

USO DE PGF₂ α ASSOCIADO AO BENZOATO DE ESTRADIOL PARA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO-FIXO EM VACAS LEITEIRAS

USE OF PGF₂ α ASSOCIATED TO ESTRADIOL BENZOATE IN INSEMINATION TIMED IN DAIRY COWS

PFEIFER, Luiz F. M.¹; CORRÊA, Marcio N.²; SCHMITT, Eduardo³; VIEIRA, Marcelo B.⁴; MADRUGA, Eduardo Á.⁴; RABASSA, Viviane R.⁴

RESUMO

Uma das maiores causas da baixa taxa de inseminação em rebanhos leiteiros no Brasil é a falha na detecção de cio. O principal objetivo deste estudo foi avaliar a eficácia de um protocolo de sincronização de ovulação à base de PGF₂ α e Benzoato de Estradiol (BE), com diferentes intervalos entre a aplicação da PGF₂ α e do BE. Para realização deste experimento foram utilizadas 25 vacas leiteiras, que foram divididas em dois grupos, G1 (n=15) e G2 (n=10). Todos animais receberam 2 ½ doses de PGF₂ α na mucosa vulvar, em um intervalo de 14 dias. Depois de 30 horas da segunda dose de PGF₂ α os animais do grupo 1 receberam como indutor de ovulação, 1 mg de Benzoato de Estradiol (BE), sendo que o grupo 2 recebeu o mesmo indutor 48 horas depois da aplicação de PGF₂ α . A Inseminação Artificial foi realizada em ambos grupos 24 horas após a aplicação do Benzoato de Estradiol. A taxa de prenhez no Grupo 1 foi de 27% (4/15) enquanto que no grupo 2 foi de 60% (6/10) (p>0,05). Considerando o retorno da inseminação a taxa de prenhez total foi de 80% (12/15) para o G1 e de 90% (9/10) para o G2 (p>0,05). A taxa de inseminação total final foi de 1,8 doses de sêmen/prenhez, sendo que no G1 foi de 1,9 e no G2 de 1,66 doses de sêmen/prenhez (p>0,05). O protocolo de sincronização demonstrou boa eficácia quanto a taxa de prenhez, podendo ser aplicado em sistemas de produção leiteira com o intuito de aumentar os índices de inseminação do rebanho.

Palavras-chaves: Inseminação artificial, indução de ovulação, sincronização de ovulação.

INTRODUÇÃO

Atualmente o Brasil detém o segundo maior rebanho bovino do mundo, com cerca de 163 milhões de cabeças (IBGE, 2001) e o primeiro rebanho comercial, cuja produção representa, hoje, 50% do PIB agrícola. Entretanto, no estado do RS, o efetivo animal mantém-se estável há 10 anos, com cerca de 13 milhões de cabeças. Na pecuária bovina, a reprodução é identificada como o mais importante fator associado com a rentabilidade, afetando diretamente o nível de produtividade de um rebanho, sendo dependente direto de fatores nutricionais, sanitários, genéticos e de um manejo adequado.

Para vacas leiteiras um intervalo entre partos considerado economicamente adequado é geralmente de 12 a 13 meses (LOUCA & LEGATES, 1968; HAMUDIKUWANDA et al., 1987; HOSMER & LEMESHOW, 1989), sendo a detecção de cio e a taxa de concepção componentes essenciais para obtenção deste desempenho. A baixa acurácia na detecção de cios pode mascarar e prejudicar ainda mais a eficiência reprodutiva no rebanho leiteiro. Vários estudos são publicados

anualmente ligando a baixa detecção de cio ao aumento do intervalo entre partos (BARR, 1975; ROUNSAVILLE et al., 1979). As causas para a baixa taxa de concepção são multifatoriais. No entanto, alguns estudos (PURSLEY et al., 1995; BURKE et al., 1996; SCHMITT et al., 1996; PURSLEY et al., 1997; MOMCILOVIC et al., 1998; BARUSELLI & MARQUES, 2002) tem utilizado protocolos de sincronização de cios que usam prostaglandina (PGF₂ α) associado ou não à indutores de ovulação para aumentar a eficiência reprodutiva no rebanho leiteiro aumentando as taxas de detecção de cio e concepção. Com a possibilidade da manipulação exógena da atividade ovariana e do controle folicular é possível obter a sincronização da ovulação e viabilizar um programa de Inseminação Artificial em Tempo-Fixo (IATF), o que permite descartar o trabalho da detecção de cio (BARUSELLI & MARQUES, 2002).

