os cenários (Tabela 7). Isto decorre de um menor intervalo entre aspirações considerado e, conseqüentemente, um incremento na produção de bezerros.

Tabela 7. Comparação entre número de prenhez, número de fêmeas e custo da prenhez para as técnicas de produção *in vivo* e *in vitro* de embriões bovinos da raça Nelore.

TE / PIVE	Cenário Base – PGF _{2α}			
	Citometria de Fluxo		Gradiente de Densidade	
	TE	PIVE	TE	PIVE
Nº de doadoras	5	5	5	5
Nº de receptoras	115	145	105	140
Número de fêmeas	380 ^e	583 ^f	381 ^e	632 ^g
Número de prenhez	448 ^e	687 ^f	586 ^g	972 ^h
Custo médio por prenhez	R\$ 2.906,17	R\$ 2.717,26	R\$ 2.315,10	R\$ 2.122,47
(VPL) – Sexagem	-R\$ 62.106,85	R\$ 39.343,40	R\$ 139.635,36	R\$ 423.802,96

Médias seguidas de letras diferentes diferem significativamente (p<0,05)

Conclusões

A análise da sexagem de espermatozóide sobre as técnicas de TE e PIVE sugere que a utilização de doses de sêmen sexado não dilui o custo da prenhez, que a utilização do número ótimo de receptoras por doadora estabelece o mínimo custo da prenhez, e que, o método de sexagem de espermatozóides por gradiente de densidade minimiza o custo da prenhez e produz um número maior de fêmeas em comparação à citometria de fluxo nos cenários estudados.

Referências

ANDERSSON, M.; TAPONEN, J.; KOMMERI, M.; DAHLBOM, M. Pregnancy Rates in Lactating Holstein–Friesian Cows after Artificial Insemination with Sexed Sperm. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 41, p. 95–97, 2006.

BARUSELLI, P.S.; SOUZA, A.H.; MARTINS, C.M.; UNNO, L.; AYRES, H.; ANDRADE, A.F.C.; CLÁUDIA, et al. Sêmen sexado: inseminação artificial e transferência de embriões. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 31(3), p.374-381, 2007.

BELTRAME, R.T. **Impacto bioeconômico da sexagem de espermatozoides em programas de transferência de embriões e fertilização *in vitro* em zebuínos**. 2010. 113p. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF), Campos dos Goytacazes.

BLONDIN, P.; BEAULIEU, M.; FOURNIER, V.; MORIN, N.; CRAWFORD, L.; MADAN, P.; KING, W. A. Analysis of bovine sexed sperm for IVF from sorting to the embryo. **Theriogenology**, v.71(1), p 30-38, 2009.

FARIN, P.W.; SLENNING, B.D.; BRITT, J.H. Estimates of pregnancy outcomes based on selection of bovine embryos produced *in vivo* or *in vitro*. **Theriogenology**, v.52, p.659-670, 1999.

GONÇALVES, P.B.D.; BARRETA, M.H.; SANDRI, L.R.; FERREIRA, R.; ANTONIAZZI, A.Q. Produção *in vitro* de embriões bovinos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.31(2), p. 212-217, 2007.

HAYAKAWA, H.; HIRAI, T.; TAKIMOTO, A.; IDETA, A.; AOYAGI, Y. Superovulation and embryo transfer in Holstein cattle using sexed sperm. **Theriogenology**, v. 71(1), p. 68-73, 2009.

HOHENBOKEN, W.D. Applications of sexed semen in cattle production. **Theriogenology**, v.52(8), p.1421-1433, 1999.

HOSSEPIAN DE LIMA, V. F. M . Avanços metodológicos na seleção do sexo de espermatozoides bovinos para utilização no melhoramento genético e na produção animal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, p. 219-228, 2007.

JOHNSON, S.K. Possibilities with today's reproductive technologies. **Theriogenology**, v.64, 639-656, 2005.

