

COMPARAÇÃO DE DIFERENTES PROTOCOLOS PARA A SINCRONIZAÇÃO DE ESTRO E INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO EM VACAS DA RAÇA NELORE EM ANESTRO PÓS-PARTO

Comparison between different protocols to estrus synchronization and artificial insemination time fixed in Nelore cows in anestrus

VIANNA, G.N.O.¹; KOZICKI, L.E.²; WEISS, R.R.³; SEGUI, M.S.²; MEIRELLES, C.¹; EFING, A.C.²; BREDA, J.C.²; GIACOMELLI, A.²

¹ Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da UFPR

² Pontifícia Universidade Católica do Paraná, PUC-PR

³ Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal do Paraná, UFPR

Endereço para correspondência: Gerson Vianna - gerson.vianna@sulbbs.com.br

RESUMO

Neste estudo comparou-se diferentes métodos de sincronização de estro em 139 vacas da raça Nelore, em novembro de 2006 no município de Arapoti-PR. Foram utilizados quatro protocolos de sincronização de estro. No primeiro grupo (G1), foi utilizado pessário vaginal de poliuretano, impregnada com 360 mg de acetato de medroxiprogesterona (MAP) e 2 mg de Benzoato de Estradiol (BE) (=dia 0). Após a remoção (=dia 8), foi administrado 150 µg de cloprostenol, na submucosa vulvar (para todos os grupos) e 1 mg de cipionato de estradiol (ecp). No grupo dois (G2) foram utilizados pessários vaginais idênticos aos usados no G1. Na remoção (dia 8) foi administrado 0,75 µg de cloprostenol e 1 mg de cipionato de estradiol. No grupo três (G3), foi utilizado dispositivo intravaginal (sob a forma de Y) reaproveitado e impregnado com 360 mg de MAP e 2 mg de BE. Após 8 dias era removido e administrava-se 150 µg de cloprostenol e 1 mg de cipionato de estradiol. No grupo quatro (G4), foi utilizado idêntico dispositivo intravaginal ao usado no G3 e após removido (dia 8), aplicava-se 0,75 µg de cloprostenol sem o ecp. Para os grupos G1, G2, G3 a inseminação artificial (IA) foi realizada em tempo fixo às 56 horas após a retirada do pessário vaginal, sem a observação de estro. No G4 a IA era realizada 12 horas após a observação visual de estro. O diagnóstico de gestação foi efetuado por palpação retal após 60 dias. Concluiu-se que os diferentes protocolos de sincronização de estro utilizados não influenciaram a taxa de prenhez.

Palavras-chave: acetato de medroxiprogesterona, cipionato de estradiol, bovinos

ABSTRACT

In this study different methods of estrus synchronization in 139 Nelore cows in November 2006 in Arapoti-PR, was compared. Four protocols for estrus synchronization was applied. In the first group (G1), was used dispositive vaginal device, impregnated with 360 mg of medroxiprogesterone acetate (MAP) and 2mg of estradiol benzoate (BE). After remotion (day 8), 150 µg of cloprostenol was in the vulva submucosa administered (for all the groups) and 1 mg of estradiol cypionate. In group two (G2) were used as vaginal device impregnated with 360 mg of MAP. After remotion (8th day), 0,75 µg of cloprostenol was injected. In group three (G3), a dispositive intravaginal device re-impregnated with 360 mg of MAP was used and 2mg of BE. After remotion (day 8), the cows received 150 µg of cloprostenol and 1 mg of ecp. In group four (G4), a dispositive intravaginal device re-impregnated with 360 mg of MAP was used and after remotion, 0,75 µg of cloprostenol was injected. For groups G1, G2, G3 the artificial insemination (AI) was performed in a fixed time of 56 hours after the removal of the progestagens. In the group 4, the AI was performed 12 hours after the observation of the estrus. The diagnosis of pregnancy was performed via rectal palpation after two months from the AI. It was concluded that the different protocols used in this research to synchronization of estrus do not influence the rate of pregnancy.

Key words: medroxyprogesterone acetate, estradiol cypionate, bovine.