A sincronização da ovulação pode ser obtida através da aplicação de diferentes indutores de ovulação após o fim dos tratamentos de sincronização de cios, tais como, LH, hCG, GnRH e Benzoato de Estradiol (BE). A administração de estrogênio exógeno exerce uma função no controle fisiológico das fêmeas, induzindo o pico pré-ovulatório de LH e conseqüentemente ovulação (PURSLEY et al., 1997), além de poder exercer atividade luteolítica durante a fase luteal (SALFEN et al., 1999). Estes efeitos justificam a inclusão de estradiol nos protocolos de sincronização, favorecendo a ação da prostaglandina quando associada ao estradiol, o que aumenta a precisão da sincronização (SCHMITT et al., 1996), principalmente quando a prostaglandina é administrada na fase luteal precoce (RYAN et al., 1995).

Como a sincronização de cios é uma técnica que está ainda em expansão dentro dos sistemas pecuários do Brasil, vários trabalhos têm testado o uso de tratamentos baratos que usam prostaglandina para viabilizar a IA através do uso da sincronização de cio (HANSEL & BEAL, 1980; PIMENTEL & FREIRE, 1991). HANSEL & BEAL (1980) referiram-se à possibilidade de obtenção de uma maior taxa de concepção, caso as inseminações fossem efetuadas às 72 e 90 horas após a aplicação de prostaglandina. Da mesma forma PIMENTEL & FREIRE (1991), descreveram a possibilidade de inseminação em tempo-fixado às 80 horas após a aplicação de prostaglandina, sendo que todos estes visavam dar uma cobertura suficientemente ampla às possíveis variações na ocorrência das ovulações.

O presente trabalho buscou comparar a eficácia de 2 protocolos de sincronização utilizando somente um análogo de

¹ Médico Veterinário, Mestrando em Medicina Veterinária

² Médico Veterinário, M.C., Dr., Professor Adjunto – Departamento de Clínicas Veterinária

³ Médico Veterinário

⁴ Graduando em Medicina Veterinária – Estagiário em Clínica Médica de Grandes Animais

Universidade Federal de Pelotas Faculdade de Veterinária - Departamento de Clínicas Veterinária Campus Universitário – 96010 900 - Pelotas/RS - www.ufpel.edu.br/hcv E-mail: lpeifer@ufpel.edu.br - Tel: (53) 275 7506 - 9983 9408

prostaglandina para indução do estro e o BE como indutor de ovulação. Os protocolos consistem na hipótese que a partir da segunda dose de prostaglandina haverá um crescimento folicular adequado para que no momento da aplicação do indutor de ovulação, no caso o BE, este folículo seja responsivo ao pico pré-ovulatório de LH, assim permitindo a realização da IATF.

O principal objetivo deste estudo foi avaliar a eficácia de um protocolo de sincronização de ovulação à base de prostaglandina e BE, com diferentes intervalos entre a aplicação da PGF_{2α} e do BE, que pode ser utilizado em vacas leiteiras que estejam ciclando.

MATERIAL E MÉTODOS

Para realização deste experimento foram utilizadas 30 vacas leiteiras em regime de pastejo de campo nativo complementado com silagem e ração com 18% de proteína bruta (PB). Todos animais passaram por um exame ginecológico por ultra-sonografia com aparelho de marca PIEMEDICAL ANSWER, equipado com sonda setorial convexa de 5 mhz, sendo que todas fêmeas apresentavam-se cíclicas. A condição corporal das fêmeas se situava entre 3 e 4, sendo que 30% estavam com CC 3, 35% com CC 3,5 e

25% com CC 4 em uma escala de 1 a 5 (JAUME & MORAES, 2002).

