

RELAÇÃO ENTRE O DIÂMETRO FOLICULAR, VOLUME DO CORPO LÚTEO E A TAXA DE PREENHEZ EM PROTOCOLOS DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO EM BOVINOS

BRUNA MION¹; PATRÍCIA CARVALHO GINDRI²; LUCAS TEIXEIRA HAX³,
JORGEA PRADIEE⁴, LÍGIA MARGARETH CANTARELLI PEGORARO⁵; AUGUSTO
SCHNEIDER⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – brunamion.vet@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – patricia.gindri@yahoo.com.br; ³Conjunto Agrotécnico Visconde da Graça – lucashax@gmail.com; ^{4,5}Embrapa Clima Temperado – jorgeapradiee@hotmail.com,
ligia.pegoraro@embrapa.br

⁶Universidade Federal de Pelotas – augustoschneider@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A inseminação artificial (IA) é uma biotécnica reprodutiva efetiva para rapidamente aumentar o progresso genético de rebanhos bovinos (VISHWANATH, 2003). Tratamentos hormonais desenvolvidos para controlar a função folicular e luteal têm permitido o controle da sincronização do momento da ovulação, possibilitando a realização da IA sem a necessidade de detecção de estro (BÓ et al., 2002). Esses protocolos hormonais são chamados de Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF) e são amplamente utilizados em várias partes do mundo (PEREIRA et al., 2014), uma vez que facilitam o uso da IA, melhorando a eficiência reprodutiva dos rebanhos (SÁ FILHO et al., 2010).

Na América do Sul, os protocolos de IATF geralmente iniciam com a inserção de um dispositivo intravaginal de progesterona e aplicação de Benzoato de estradiol (BE) (MENEGETTI et al., 2009). A duração do tratamento com progesterona varia entre 5 e 9 dias e é realizada a administração de um agente luteolítico no momento da retirada do dispositivo (MAPLETOFT et al., 2003). A indução da ovulação pode ser realizada através de Cipionato de Estradiol (ECP), administrado no momento da retirada do dispositivo, BE administrado 24 horas após, ou GnRH administrado 54 horas após da retirada (MAPLETOFT et al., 2003). A IA ocorre 48-60 horas após a retirada do dispositivo (SÁ FILHO et al., 2010).

A fertilidade das vacas leiteiras tem sido positivamente associada com o diâmetro do folículo ovulatório no momento da IATF (VASCONCELOS et al., 2001). Em tratamentos hormonais, o diâmetro folicular afeta o desenvolvimento embrionário inicial e a taxa de concepção (MOHKARI et al., 2016). Estudos realizados em rebanhos de corte demonstraram que maiores folículos no momento da IATF resultam em melhor taxa ovulatória e, conseqüentemente, maior taxa de prenhez (SÁ FILHO et al., 2010). Além disso, o diâmetro folicular está correlacionado com o tamanho do corpo lúteo (CL) e a concentração de progesterona após a ovulação (PFEIFER et al., 2009), que é essencial para a manutenção da gestação.

Dessa forma, o objetivo desse estudo foi avaliar a relação entre o diâmetro folicular e o volume do CL sobre a taxa de prenhez de bovinos leiteiros submetidos a protocolos de IATF.

2. METODOLOGIA

Nesse estudo foram utilizadas 62 vacas (de diferentes categorias), das raças Holandês e Jersey, provenientes de duas propriedades leiteiras (Conjunto

Agrotécnico Visconde da Graça e SISPEL-Embrapa Clima Temperado). Do total de animais, 29 vacas estavam em lactação ($196 \pm 49,62$ dias em leite) com uma produção média de 16.47 ± 4.65 L/dia (ECC: $2,66 \pm 0,22$), 22 vacas eram secas (ECC: $3,06 \pm 0,32$) e 13 eram novilhas (ECC: $2,92 \pm 0,19$). As fêmeas passaram por avaliação ultrassonográfica no início do estudo (Aquila pro, Esaote, São Paulo, SP, Brasil, transdutor linear 6 MHz) e os animais sem desordens reprodutivas foram submetidos a IATF. O protocolo consistiu na inserção de um dispositivo intravaginal de progesterona (1 g, Primer®, Agener União, São Paulo/SP) e administração de 2 mg de BE (RIC-BE®, Agener União) no dia 0. No dia 8 era realizada a remoção do dispositivo intravaginal e era administrado 0,150 mg de *d*-Cloprostenol (Prolise®, Agener União) e 1 mg de ECP (ECP®, Zoetis, NJ, USA). A IA foi realizada após 48 horas da retirada do dispositivo, com doses de sêmen comercial com fertilidade conhecida. Antes da realização da IA, foi realizada avaliação ultrassonográfica para mensuração do folículo dominante.