INTRODUÇÃO

Em função da significativa importância da genética sobre a raça Nelore para a produção de carne, principalmente no Brasil, torna-se fundamental o desenvolvimento de biotecnologias reprodutivas para melhorar a eficiência e a rentabilidade dos rebanhos bovinos brasileiros. A sincronização do estro (SC), como um tema bastante pesquisado atualmente, entra como alternativa favorável neste contexto, por proporcionar a facilitação do manejo reprodutivo das fazendas, seja concentrando o período de monta em período mais favorável, seja padronizando os lotes de bezerros nascidos, acarretando período favorável à venda dos produtos bem como favorecendo a homogeneidade dos lotes de novilhas para a reposição do rebanho.

No rebanho bovino de corte, fatores como o estado nutricional das vacas durante a estação reprodutiva e as falhas na detecção do estro, são entraves que dificultam a maior difusão da inseminação artificial (IA) como técnica melhoradora de rebanhos (Cardellino e Osório, 1999). Segundo dados da Associação Brasileira de Inseminação Artificial, menos de 7% das fêmeas bovinas em reprodução no Brasil são inseminadas artificialmente (ASBIA, 2003).

Pesquisas que visam o melhor entendimento da dinâmica folicular ovariana bovina trazem à tona alternativas de como superar limitações ligadas à detecção de cio, utilizando-se de protocolos de SC, visando aumentar a taxa de serviço (Bó e Baruselli, 2002). Estes protocolos têm demonstrado a redução do intervalo parto–concepção, podendo promover significativas melhorias na eficiência reprodutiva de rebanhos de corte (Binelli, 2000).

A associação de progestágeno com o estradiol no início do tratamento resulta em uma boa taxa de SC, além de promover um retorno à ciclicidade em vacas anéstricas lactantes (Bridges et al., 1999). Além da capacidade de regredir o folículo dominante e induzir a luteólise quando aplicado no início do tratamento, o estradiol também passou a ser empregado, como alternativa para sincronizar a ovulação. Quando os níveis séricos de progesterona estão muito baixos, o estradiol promove um *feedback* positivo, estimulando o pico pré-ovulatório de LH. Assim sendo, o estradiol induz a ovulação quando aplicado 24 horas após a remoção dos implantes intravaginais de progesterona (Bó, 2002).

Em função da facilidade de utilização, os hormônios análogos à prostaglandina F_{2α}, associados aos progestágenos sintéticos, são bastante utilizados em protocolos de SC em bovinos de corte. A liberação diária de acetato de medroxiprogesterona (MAP) pela utilização de pessários vaginais, resulta em elevadas concentrações séricas de progesterona (P₄), impossibilitando o pico pré-ovulatório de LH e a ocorrência de estros durante o tratamento (Almeida et al., 2006). Segundo Mihm (1999) os tratamentos com progestágenos no período pós-parto induzem à retomada da ciclicidade. Em fêmeas bovinas tratadas unicamente com progestágenos, verificou-se a ocorrência de folículos dominantes persistentes. Por este motivo, a associação dos progestágenos aos ésteres de estradiol, tem sido fortemente utilizada em protocolos que objetivam a sincronização de ondas foliculares e dos estros. A associação de tais fármacos também tem sido utilizada no tratamento de vacas em anestro durante o período pós-parto por Bó et al., (2008).

Segundo Wehrman et al. (1997), injeções diárias de progesterona durante um certo período são capazes de sincronizar o estro. Inicialmente, utilizava-se progestágenos por longo período como 12-14 dias. Este período possibilitava uma boa sincronização de estro e ovulação, porém era geralmente associado a uma baixa fertilidade, atribuída à espontânea maturação de oócitos dentro dos folículos dominantes persistentes. Por outro lado, existem pesquisas que indicam que este folículo persistente pode ser induzido a ovular e formar um CL com atividade normal, que supostamente é capaz de manter uma gestação.

A sincronização de estro de um elevado número de vacas ciclando e não ciclando, foi altamente eficaz ao empregar-se um progestágeno por 7 dias, com uma aplicação de benzoato de estradiol (BE) no dia da inserção e uma injeção de prostaglandina F 2 alfa (PGF₂α) no dia da remoção; uma segunda dose de BE era aplicado após 48 horas. Com este protocolo detectou-se 98% de animais em estro, no período de quatro dias, para as vacas sincronizadas, contra 93% de estro, no período de três semanas, para as vacas não sincronizadas, obtendo-se 62% e 63% respectivamente na taxa de concepção (Bridges et al., 1999; Macmillan, 1999).