Após o exame ultra-sonográfico todos animais receberam 2 ½ doses (2 x 75 µg de Cloprostenol) de PGF_{2α} na mucosa vulvar, em um intervalo de 14 dias. No momento da aplicação da segunda dose os animais foram divididos em 2 grupos distintos de forma que cada grupo permanecesse com um número igual de vacas em lactação, Grupo 1, G1 e Grupo 2, G2, sendo ambos compostos por 9 vacas secas e 6 vacas lactando (n= 15 vacas). Após a separação dos grupos foi feita a análise do histórico reprodutivo dos animais e verificou que 5 vacas tinham histórico clínico de aborto e/ou endometrite, optou-se então por descartar estes animais do experimento. Todos animais descartados pertenciam ao grupo 2, ficando este grupo composto por 6 fêmeas secas e 4 fêmeas lactando (n=10).

A partir da segunda dose de PGF_{2α}, 30 horas após, os animais do grupo 1 receberam o indutor de ovulação, 1 mg de BE, enquanto que o grupo 2 recebeu o mesmo indutor 48 horas depois da aplicação de PGF_{2α}.

A Inseminação Artificial foi realizada em ambos grupos 24 horas após a aplicação do Benzoato de Estradiol segundo as figuras 1 e 2 demonstradas abaixo:

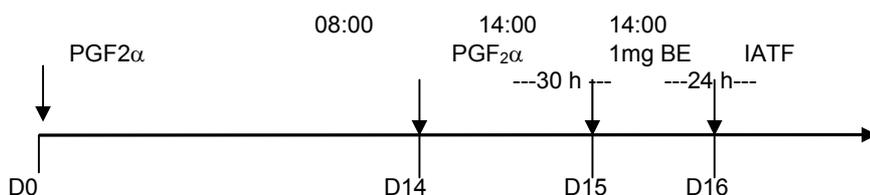


Figura 1 - Esquema de tratamento para IATF no Grupo 1.

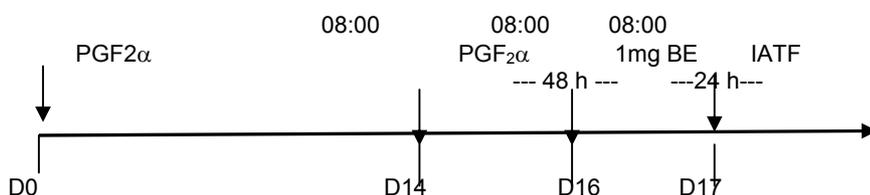


Figura 2 - Esquema de tratamento para IATF no Grupo 2.

BE - Benzoato de Estradiol (IM, Estrogin[®], Farmavet, Brasil)

PGF_{2α} - Prostaglandina Tortuga[®]

IATF – Inseminação Artificial em tempo-fixado

Os dados avaliados no experimento, taxa de prenhez e número de inseminações por prenhez, foram obtidos da inseminação em tempo-fixado e do retorno da inseminação.

A detecção de cio não foi realizada durante o experimento e somente foi realizada para obtenção da taxa de retorno ao cio daquelas fêmeas que não ficaram prenhes na primeira inseminação, ou seja, prenhez do tratamento, a qual foi procedida 2 vezes ao dia, 17 a 23 dias após a sincronização.

O diagnóstico de gestação foi realizado por ultra-sonografia, 30 dias após o fim da detecção do retorno do estro (PIMENTEL, 2002). O tamanho do feto foi avaliado para se saber se a prenhez era da primeira (tratamento) ou da segunda inseminação. A taxa de concepção da sincronização foi estimada através da percentagem de animais que ficaram

pregnhez após a primeira inseminação sobre o total de animais que foram tratados. A taxa de prenhez final foi determinada pelo total de animais prenhes ao final do período de repasse da inseminação sobre o total de animais que foram tratados.

Foram analisadas, através do teste do qui-quadrado (χ^2), taxa de prenhez e taxa de inseminação de cada grupo. O programa utilizado foi o Statistix[®] (1994).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A taxa de concepção em ambos os tratamentos considerando tanto vacas secas como em lactação foi de 40%(10/25). Já o resultado final com o retorno das vacas à inseminação foi de 84% (21/25) (tabela 1). A taxa de prenhez total final apresentou uma boa eficiência reprodutiva para o

gado de leite, podendo-se observar através dos retornos da inseminação que houve uma boa taxa de sincronização do estro, ou seja, grande parte dos animais respondeu ao tratamento, mas o momento da IA pode ter comprometido os resultados principalmente no Grupo 1, mesmo sendo este somente aproveitado no retorno. Este resultado demonstra a aplicabilidade deste protocolo de sincronização, visto que o tratamento não utiliza a mão-de-obra para detecção de cio (BARUSELLI & MARQUES, 2002).

