

EFEITO DO USO DE ECG EM PROTOCOLO DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO EM VACAS MISTIÇAS LEITEIRAS

(Effect of using ecg in the fixed-time artificial insemination protocol in mixed-race dairy cows)

Dyego Soares GOMES¹; Sabrina Tainah da Cruz Silva BEZERRA^{2*};
Lourivaldo Rodrigues da SILVA³

¹Curso de Medicina Veterinária - Faculdade Terra Nordeste (FATENE), Caucaia-Ce, Brasil;
²Dpto de Clínica Médica de Grandes Animais (FATENE); ³Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). *E-mail: sabrina.bezerra@fatene.edu.br

RESUMO

No Brasil, cerca de 5% do rebanho bovino é reproduzido através da biotecnologia de inseminação artificial (IA). O **sucesso** da IA depende de fatores inerentes à fêmea, ao sêmen e a habilidade do inseminador. Dentre os fatores inerentes a fêmea destaca-se: escore corporal, estado sanitário, estado reprodutivo e protocolo hormonal utilizado. A literatura relata diferentes resultados entre os diversos protocolos hormonais. Desta forma, este trabalho teve por objetivo verificar a eficácia do uso do eCG em protocolos de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) em bovinos. Foram utilizadas vacas mestiças Girolando (n=4886), com peso médio de 500kg, as quais foram divididas em dois grupos, IATF 1 (n=2,535) e IATF 2 (n=2,351). Os dados das amostras foram coletados das Unidades Produtoras de Leite (UPLs), as quais fazem parte do complexo leiteiro da Fazenda. As vacas foram divididas em dois grupos, IATF 1 e IATF 2 a cada trimestre. Ambos os protocolos de IATF foram realizados durante um período de dez dias. No dia 0 foi administrado o implante intrauterino impregnado com progesterona (1g), o qual permaneceu durante oito dias e administrado 2 mL de Benzoato de Estradiol pela via intramuscular. Após a remoção do implante no D8, administrou-se por via intramuscular 2 mL de prostaglandina F2 α (PGF2 α) juntamente com 1 mL de Cipionato de Estradiol. Nas fêmeas IATF 1 com folículos menos desenvolvidos aplicou-se 2 mL de gonadrotrofina coriônica equina (eCG) por via intramuscular. Concluiu-se que a utilização de eCG elevou as taxas de fertilização em vacas com folículos menores, porém foi desnecessário para as fêmeas que apresentaram condições uterinas normais.

Palavras-Chave: Prenhez; Inseminação Artificial; Sincronização do estro.

ABSTRACT

In Brazil, about 5% of the cattle herd reproduces through artificial insemination (AI) biotechnology. The success of AI depends on factors inherent to the female, inherent to the semen and the inseminator's ability. Among the factors inherent to the female are: body score, health status, reproductive status and hormonal protocol used. The literature reports different results among the various hormonal protocols. Therefore, the objective of this study was to verify the efficacy of eCG in fixed-time artificial insemination (IATF)

*Endereço para correspondência:
gsabrina.bezerra@fatene.edu.br

protocols in cattle. Girolando crossbred cows (n=4886), with an average weight of 500 kg, were divided into two groups, IATF 1 (n=2.535) and IATF 2 (n=2.351). The data of the samples were collected from the Milk Producing Units (UPLs) - Campo Grande, Colmalândia, Ouro Branco and Ouro Verde - that are part of Fazenda dairy complex. Cows were divided into two groups, IATF 1 and IATF 2 each quarter. Both IATF protocols were performed over a ten day period. On day 0, the progesterone-impregnated intrauterine implant (1g) was administered, which remained for eight days and administered 2 mL of Estradiol Benzoate intramuscular. After removal of the implant in the D8, 2 mL of prostaglandin F2 α (PGF2 α) were administered intramuscularly together with 1 mL of Estradiol Cypionate. It was concluded that the use of eCG increased fertilization rates in cows with smaller follicles, but was unnecessary for females that presented normal uterine conditions.