O cipionato de estradiol (ECP) é um éster de estradiol com baixa solubilidade em água e período de ação longo. Concentrações plasmáticas de estradiol foram prolongadas (98-170h) após a administração de elevadas doses (5-10 mg) de ECP. Entretanto, quando novilhas de corte ovariectomizadas foram tratadas unicamente com 2 mg de ECP, a duração de estro não esteve diferente de novilhas com estro espontâneo, sugerindo que reduzidas doses de ECP podem ser úteis em protocolos de sincronização de estro (Calozo et al., 2003).

Desta forma a presente experimentação objetivou comparar vários protocolos destinados à sincronização de estro e à inseminação artificial em tempo fixo em vacas da raça Nelore.

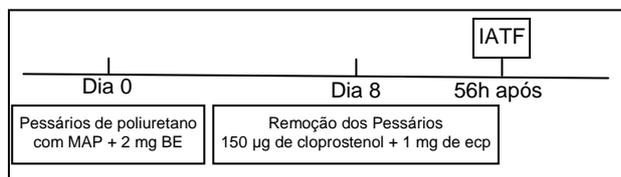
MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no mês de novembro de 2006 em uma fazenda de bovinos de corte, criados extensivamente e localizada no município de Arapoti -PR. Foram utilizadas 139 vacas da raça Nelore em anestro pós puerperal de 50 dias e que encontravam-se com o escore da condição corporal entre 2,0 a 2,5 na escala de 0 a 5, segundo critérios de Wright e Russel (1984). A forrageira predominante no pasto foi a *Brachiaria brizantha*, tendo os animais acesso à suplementação de sal mineral ad libitum. Os grupos foram formados aleatoriamente da seguinte forma:

- G1 - 14 fêmeas sincronizadas com pessário vaginal elaborados com poliuretano (buchas) medindo 3,5 x 7,0 cm, impregnado com 360 mg de acetato de medroxiprogeterona (MAP), esterilizadas pelo óxido de etileno (figura 1).
- G2 - 13 vacas, as quais receberam pessário vaginal de poliuretano como o usado no G1 (figura 2).
- G3 - 24 fêmeas receberam dispositivos intra-vaginais (CIDR®), que foram recondicionados, isto é haviam sido utilizados normalmente por três vezes em sincronizações de cio em vacas em temporadas reprodutivas anteriores; estes dispositivos foram intensamente lavados com água corrente e re-impregnados com 360 mg de acetato de medroxiprogeterona

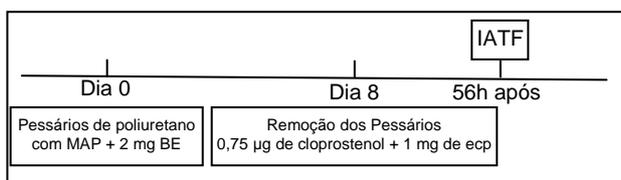
(MAP) e esterilizados com óxido de etileno (figura 3).

- G4, 88 fêmeas receberam o dispositivo intravaginal reaproveitado (figura 4).



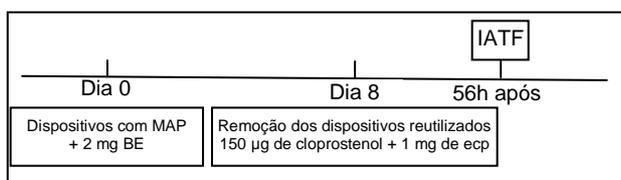
Notas: MAP = acetato de medroxiprogesterona, BE = benzoato de estradiol, ecp = cipionato de estradiol, IATF = inseminação artificial em tempo fixo.

Figura 1 – Protocolo de IATF do grupo 1 de vacas que receberam o pessário vaginal de poliuretano impregnado com acetato de medroxiprogesterona (n=14).



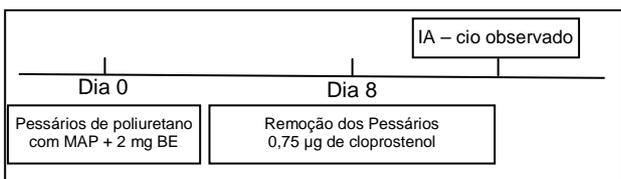
Notas: MAP = acetato de medroxiprogesterona, BE = benzoato de estradiol, ecp = cipionato de estradiol, IATF = inseminação artificial em tempo fixo.

Figura 2- Protocolo de IATF do grupo 2 de vacas que receberam o pessário vaginal de poliuretano impregnado com acetato de medroxiprogesterona (n=13).