Não houve diferença entre a taxa de prenhez no Grupo 1, 27% (4/15) e grupo 2, 60% (6/10) ($p=0,0749$). Considerando o retorno da inseminação a taxa de prenhez final foi de 80% (12/15) para o G1 e de 90% (9/10) para o G2 ($p>0,05$) (tabela 1). O que pode ter determinado uma tendência numérica de aumento de prenhez no G2 é o momento mais adequado da aplicação de BE em relação ao diâmetro do folículo no momento desta aplicação, ou seja, da indução de ovulação. Isto pode estar relacionado com o intervalo entre a aplicação de BE e a IATF neste grupo.

Considerando apenas o estado de lactação, desprezando os grupos, não houve diferença ($p>0,05$) da taxa de prenhez nas vacas secas, 33% (5/15) e 50% (5/10) para as vacas em lactação. Se considerarmos a inseminação do retorno ao estro (tabela 1), a taxa de prenhez das vacas secas foi de 73% (11/15) e para as vacas em lactação foi de 100% (10/10), porém sem diferença entre os grupos ($p>0,05$).

A taxa de prenhez das vacas secas do G1 foi apenas de 11% (1/9), enquanto que no G2 foi de 67% (4/6). Já a taxa de prenhez tanto no G1, quanto no G2 foi de 50% (3/6) e (2/4), respectivamente, para as vacas em lactação. Se considerarmos a taxa de prenhez final incluindo o repasse, o G1 apresentou 67% (6/9), enquanto que nas vacas em lactação do G2 foi de 100% (6/6). O G2 apresentou uma taxa de prenhez final nas vacas secas de 83% (5/6), enquanto que nas vacas em lactação este índice foi de 100% (4/4). Não foi verificada diferença para estas variáveis ($p>0,05$), entre os grupos (tabela 2).

Tabela 1 - Taxa de prenhez de acordo com o tratamento de sincronização e total da taxa de prenhez com retorno ao estro.

Grupo/categoria animal	Taxa de prenhez (%)	Total Taxa de prenhez com retorno (%)
Grupo 1	27 (4/15)	80 (12/15)
Grupo 2	60 (6/10)	90 (9/10)
Vacas secas	33 (5/15)	73 (11/15)
Vacas lactando	50 (5/10)	100 (10/10)
Total	40 (10/25)	84 (21/25)

Os valores citados entre grupo de tratamento e categoria-animal nas colunas não diferem entre si ($p>0,05$).

Tabela 2 - Taxa de prenhez e taxa de prenhez final com retorno de acordo com o estado de lactação nos grupos 1 e 2.

Grupo/estado de lactação	Taxa de prenhez (%)	Total Taxa de prenhez com retorno (%)
Grupo 1 secas	11 (1/9)	67 (6/9)
Grupo 2 secas	67 (4/6)	83 (5/6)
Grupo 1 lactando	50 (3/6)	100 (6/6)
Grupo 2 lactando	50 (2/4)	100 (4/4)

Os valores citados entre grupo de tratamento e categoria-animal nas colunas não diferem entre si ($p>0,05$).

A taxa de prenhez, tanto em resposta ao tratamento quanto considerando o retorno da IA, foi igual para as vacas em lactação e vacas secas ($p>0,05$), o que sugere que este tratamento mesmo aplicado em vacas em lactação que estejam em bom estado nutricional, não é afetado pelo bloqueio da ocitocina ao eixo hipotalâmico, desde que os animais estejam ciclando e tenham passado por um puerpério adequado (MORAES, 1999). Ressalta-se que todos animais em lactação utilizados neste experimento estavam com mais de 250 dias de lactação e em uma boa condição alimentar.