Key words: Pregnancy; Artificial insemination; Synchronization of estrus.

INTRODUÇÃO

Boa produção e reprodução são dois elementos essenciais para fazer da pecuária leiteira um negócio rentável. A agropecuária representou 5,7% na participação do Produto Interno Bruto (PIB) brasileiro em 2017, sendo responsável por um aumento de 9,1% em relação a 2016. Ao comparar 2018 com o mesmo período de 2017, observou-se queda de 2,6% (IBGE, 2018).

Bioteχνologias reprodutivas foram implementadas objetivando melhorar o desempenho reprodutivo de animais leiteiros, dentre elas, a inseminação artificial (IA) destaca-se na indústria de laticínios (GONÇALVES *et al.*, 2008). A IA é bastante realizada em países como a Índia, onde a disponibilidade de touros de qualidade é inadequada dificultando a reprodução de animais de habilidade leiteira (FOOTE, 2002).

Segundo Parr *et al.* (2014), o sucesso na IA depende do conhecimento do ciclo estral da vaca, que manifesta estros a intervalos médios de 21 dias. Durante este período, observa-se crescimento e maturação folicular, ovulação, formação do corpo lúteo e manifestações clínicas de estro. A detecção do estro em bovinos na prática é realizada duas vezes ao dia, no período da manhã e à tarde os animais são observados durante aproximadamente 20 a 30 minutos (MARQUES, 2003).

A sincronização do estro reduz o tempo e o trabalho de detectar o estro das fêmeas possibilitando o nascimento em época mais propícia. As fêmeas que tem o estro sincronizado: (1) Exibem estro em tempo previsto; (2) concebem a época desejada; (3) parem no período desejado; (4) desmamam bezerros mais pesados (PERRY *et al.*, 2002).

Diferentes tratamentos/protocolos de sincronização do estro são utilizados em bovinos na inseminação artificial em tempo fixo (IATF), entretanto, problemas com a detecção de estro e reduções na fertilidade foram relatados (LOPEZ *et al.*, 2004). Com isso, diversos protocolos foram desenvolvidos para permitir que a IA seja realizada em um momento conhecido em relação à ovulação esperada (PEREIRA *et al.*, 2013), dispensando a detecção de cio e facilitando a IA (BARUSELLI *et al.*, 2008), mesmo em vacas anovulares (STEVENSON *et al.*, 2000). O objetivo deste trabalho consistiu em verificar a

*Endereço para correspondência:

gsabrina.bezerra@fatene.edu.br

eficácia do uso do eCG em protocolos de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) em bovinos.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado na Fazenda Flor da Serra durante o período de 02 de janeiro de 2017 a 27 de dezembro de 2017. Um total de 4.886 vacas mestiças de Girolando foram submetidas à IATF, dos quais, 2.535 foram submetidas ao protocolo IATF 1 e 2.351 vacas foram submetidas ao protocolo IATF 2. As amostras foram coletadas nas Unidades Produtoras de Leite (UPLs) do complexo leiteiro da Fazenda.

Durante o primeiro (1º) trimestre, foram utilizadas vacas mestiças de Girolando (n=1047), com peso médio de 500 kg, alojadas em piquetes. As fêmeas foram divididas em dois grupos, IATF 1 (n=538) e IATF 2 (n=509).

No segundo (2º) trimestre os animais foram divididos em dois grupos, IATF 1 (n=738), e IATF 2 (n=551) totalizando 1.289 fêmeas receptoras. No terceiro trimestre (3º), foram divididas em dois grupos IATF 1 (n=733), e IATF 2 (n=763) totalizando 1.496 fêmeas receptoras. E no trimestre final do experimento, o quarto (4º) trimestre, as 1.054 fêmeas receptoras foram divididas em dois grupos IATF 1 (n=526), e IATF 2 (n=528).