LU, K.H.; CRAN, D.G.; SEIDEL, J.G.E. *In vitro* fertilization with flow-cytometrically-sorted bovine sperm. **Theriogenology**. v.52(8), p. 1393-1405, 1999.

LUCIO, A.C; OLIVEIRA, L.Z; CELEGHINI, E.C.C. ; ANDRADE, A.F.C. ; ARRUDA, R.P; HOSSEPIAN DE LIMA, V. F. M . Influence of bovine subspecies in the recovered rate after the separation of x-bearing sperm by centrifugation in discontinuos percoll density gradient. **Animal Reproduction**, v. 6, p. 336-336, 2009.

MADALENA, F.E.; JUNQUEIRA, F.S. The value of sexed bovine sêmen. **Journal of Animal Breeding and Genetics**. v.121, p.253-259, 2004.

MALHI, P.S.; ADAMS, G.P.; MAPLETOFT, R.J.; SINGH, J. Superovulatory response in a bovine model of reproductive aging. **Animal Reproduction Science**. v.109(1-4), p. 100-109, 2008.

PONTES, J. H. F.; NONATO-JUNIOR, I.; SANCHES, B. V.; ERENO-JUNIOR, J. C.; UVO, S.; BARREIROS, T. R. R.; OLIVEIRA, J. A.; HASLER, J. F.; SENEDA, M. M. Comparison of embryo yield and pregnancy rate between *in vivo* and *in vitro* methods in the same Nelore (*Bos indicus*) donor cows. **Theriogenology**, v. 71(4), p. 690-697, 2009.

RATH, D.; MOENCH-TEGEDER, G.; TAYLOR, U.; JOHNSON, L.A. Improved quality of sex-sorted sperm: A prerequisite for wider commercial application. **Theriogenology**, v.71, p.22-29, 2009.

RESENDE, M.V; BEZERRA, M. B.; PERECIN, D.; ALMEIDA, A.O.; LUCIO, A.C; HOSSEPIAN DE LIMA, V. F. M . Sepapartion of x-bearing bovine sperm by centrifugation in continuos percoll and optiprep density gradient: effect in sperm viability and *in vitro* embryo production. **Ciência Animal Brasileira** (UFG), v. 10, p. 581-587, 2009.

RUVUNA, F.; TAYLOR, J.F.; WALTER, J.P.; TURNER, J.W.; THALLMAN, R.M. Bioeconomic evaluation of embryo transfer in beef production systems: III. Embryo lines for producing bulls. **Journal of Animal Science**, v.70, p.1091-1097, 1992.

SAS. User's Guide Statistics. **SAS** Institute Inc, 1999.

SMEATON, D.C.; VIVANCO, W. H. Profitability of new reproductive technologies in beef production systems. **Proceedings of New Zealand Society of Animal Production**, v.62, p.133–137, 2002.

TAYLOR, J.F.; PHILLIPS, K.R.; TOMASZEWSKI, M.A. Net present value and economic merit of sexed semen and splitting units of semen for Australian Holsteins. **Journal of Dairy Science**, v. 71, p. 3100-3111, 1988.

WILSON, R.D.; FRICKE, P.M.; LEIBFRIED-RUTLEDGE, M.L.; RUTLEDGE, J.J.; PENFIELD C.M.S.; WEIGEL, K.A. *In vitro* production of bovine embryos using sex-sorted sperm. **Theriogenology**, v.65, p.1007-1015, 2006.

WHEELER, M.B.; RUTLEDGE, J.J.; AMY, F.B.; TARA, V.; SAMANTHA, M.; BEEBE, D.J. Application of sexed semen technology to *in vitro* embryo production in cattle. **Theriogenology**, v.65(1), p. 219-227, 2006.

XU, J.; CHAUBAL, S.A.; DU, F. Optimizing IVF with sexed sperm in cattle. **Theriogenology**, v.71(1), p. 39-47. 2009.