Das 25 vacas tratadas no experimento, 21 ficaram prenhas ao final do repasse da inseminação, sendo que a taxa de inseminação geral foi de 1,8 doses de sêmen/prenhez. A taxa de inseminação no G1 foi de 1,9 doses de sêmen/prenhez e no G2 de 1,6 doses de sêmen/prenhez, não havendo diferença entre os grupos ($p>0,05$). A taxa de inseminação para as vacas secas do G1 foi de 2,3 e no G2 de 1,8, não diferindo entre si ($p>0,05$). A taxa de inseminação para vacas lactando no G1 e no G2 também não diferiu ($p>0,05$), apresentando valor de 1,5 (tabela 3).

Tabela 3 - Taxa de IA em relação aos grupos e estado de lactação das vacas.

Grupo/estado de lactação	Taxa de IA com retorno (doses sêmen/prenhez)
Grupo 1	1,9
Grupo 2	1,6
Grupo 1 secas	2,3
Grupo 1 lactando	1,5
Grupo 2 secas	1,8
Grupo 2 lactando	1,5

Os valores citados nas colunas não diferem entre si ($p>0,05$).

A viabilidade do tratamento apresentado ainda é justificado pelo fato de que a média nacional da taxa de inseminação no gado leiteiro é de 3 doses/prenhez (FERRAZ, 1996), enquanto que em 2 inseminações no presente estudo a taxa de inseminação por prenhez foi de 1,8 (38/21). Desta

forma o custo com o uso dos hormônios é compensado pela economia feita em doses de sêmen, visto que o custo de uma dose de sêmen de um touro com boa genética é um ônus considerável dentro do sistema de produção de leite sustentável.

Não foi verificado no presente trabalho diferença na taxa de prenhez nos diferentes tratamentos. Os resultados ficaram comprometidos devido ao baixo número de animais utilizados no experimento. Este trabalho deve ser realizado novamente com um número maior de animais para certificar-se do efeito dos tratamentos sobre as taxas de prenhez.

A partir deste protocolo de sincronização para IATF, que utiliza hormônios com boa relação custo-benefício e que se encontram disponíveis no mercado, pode-se ampliar o uso da inseminação artificial no gado leiteiro e melhorar os índices reprodutivos, devido ao baixo custo e a simplicidade de aplicação do protocolo.

ABSTRACT

One of the main causes to the low rate of use of insemination in dairy cows in Brazil is the failure in estrus detection. The aim of this work was to evaluate the effectiveness of a protocol to synchronize the ovulation based on PGF_{2α} and oestradiol benzoate (OB). In this experiment 25 dairy cows were utilized, which were divided in two groups G1 (n=15) e G2 (n=10). All animals received 2 ½ doses of PGF_{2α} in the vulvar mucous membrane, with an interval of 14 days. After 30 hours of the second PGF_{2α} the animals of G1 received 1mg of OB, while the G2, received 48 hours after the second PGF_{2α}. The insemination was realized in both groups 24 hours after the OB application. The pregnancy rate was 27% (4/15) and 60% (6/10), for G1 and G2, respectively (p>0,05). The pregnancy rate after the second insemination was 80 % (12/15) and 90 % (9/10) for G1 and G2, respectively (p>0,05). The rate of insemination was 1,8 doses of semen/pregnancy, being 1,9 and 1,66 for the G1 and G2, respectively (p>0,05). The protocol of synchronization showed good effectiveness on pregnancy rate, and could be applied in dairy herds to increase the use of insemination.

Key words: Insemination, induction of ovulation, synchronization of ovulation.

REFERÊNCIAS

BARR, H. L.; Influence of estrus detection on days open in dairy herds. **Journal of Dairy Science.**, Savoy, Illinois, v. 58, p. 246-247, 1975.

Baruselli, P. S.; Marques, M. O.; Programas da sincronização da ovulação em gado de corte. In : SIMPOSIO DE REPRODUÇÃO BOVINA,1,Porto Alegre.**Anais...** Porto Alegre, RS, Brasil,p.32-35, 2002.

BURKE, J. M.; DE LA SOTA, R. L.; RISCO, C. A.; STAPLES, C. R.; SCHMITT, E. J. P.; THATCHER, W. W.; Evaluation of timed insemination using a gonadotropin – releasing hormone agonist in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Savoy, Illinois, v. 79, p. 1385-1393, 1996.