Os protocolos de inseminação em tempo fixo tiveram duração de 10 dias. No dia 0 foi inserido o implante intrauterino de progesterona (Sincrogest[®], Ourofino Saúde Animal), que permaneceu durante 8 dias e administrado por via intramuscular 2 ml de Benzoato de Estradiol (SincrodioI[®], Ourofino Saúde Animal). No D8, o implante foi removido e foi administrado por via intramuscular 2 mL de prostaglandina (PGF2 α) (Sincrocio[®], Ourofino Saúde Animal) e 1 mL de Cipionato de Estradiol (ECP[®], Ourofino Saúde Animal). As vacas com folículos de menor diâmetro receberam 2 mL de gonadotrofina coriônica equina injetável (eCG) por via intramuscular, protocolo recomendado para novilhas. Vacas com elevados números de serviço por concepção receberam complexo vitamínico/mineral (Adaptador[®] Min, Biogénesis – Bagó).

Cada UPL realizou a IA de forma independente. Foi utilizado sêmen de touros $\frac{3}{4}$ e $\frac{5}{8}$ Girolando. No dia da IA foi realizado o descongelamento do sêmen a 37 °C, posteriormente colocado no aplicador e a IA foi realizada.

O diagnóstico de gestação das vacas foi realizado 28 dias após a inseminação artificial com o auxílio de ultrassonografia. A presença de infecção uterina foi aferida através de um dispositivo que classifica na escala de 0 a 3, onde nível 0 significava muco translúcido e limpo, nível 1 muco contendo manchas brancas e claras de pus, nível 2 o muco apresentava menos que 50% de pus branco, nível 3 o muco vaginal adulterado continha mais que 50% de pus e apresenta sinais de sangue e odor fétido (WILLIANS *et al.*, 2005). Os animais com infecções de grau 1, receberam Gentamicina 300 mg/animal (50 ml), em dose única, por via intrauterina (Gentrin[®] infusão uterina, Ourofino Saúde Animal). Infecções classificadas acima do nível 1 foram administrados Cefapirina 500

*Endereço para correspondência:

gsabrina.bezerra@fatene.edu.br

mg/animal (1 seringa), por via intrauterina em dose única (Metricure[®], MSD Animal Health).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A hipótese inicial com a utilização de eCG (Gonadotrofina coriônica equina injetável) via intramuscular visava aumentar o diâmetro folicular e por fim, obter maiores probabilidades de concepção. Segundo Nunez-Olivera *et al.* (2014), o eCG estimulou o crescimento folicular, quando utilizado em protocolos de sincronização. O autor deixa claro que houve aumento da taxa de ovulação, do diâmetro do CL e da concentração sérica de progesterona após a inseminação.

Pode-se observar que apesar do Grupo IATF 1 ter recebido o eCG, as taxas de concepção foram inferiores ao Grupo IATF 2 em todos os trimestres analisados, obtendo a maior diferença percentual no 2º trimestre com 7,6%, e a menor diferença no 4º trimestre com 2,8%, (Tab. 01). Conforme citado acima, fica evidente que o protocolo IATF 2 teve eficácia superior ao IATF 1 quanto ao percentual de concepção das vacas, o que se encontra explícito no (Fig. 01). Vale destacar, por exemplo, que a fertilidade desempenha um papel importante no sucesso de qualquer programa de melhoramento (IA ou serviço natural; sincronizados ou não), e fêmeas que apresentam problemas que possam interferir em sua fertilidade podem afetar negativamente os resultados dos protocolos.

Tabela 01: Taxa de concepção de vacas mestiças de Giolando submetidas a diferentes protocolos de inseminação artificial em tempo fixo (IATF).