As fêmeas passaram por avaliação ultrassonográfica 7 dias após a realização da IA para determinação da ocorrência da ovulação. Além disso, um grupo de animais ($n=30$) passou por avaliação ultrassonográfica para mensuração do CL formado. O volume foi calculado através do cálculo do $V=4/3 \times \pi \times R^3$, conforme descrito por VASCONCELOS et al. (2001). O valor médio de R foi obtido através das mensurações de circunferência e área do CL ($C=2\pi R$; $A=\pi R^2$). O diagnóstico de gestação foi realizado através de avaliação ultrassonográfica 30 dias após a inseminação.

Os dados foram avaliados através do software estatístico GraphPad® 6.01 (GraphPad software, Inc., CA, USA). O diâmetro folicular de cada categoria foi avaliado por one-way ANOVA; a relação entre o diâmetro folicular e a circunferência do corpo lúteo foi avaliada através de correlação de Pearson; e a relação do diâmetro folicular com a prenhez e a relação do volume do corpo lúteo com a prenhez foram avaliadas através do teste qui-quadrado.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Quatro fêmeas não ovularam e foram excluídas da análise estatística. O diâmetro folicular foi avaliado conforme as diferentes categorias (novilhas, secas, lactantes) e como não houve diferença ($P=0.9$), as análises subsequentes foram realizadas sem separação por categoria animal.

Não foi observada diferença na taxa de prenhez entre os diferentes diâmetros foliculares ($P=0.47$), conforme demonstrado na Tabela 1. Vários estudos (PERRY et al., 2007; SÁ FILHO et al., 2010; VASCONCELOS et al., 2001) demonstraram uma relação positiva entre o diâmetro folicular e a taxa de prenhez obtida em protocolos de IATF. Contudo, na maioria dos trabalhos, o número de animais utilizados foi superior ao utilizado em nosso estudo. O desenvolvimento de um folículo saudável e a ovulação de um oócito competente é essencial para o estabelecimento da gestação (MOHKTARI et al., 2016). O diâmetro indica a capacidade e maturidade folicular (PERRY et al., 2007) e está relacionado com vários aspectos que influenciam a concepção, como a qualidade oocitária (ARLOTTO et al., 1996), taxa ovulatória (SÁ FILHO et al., 2010), concentração de estradiol (LOPES et al., 2007) e demonstração de estro durante a IATF (SÁ FILHO et al., 2010), que também está associado com a probabilidade de prenhez (RICHARDSON et al., 2016). Dessa forma, a utilização de um maior número de animais poderia demonstrar o efeito do diâmetro folicular sobre a taxa de prenhez.

Tabela 1: Relação entre o diâmetro folicular e a taxa de prenhez em bovinos leiteiros submetidos a protocolo de IATF.

| Diâmetro folicular | Taxa de prenhez |
|--------------------|-----------------|
| ≤11.4 mm | 42,8% (6/14) |
| 11.5-12.4 mm | 53,8% (7/13) |
| 12.5-13.4 mm | 53,3% (8/15) |
| 13.5-14.4 mm | 85,7% (6/7) |
| ≥14.5 mm | 55,0% (5/9) |

Houve correlação ($r=0,58$) ($P=0,0035$) entre o diâmetro folicular e o volume do CL no ciclo subsequente, concordando com resultados encontrados por PFEIFER et al. (2009) e VASCONCELOS et al. (2001). A correlação entre diâmetro folicular e volume luteal é esperada, já que a formação do CL ocorre através da transformação de células foliculares em células luteais, portanto folículos menores por ter menor quantidade de células antes da ovulação darão origem a um CL com menos células e, conseqüentemente, com menor volume (PERRY; PERRY, 2005).

Animais com maior volume de CL apresentaram maior taxa de prenhez ($P=0,03$), conforme demonstrado na Tabela 2. Um estudo realizado por VASCONCELOS et al. (2001) demonstrou que CLs de menor volume resultam em menor taxa de prenhez, uma vez que a capacidade do CL de produzir progesterona é dependente do seu volume e do fluxo sanguíneo (PFEIFER et al., 2009). A progesterona após a IA influencia o estabelecimento da prenhez e estimula a secreção de fatores endometriais essenciais para o desenvolvimento do embrião (MANN; LAMING, 1999). Além disso, uma rápida taxa de aumento de progesterona após a ovulação leva a um aumento da sobrevivência embrionária (BUTLER et al., 1996), contribuindo para o aumento da taxa de prenhez.

Tabela 2: Relação entre volume do corpo lúteo e taxa de prenhez de bovinos leiteiros submetidos a protocolo de IATF.

| Volume do Corpo Lúteo | Taxa de prenhez |
|-------------------------|-----------------|
| ≤5.4 cm ³ | 41,6% (5/12) b |
| 5,5-8.4 cm ³ | 63,0% (7/13) b |
| ≥8.5 cm ³ | 100% (5/5) a |

^{a,b}Valores com letras diferentes diferem estatisticamente ($P\leq 0,05$).