Notas: MAP = acetato de medroxiprogesterona, BE = benzoato de estradiol, ecp = cipionato de estradiol, IATF = inseminação artificial em tempo fixo.

Figura 3 - Protocolo de IATF do grupo 3 de vacas que receberam pessário vaginal reutilizado e reimpregnado com acetato de medroxiprogesterona (n=24).



Notas: MAP = acetato de medroxiprogesterona, BE = benzoato de estradiol.

Figura 4- Protocolo de inseminação artificial com estro visível do grupo 4 de vacas que receberam pessário vaginal reutilizado e reimpregnado com acetato de medroxiprogesterona (n=88)

A sistemática da inseminação artificial (IA), para os grupos de animais G1, G2 e G3 foi a inseminação artificial em tempo fixo (IATF) isto é: sem observação de estro, 56 horas após a retirada do dispositivo intravaginal, segundo Cutaia et al. (2001) e Ayres et al. (2006).

No G4, as IA foram realizadas 12 horas após a observação visual do estro, utilizando-se rufiões. Todos os animais foram inseminados uma vez somente e as IA foram realizadas por um único técnico. A administração do cloprostenol em todos os grupos foi na submucosa vulvar.

Como um dado adicional, na retirada dos progestágenos observou-se o número de perda do pessário vaginal. O diagnóstico de gestação foi realizado por palpação retal das fêmeas, 60 dias após a realização do experimento.

Os dados foram analisados comparando-se as taxas de prenhez obtidas em cada grupo, utilizando-se o teste do qui-quadrado.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao se aplicar o tratamento estatístico relativamente ao percentual de fertilidade dos dados da tabela 1, verificou-se que não houve diferença estatística entre os grupos deste experimento. Resultados semelhantes foram verificados nos G3 e G4, grupos estes, nos quais foi usado o dispositivo intravaginal reaproveitado.

Conforme relatado, o G4 constituiu animais que foram inseminados ao se verificar o cio visível, e onde esperava-se que haveria melhor percentual de prenhez. Não obstante, não houve diferença entre os grupos, corroborando dados de Martinez et al. (2000), os quais apresentam resultados semelhantes nos animais tratados, aos obtidos na presente pesquisa (38% versus 37,5 e 34,1 % de prenhez), porém bastante superiores aos

Tabela 1 – Dados de vacas da raça nelore, submetidas a quatro diferentes protocolos de sincronização de estro, e uma inseminação artificial com o tempo fixo, no município de Arapoti (PR), 2006. (n=139).

Grupo de animais	Animais (n)	Perdas pessário (n)	Gestações positivas (n)	Perdas pessário (%)	Gestações positivas (%)
G1(pessário vag. Poliuretano)	14	3	2	21,4	14,3 a
G2 (pessário vag. Poliuretano)	13	3	4	23,1	30,8 b
G3 (dispositivo em forma de Y)	24	2	9	8,3	37,5 c
G4 (dispositivo em forma de Y)	88	6	30	6,8	34,1 d

verificados no grupo de animais controles (76% obtidos por Martinez et al., 2002) de fertilidade ao utilizarem a progesterona (P4) e BE, em fêmeas lactantes. Os baixos resultados da presente pesquisa poderiam ser atribuídos ou ao reaproveitamento dos dispositivos intravaginais (muito embora contivessem 380 mg de MAP impregnado) ou devido a IATF às 56 horas pós remoção dos pessários vaginais, ou ainda em função de os animais terem sido inseminados com uma única dose. Dados relativos ao uso do ECP, Cutaia et al. (2005) obtiveram resultados de prenhez de 63,2% ao reportarem a aplicação deste hormônio, 24 horas após a retirada do dispositivo intravaginal com progesterona, e não no mesmo dia ao da remoção do progestágeno como ocorreu no presente trabalho. É possível que esta diferença de horas, possa ter afetado os resultados da presente pesquisa.