1º Trimestre			
Protocolo hormonal	Número de tentativas	Número de concepções	Taxa de concepção
IATF 1 eCG	538	69	12,8%
IATF 2	509	89	17,5%
2º Trimestre			
Protocolo hormonal	Número de tentativas	Número de concepções	Taxa de concepção
IATF 1 eCG	738	75	10,2%
IATF 2	551	98	17,8%
3º Trimestre			
Protocolo hormonal	Número de tentativas	Número de concepções	Taxa de concepção
IATF 1 eCG	733	149	20,3%
IATF 2	763	207	27,1%
4º Trimestre			
Protocolo hormonal	Número de tentativas	Número de concepções	Taxa de concepção
IATF 1 eCG	526	137	26,0%
IATF 2	528	152	28,8%

Fonte: Arquivo pessoal do autor (2018).

*Endereço para correspondência:

gsabrina.bezerra@fatene.edu.br

Por esse motivo, conforme explicado acima, Baruselli *et al.* (2008) demonstraram que o efeito positivo do tratamento com eCG aumentou conforme o grau de anestro das fêmeas. O autor deixa claro que animais em anestro (sem CL; tanto com folículos grandes quanto pequenos) quando recebiam tratamento com eCG tiveram resultados positivos com relação a taxa de concepção, enquanto que os animais cíclicos (com presença de CL) não obtiveram efeito positivo, cabendo ao técnico responsável analisar as condições fisiológicas do rebanho e definir a utilização da gonadotrofina.

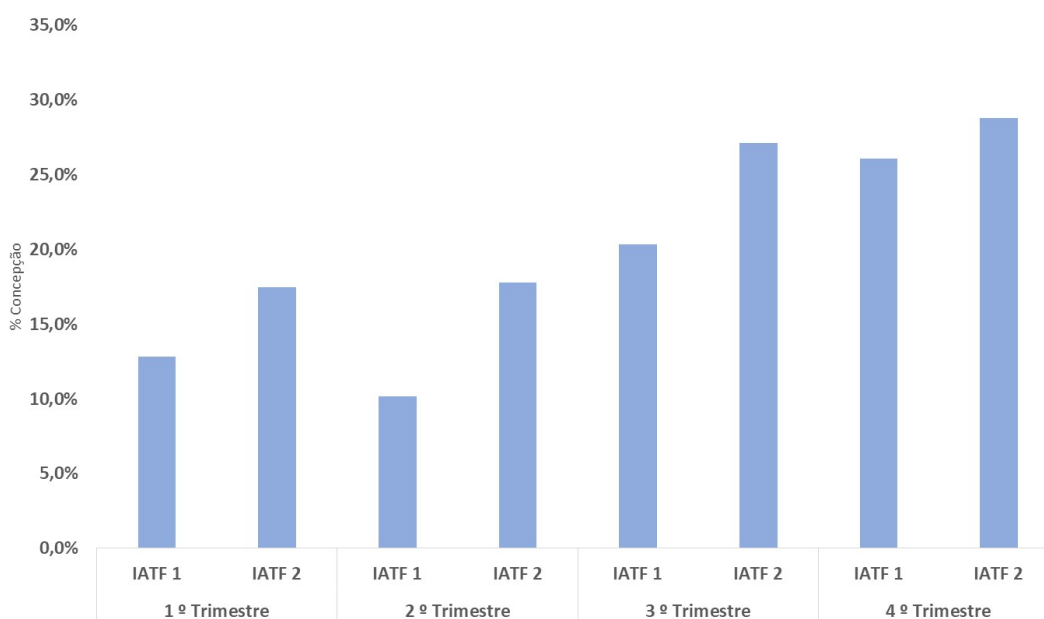


Figura 01: Taxa de concepção do 1º ao 4º trimestre na Fazenda.

Fonte: Arquivo pessoal do autor (2018).

Sabe-se que a fertilidade é influenciada por muitos fatores, mas um dos melhores métodos de visualizar os fatores de influência da fertilidade é com a "Equação de Reprodução". A equação analisa as quatro principais áreas temáticas: a) Percentagem de animais detectados em estro permanente e inseminados; b) Eficiência do inseminador; c) Nível de fertilidade do rebanho; d) Nível de fertilidade do sêmen (WILTBANK e PURSLEY, 2014).