FERRAZ, J. B. S.; Impacto econômico na pecuária de leite e corte do Brasil, com o aumento da utilização da inseminação artificial. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 20, p.77-132, 1996.

HAMUDIKUWANDA, H.; ERB, H. N.; SMITH, R. D.; Effects of sixty-day milk yield on postpartum breeding performance in Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, Savoy, Illinois, v. 70, p. 2355-2365, 1987.

HANSEL, W. ; BEAL, W. E.; Ovulation control in cattle. In: HJ.W. Hawk. **Animal Reproduction**. Bettlsville: Symposia in

agricultural research – 3. Allanheld, Osmum & CO., Montclair,1980. p. 91-110.

HOSMER, D. W.; LEMESHOW, S.. **Applied Logistic Regression**. New York: John Wiley & Sons,1989. p. 25-37, IBGE.Dados sobre o efetivo animal do rebanho bovino brasileiro. Disponível em:< <http://www.ibge.gov.br>> Acesso em : 2001.

JAUME, C. M.; MORAES, J. C. F.; Importância da condição corporal na eficiência reprodutiva do rebanho de cria. Brasília : EMBRAPA-CPPSUL, 2002. (Documentos,43)

LOUCA, A.; LEGATES, J. E.; Production losses in cattle due to days open. **Journal of Dairy Science.**, Savoy, Illinois, v. 51, p. 573-583, 1968.

MOMCILOVIC, D.; ARCHBALD, L. F.; WALTERS, A.; TRAN, T.; KELBERT, D.; RISCO, C.; THATCHER W. W.; Reproductive performance of lactating dairy cows treated with gonadotrophin-releasing hormone (gnrh) and/or prostaglandin F2a (PGF2a) for synchronization of estrus and ovulation, **Theriogenology**, New York, v. 50, p. 1131-1139, 1998.

MORAES, J. C. F.; **Anestro e fertilidade pós-parto em bovinos de corte. Avanços da reprodução bovina**. Pelotas: ed. Universitária/UFPEL, 1999. p. 25-33.

PIMENTEL, C. A & FREIRE, C. R.; Viabilidade técnica e econômica da inseminação artificial com sincronização de cio em gado de corte. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. Belo Horizonte, v.15, p.25-40, 1991.

PIMENTEL, C. A.; **Ginecologia Bovina. Curso de Ginecologia Bovina**. Tapes/RS,2002.p. 30-35.

PURSLEY, J. R.; KOSOROK, M. R.; WILTBANK, M. C.; Reproductive management of lactating dairy cows using synchronization of ovulation. **Journal of Dairy Science.**, Savoy, Illinois, v. 80, p. 301-306, 1997.

PURSLEY, J. R.; MEE, M. O.; WILTBANK, M. C.; Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF_{2α} AND gnrh. **Therigonology**, New York, v. 44, p. 915-923, 1995.

ROUNSAVILLE, T. R.; OLTENACU, P. A.; MILLIGAN, R. A.; FOOTE, R. H.; Effects of heat detection, conception rate, and culling policy on reproductive performance in dairy herds. **Journal of Dairy Science.**, Savoy, Illinois,v. 62, p. 1435-1442, 1979.

RYAN, D. P.; SNIJDERS, S.; AARTS, A.; O'FARREL, K. J.; Effect of estradiol subsequent to induced luteolysis on development of the ovulatory follicle and interval to estrus and ovulation. **Theriogenology**, New York, USA, v. 43, p.310 , 1995.

SALFEN, B. E.; CRESSWELL, J. R.; XU, Z. Z.; BAO, B.; GAVERICK, H. A.; Effects of the presence of a dominant follicle and exogenous oestradiol on the duration of the luteal phase of the bovineoestrous cycle. **Journal of Reproduction and Fertility.**, Cambridge, England, v. 115, p. 15-21, 1999.

SCHMITT, E. J. P.; DIAZ, T.; DROST, M.; THATCHER, W. W.; Use of a gonadotropin-releasing hormone agonist or human chorionic gonadotropin for timed insemination in cattle. **Journal of Animal Science.**, Savoy, Illinois, v. 74, p. 1084-1091, 1996.

STATISTIX® - Analytical Software. **User's Manual**. Version 4.1,1994. p. 1-329.