Ainda à visualização da tabela 1, observa-se os piores resultados ($p > 0,05$), nos animais que receberam os pessários vaginais confeccionados com MAP no pessário vaginal de poliuretano (buchas). Uma das razões, poderia residir no fato da ocorrência de reações inflamatórias vaginais mais intensas, que às observadas

com o dispositivo intravaginal reaproveitado relatadas por (Bó, 2002). Em semelhante protocolo para sincronizar o cio de bovinos, Colazo et al. (1999) avaliaram o uso de P₄ e estradiol em vacas *Bos taurus* x *Bos indicus* utilizando dispositivo intravaginal e verificaram taxa de prenhez de 54,1%. Assim, verifica-se que mesmo nos relatos de outros pesquisadores há discrepâncias nos resultados obtidos. No presente experimento, deve ser salientado, que foram computados dados de somente uma IA executada.

Reportando-se ainda à tabela 1, muito embora não tenha sido objetivo deste estudo, a maior porcentagem de perda de pessário vaginal foi a dos grupos 1 e 2 respectivamente 21,4 e 23,1 %, nos quais foi utilizado o pessário intravaginal de poliuretano (buchas). Não poderia deixar de ser discutido o fato, de que os animais utilizados neste experimento apresentaram condição de escore corporal abaixo do considerado desejado, (entre 2,0 e 2,5) na escala de 1,0 a 5,0 conforme citado anteriormente. Humblot et al. (1996) sugerem que os animais tenham um escore de condição corporal mínimo de 2,5 para se obter bons resultados de prenhez. Segundo Gottschall (2002), o estado

corporal do animal está intimamente ligado à fertilidade do mesmo. Os benefícios da sincronização de estro seguida de IATF somente serão atingidos caso o estado corporal das fêmeas não esteja comprometido. Um correto manejo nutricional na propriedade é imprescindível, uma vez que as características reprodutivas são de baixa herdabilidade e, conseqüentemente, são muito mais influenciadas pelo meio (Vasconcelos, 1998). Segundo relatos de Fernandes et al. (2001) o estado fisiológico dos animais é extremamente importante ao se desejar sincronizar o cio e aplicar a IATF em bovinos de corte.

CONCLUSÃO

Nas condições em que foi conduzido o experimento, verificou-se que não houve diferenças entre os protocolos utilizados, visando a sincronização do cio dos animais com a IATF.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, A. B., BERTAN, C. A., GASPAR, P. S., ROSSA, L. A. F., BINELLI, M., MADUREIRA, E. H. Avaliação da reutilização de implantes auriculares contendo norgestomed associados ao valerato ou ao benzoato de estradiol em vacas nelore inseminadas em tempo fixo. **Brazilian Journal of Research and Animal Science**, v. 43, n. 4, p. 456-465, 2006.
- ASBIA - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL. **Manual de Inseminação Artificial**, São Paulo, 2003, 89 p.
- BINELLI, P.S. Estratégias anti-luteolíticas para melhora da sobrevivência embrionária em bovinos. **Controle Farmacológico do Ciclo Estral em Ruminantes**, São Paulo, p.99-114, 2000.
- BÓ, G.A.; GUERRERO, D.C.; ADAMS, G.P. alternative approaches to setting up donor cows for superstimulation. **Theriogenology**, v.69, p.81-87, 2008
- BÓ, G. Dinâmica folicular y tratamientos hormonales para sincronizar la ovulación em el ganado bovino. **Memórias XI Congresso Venezuelano de Producción e Industria Animal**. Valera, ULA-Trujillo, p. 1-17, 2002.
- BÓ, G., BARUSELLI, P.S. Programas de inseminación artificial a tiempo fijo en el Ganado bovino en regions subtropicales y tropicales. **Memórias XI Congresso Venezuelano de Producción e Industria Animal**. Valera, ULA-Trujillo, p. 1-15, 2002.
- BRIDGES, P.J., LEWIS, P.E., WAGNER, W.R. Follicular growth, estrus and pregnancy after fixed-time insemination in beef cows treated with intravaginal progesterone inserts and estradiol benzoate. **Theriogenology**, v. 52, p.573-583, 1999.
- CALOZO, M. G., KASTELIC, J. P., MAPLETOFT, R. J. Effects of estradiol cypionate (ECP) on ovarian follicular dynamics, synchrony of ovulation and fertility in CIDR – based, fixed – time programs in beef heifers. **Theriogenology**, v. 60, p. 855-865, 2003.
- CARDELLINO, A.R., OSÓRIO, S.C.J. **Melhoramento Animal para Agronomia, Veterinária e Zootecnia**. Ed. Universitária/UFPel., Pelotas, p.153, 1999.
- COLAZO, M. G.; BÓ, G. A.; ILLUMINANT, H.; MEGLIA, G.; SCHMIDT, E.E.; BARTOLOMÉ, J. Fixed-timed artificial insemination in beef cattle using CIDR-B devices, progesterone and estradiol benzoate. **Theriogenology**, v.51, p.404, 1999.