Quanto à fertilidade do rebanho, o folículo pode afetar a fertilidade através da preparação do ovócito para o desenvolvimento embrionário, a preparação de células foliculares para luteinização, e/ou preparação do ambiente uterino para o estabelecimento e manutenção da prenhez (MUSSARD *et al.*, 2003).

No estudo de Atkins *et al.* (2010) enquanto o tamanho do folículo na fase ovulatória e concentrações séricas de estradiol foram altamente correlacionados ($r = 0,49$, $p < 0,0001$), ambas concentrações de estradiol e do tamanho folicular apresentavam efeito positivo independente do sucesso da fertilização, ou seja, o tamanho do folículo no momento da IA apresentou um efeito positivo.

*Endereço para correspondência:

gsabrina.bezerra@fatene.edu.br

Além disso, as vacas induzidas a ovular folículos <12 milímetros de diâmetro, apresentaram redução ($p < 0,05$) nas taxas de prenhez em comparação com vacas induzidas para ovular folículos maiores (29% versus 71%), respectivamente (PERRY *et al.*, 2002).

Resultados semelhantes foram relatados entre vacas *Bos indicus*. A avaliação do tamanho do folículo no momento da IATF em vacas Nelore e cruzamento de Angus x Nelore indicou que um folículo de pelo menos 11,1 milímetros de diâmetro, era necessário para alcançar o máximo de sucesso da prenhez (SÁ FILHO *et al.*, 2010).

Os resultados apresentados na Tab. 01, focados em comparar as taxas de concepção entre IATF 1 e IATF 2, mostram que o número absoluto de concepções foi maior na IATF 2 com a necessidade de menor número de tentativas, com exceção do 3º trimestre, o que nos leva a crer que o ambiente uterino é um fator importante na diminuição da fertilidade após a ovulação dominante induzida de pequenos folículos. Ao analisar os dados da Fig. 01, é possível verificar que as taxas de concepção em ambos os protocolos foram maiores no 2º semestre do ano em comparação com o 1º semestre. Com isso, podemos observar que fatores inerentes ao ambiente, por exemplo, são determinantes para a melhora dos índices avaliados na pesquisa.

Atkins *et al.* (2010) colocam que outras características adicionais que aumentaram diretamente a taxa de fertilização incluíram intervalo pós-parto aumentado, peso da vaca superior e idade avançada. Vacas mais jovens também produziram embriões que se apresentaram melhor desenvolvidos no sétimo dia, comparadas as fêmeas mais velhas. Assim, na fertilização, o fracasso é maior em vacas mais velhas e vacas que pariram no final da estação de parto que apresentavam peso corporal menor.

CONCLUSÃO

O uso de protocolo hormonal com eCG elevou as taxas de concepção de vacas com folículos de menor diâmetro, estimulando o crescimento folicular e a ovulação. Entretanto, os animais que apresentam condições uterinas normais têm resultados positivos mesmo sem o uso da gonadotrofina, sendo seu uso dispensável por elevar o custo do tratamento. Fatores ambientais também interferem nos resultados dos protocolos, sendo necessário o desenvolvimento de pesquisas para avaliar esta condição.

REFERÊNCIAS

- ATKINS, J.A.; SMITH, M.F.; WELLS, K.J.; GEARY, T.W. Factors affecting preovulatory follicle diameter and ovulation rate after gonadotropin-releasing hormone in postpartum beef cows. Part I: Cycling cows¹. *Journal of Animal Science*, v.88, n.7, p.2300-2310, 2010.
- BARUSELLI, P.S.; JACOMINI, J.O.; SALES, J.N.S.; CREPALDI, G.A. Importância do emprego da eCG em protocolos de sincronização para IA, TE e SOV em tempo fixo.

*Endereço para correspondência:

gsabrina.bezerra@fatene.edu.br

Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada, 3, Londrina, PR. Anais... Londrina, PR. 2008.

FOOTE, R.H. The history of artificial insemination: Selected notes and notables 1. *Journal of Animal Science*, v.80, n.2, p.1-10, 2002.