4. CONCLUSÕES

O volume do CL está relacionado com a taxa de prenhez de bovinos leiteiros submetidos a protocolos de IATF, onde CL maiores resultam em maior taxa de prenhez. Nesse estudo, o diâmetro folicular não foi relacionado com a taxa de prenhez, apesar de influenciar o volume do CL.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARLOTTO, T., SCHWARTZ, J. L., FIRST, N. L., LEIBFRIED-RUTLEDGE, M. L. Aspects of follicle and oocyte stage that affect in vitro maturation and development of bovine oocytes. **Theriogenology**, Wisconsin, v. 45, n. 5, p. 943-956, 1996.
- BÓ, G. A., BARUSELLI, P. S., MORENO, D., CUTAIA, L., CACCIA, M., TRÍBULO, R., MAPLETOFT, R. J. The control of follicular wave development for self-appointed embryo transfer programs in cattle. **Theriogenology**, Cordoba, v. 57, p. 53-72, 2002.



- BUTLER, W. R., CALAMAN, J. J., BEAM, S. W. Plasma and milk urea nitrogen in relation to pregnancy rate in lactating dairy cattle. **Journal Animal Science**, Ithaca, v. 74, n. 4., p. 858-865, 1996.
- LOPES, A. S., BUTLER, S. T., GILBERT, R. O., BUTLER, W. R. Relationship of pre-ovulatory follicle size, estradiol concentrations and season to pregnancy outcome in dairy cows. **Animal Reproduction Science**, Tjele, v. 99, p. 34-43, 2007.
- MANN, G. E., LAMMING, G. E. The Influence of Progesterone During Early Pregnancy in Cattle. **Reproduction in Domestic Animals**, Loughborough, v. 34, p. 269-273, 1999.
- MAPLETOFT, R. J., MARTÍNEZ, M. F., COLAZO, M. G., KASTELIC, J. P. The use of controlled internal drug release devices for the the regulation of bovine reproduction. **Journal Animal Science**, Saskatoon, v. 81, suppl. 2, p.28-36, 2003.
- MENEGHETTI, M., SÁ FILHO, O. G., PERES, R. F., LAMB, G. C., VASCONCELOS, J. L. M. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows I: basis for development of protocols. **Theriogenology**, Botucatu, v. 72, n. 2, p. 179-189, 2009.
- MOHKTARI, A., KAFI, M., ZAMIRI, M. J., AKBARI, R. Factors affecting the size of ovulatory follicles and conception rate in high-yielding dairy cows. **Theriogenology**, Shiraz, v. 85, p. 747-753, 2016.
- PEREIRA, M. H. C., RODRIGUES, A. D. P., CARVALHO, R. J., WILTBANK, M. C., VASCONCELOS, J. L. M. Increasing length of na estradiol and progesterone timed artificial insemination protocol decreases pregnancy losses in lactating dairy cows. **Journal Dairy Science**, Botucatu, v. 97, p. 1454-1464, 2014.
- PERRY, G. A., PERRY, B. L. Effect of preovulatory concentrations of estradiol and initiation of stansing estrus on uterine pH in beef cows. **Domestic Animal Endocrinology**, Brookings, v. 34, p. 333-338, 2008.
- PERRY, G. A., SMITH, M. F., ROBERTS, A. J., MACNEIL, M. D., GEARY, T. W. Relationship between size of the ovulatory follicle and pregnancy success in beef heifers. **Journal Animal Science**, Miles, v. 85, p. 684-689, 2007.
- PFEIFER, L. F.M., MAPLETOFT, R. J., KASTELIC, J. P., SMALL, J. A., ADAMS, G. P., DIONELLO, N. J., SINGH, J. Effects of low versus physiologic plasma progesterone concentrations on ovarian follicular development and fertility in beef cattle. **Theriogenology**, Saskatoon, v. 72, p. 1237-1250, 2009.
- RICHARDSON, B. N., HILL, S. L. STEVENSON, J. S., DJIRA, G. D., PERRY, G. A. Expression of estrus before fixed-time AI affects conception rates and factors that impact expression of estrus and the repeatability of expression of estrus in sequential breeding seasons. **Animal Reproduction Science**, Brookings, v. 166, p. 133-140, 2016.
- SÁ FILHO, M. F., CRESPILO, A. M., SANTOS, J. E. P., PERRY, G. A., BARUSELLI, P. S. Ovarian follicle diameter at timed insemination and estrous response influence likelihood of ovulation and pregnancy after estrous synchronization with progesterone or progestin-based protocols in suckled *Bos indicus* cows. **Animal Reproduction Science**, São Paulo, v. 120, p. 23-30, 2010.
- VASCONCELOS, J. L. M., SARTORI, R., OLIVEIRA, H. N., GUENTHER, J. G., WILTBANK, M. C. Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rate. **Theriogenology**, Botucatu, v. 56, p. 307-314, 2001.
- VISHWANATH, R. Artificial insemination: the state of the art. **Theriogenology**, Hamilton, v. 59, p. 571-584, 2003.