- CUTAIA, L.; MORENO, D.; VILLATA, M. L.; BÓ, G. A. Synchrony of ovulation in beef cows treated with progesterone vaginal devices and estradiol benzoate administered at device removal or 24 hours later. **Theriogenology**, v. 55, p. 408, 2001.
- CUTAIA, L.; BALLA, E.; BÓ, G. A. Efecto del momento de la administración de benzoato o cipionato de estradiol para inducir la ovulación em vaquillonas tratadas com DIB e inseminadas a tiempo fijo. In: **VI Simposio Internacional de Reprodução Animal**, Córdoba, Argentina, p 394, 2005.
- DRIANCOURT, M.A. Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals. Implications for manipulation of reproduction. **Theriogenology**, v.55, p. 1211-1239, 2001.
- FERNANDES, P.; TEIXEIRA, A. B.; CROCCI, A. J.; BARROS, C. M. Timed artificial insemination in beef cattle using GnRH agonist, PGF2 α and estradiol benzoate (EB). **Theriogenology**, v.55, p.1521-1532, 2001.
- GOTTSCHALL, C. S. **Desmame de terneiros de corte. Como? Quando? Por quê?** Ed. Agropecuária, Guaíba. 2002, 139p.
- HUMBLLOT, P.; GRIMARD, B.; MIALOT, J. P. Sources of variation of postpartum cyclicity, ovulation and pregnancy rates in suckled beef cows treated with progestagen and PMSG. **Proceedings of Society. Theriogenology Meeting**, Kansas City, USA, p.36-45.1996.
- MACMILLAN, K. L. Pharmacological control of the Oestrus cycle to improbê the reproductive performance of cattle. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.23, n.2, p. 61-64, 1999.
- MARTÍNEZ, M. F.; ADAMS, G. P.; BERGFELT, D.; MAPLETOFT, R. J. Induction of follicular wave emergence for estrus synchronization and artificial insemination in heifers. **Theriogenology**, v.54, p.757-769, 2000.
- MARTÍNEZ, M. F.; KASTELIC, J. P.; ADAMS, G. P.; COOK, B.; OLSON, W.O.; MAPLETOFT, R. J. The use of a progesterone-releasing device (CIDRB) or melengestrol acetate with GnRH, LH, or estradiol benzoate for fixedtime al in beef heifers. **Journal of Animal Science.**, v.80, p.1746-1751, 2002.
- MIHM, M. Delayed resumption of cyclicity in postpartum dairy and beef cattle. **Reproduction Domestic Animal**, v. 34, p. 277-284, 1999.
- MOREIRA, R.J.C. **Uso do protocolo Crestar® em tratamentos utilizando benzoato de estradiol, PGF2 α , PMSG e GnRH para controle do ciclo estral e ovulação em vacas de corte.** Piracicaba, São Paulo - Brasil, 2002. 62p. Dissertação de mestrado.
- SHORT, R. E.; BELLOWS, R. H.; STAIGMILLER, R. B.; BERARDINELLI, J.G; CUSTER, E. E. Physiological mechanisms controlling anestrus and infertility in postpartum beef cattle. **Journal of Animal Science.**, v.68, p. 799-816, 1990.
- STEVENSON, J. Sincronización de celos y de ovulaciones en ganado bovino de leche y carne. In: Congresso. Argentino de Reprodução Animal, V. Cabia. **Anais...Cabia.** 2000.
- VASCONCELOS, J. L. M. **Avaliação do protocolo de sincronização de ovulação "ovsynch" e de fatores relacionados à associação de produção de leite e taxa de concepção.** Jaboticabal, 1998, 128p. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista.

- WEHRMAN, M. E.,FIKE, K. E., MELVIN, E. J., FINDER, J. E. Development of persistent ovarian follicle and associated elevated concentrations of estradiol preceding ovulation does not alter the pregnancy rates after embryo transfer in cattle. *Theriogenology*, v. 47, p. 1413-1421, 1997.
- WRIGHT, I.A.; RUSSEL,A.J.F. Partition of fat, body composition and body condition score in mature cows. **Animal Produce**, v.38, p.23-32, 1984.