GONÇALVES, P.B.D.; FIGUEIREDO, J.R.; FREITAS, V.J.F. Biotécnicas aplicadas à reprodução animal. 2ª ed., São Paulo: Varela, 2008. 395p.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e estatística. Estatística da Produção Pecuária: primeiros resultados. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas-novoportal/economicas/agricultura-e-pecuaria/9209-pesquisa-trimestral-do-leite.html?=&t=o-que-e>. Acesso em: 2 mai. 2018.

LOPEZ, H.; SATTER, L.D.; WILTBANK, M.C. Relationship between level of milk production and estrous behavior of lactating dairy cows. *Animal Reproduction Science*, v.81, n.3-4, p.209-223, 2004.

MARQUES, M.O.; REIS, E.L.; CAMPOS FILHO, E.P.; BARUSELLI, P.S. Efeitos da administração de eCG e de Benzoato de Estradiol para sincronização da ovulação em vacas zebuínas no período pós-parto. In: *Proceedings 5 Simposio Internacional de Reproducción Animal*, June, p.27-29, 2003.

MUSSARD, M.L.; BURKE, C.R.; DAY, M.L. Ovarian follicle maturity at induced ovulation influences fertility in cattle. In: *Society for Theriogenology annual conference and symposium.*, Columbus, OH. p.179-185, 2003.

NUNEZ-OLIVERA, R.; CASTRO, T.; GARCIA-PINTOS, C.; BÓ, G.; PIAGGIO, J.; MENCHACA, A. Ovulatory response and luteal function after eCG administration at the end of a progesterone and estradiol based treatment in postpartum anestrous beef cattler. *Animal Reproduction Science*, v.146, p.111-116, 2014.

PARR, M.H.; CROWE, M.A.; LONERGAN, P.; EVANS, A.C.; RIZOS, D.; DISKIN, M.G. Effect of exogenous progesterone supplementation in the early luteal phase post-insemination on pregnancy per artificial insemination in Holstein–Friesian cows. *Animal Reproduction Science*, v.150, n.1-2, p.7-14, 2014.

PEREIRA, M.H.C.; RODRIGUES, A.D.; MARTINS, T.; OLIVEIRA, W.V.; SILVEIRA, P.S.; WILTBANK, M.C.; VASCONCELOS, J.L. Timed artificial insemination programs during the summer in lactating dairy cows: Comparison of the 5-d Cosynch protocol with an estrogen/progesterone-based protocol. *Journal of Dairy Science*, v.96, n.11, p.6904-6914, 2013.

PERRY, G.A.; SMITH, M.F.; PATTERSON, D.J. Evaluation of a fixed-time artificial insemination protocol for postpartum suckled beef cows. *Journal of Animal Science*, v.80, n.12, p.3060-3064, 2002.

*Endereço para correspondência:

gsabrina.bezerra@fatene.edu.br

SÁ FILHO, M.F.; CRESPILO, A.M.; SANTOS, J.E.; 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*, v.120, n.1-4, p.23-30, 2010.

STEVENSON, J.S.; THOMPSON, K.E.; FORBES, W.L.; LAMB, G.C.; GRIEGER, D.M.; CORAH, L.R. Synchronizing estrus and (or) ovulation in beef cows after combinations of GnRH, norgestomet, and prostaglandin F2alpha with or without timed insemination. *Journal of Animal Science*, v.78, n.7, p.1747-1758, 2000.

WILLIAMS, E.J.; FISCHER D.P.; PFEIFFER D.U.; ENGLAND G.C.W.; NOAKES D.E.; DOBSON H.; SHELDON I.M. Clinical evaluation of postpartum vaginal mucus reflects uterine bacterial infection and the immune response in cattle. *Theriogenology*, v.63, p.102-117, 2005.

WILTBANK, M.C.; PURSLEY, J.R. The cow as an induced ovulator: Timed AI after synchronization of ovulation. *Theriogenology*, v.81, n.1, p.170-185, 2014.