

## Sistemas de inseminação artificial em dois dias com observação de estro ou em tempo fixo para vacas de corte amamentando

### Artificial insemination systems within two days of estrus detection or at fixed time for suckled beef cows

Lucas Carvalho Siqueira<sup>I</sup> João Francisco Coelho de Oliveira<sup>II</sup> Rosane da Silveira Loguércio<sup>I</sup>  
Henrique Kurtz Löff<sup>III</sup> Paulo Bayard Dias Gonçalves<sup>\*IV</sup>

#### RESUMO

O objetivo do presente experimento foi investigar se a realização exclusiva da inseminação artificial em tempo fixo (IATF), empregando como indutor da ovulação o benzoato de estradiol (BE), proporciona taxas de prenhez semelhantes a uma associação de IA convencional e IATF com GnRH, em vacas de corte no pós-parto. Duzentos e cinquenta vacas amamentado receberam um pessário vaginal contendo 250mg de acetato de medroxi-progesterona (MAP) e uma injeção intramuscular (IM) de 5mg de BE no dia 0. O pessário vaginal permaneceu por sete dias. No dia 6, foram aplicadas 400UI de gonadotrofina coriônica equina por via IM e 5mg de análogo de prostaglandina na submucosa vulvar, realizando nesse momento o desmame por 96h. Após a retirada dos pessários (dia 7), as vacas foram distribuídas em dois grupos. No grupo BioRep (n=150), as fêmeas foram observadas duas vezes por dia para detecção de estro por 48h e inseminadas 12h após sua manifestação. Os animais que não manifestaram estro nesse período receberam uma injeção IM de 100µg de GnRH, sendo submetidas à IATF, 16 a 18h após. No grupo BE (n=100), as vacas receberam uma injeção de 1mg de BE IM no dia 8 e foram inseminadas em tempo fixo no dia 9. A porcentagem de prenhez no grupo BioRep (54,7%) foi maior ( $P<0,01$ ) do que no grupo BE (33,3%). Em vaca amamentando, a observação de estro por dois dias associada à IATF, utilizando GnRH para induzir a ovulação, proporcionou taxas de prenhez superiores ao uso exclusivo de IATF com BE.

**Palavras-chave:** pós-parto, IATF, indução de estro, GnRH, estradiol.

#### ABSTRACT

This experiment was aimed at comparing two estrus induction protocols for cows in post partum period, using either GnRH and two-day artificial insemination (AI) or estradiol

benzoate (EB) and fixed-time artificial insemination (TAI). A total of 250 suckled beef cows received a vaginal device containing 250mg of medroxyprogesterone acetate (MPA) and an injection of 5mg of EB intramuscularly (IM) on day 0. The vaginal device was removed on day 7. On day 6, cows were injected with 400IU eCG (IM) and 5mg prostaglandin analog (into vulvar submucosa) and calves were removed for 96 hours (h). After removing the vaginal devices (day 7), cows were divided in two groups. In the BioRep group (n=150), estrus detection was carried out twice a day during 48h and the animals were inseminated 12h after detection. Cows which were not detected in estrus received 100µg of GnRH IM and were inseminated 16 to 18h later. In EB group, cows were injected IM with 1mg of EB on day 8 and were inseminated on day 9 without estrus detection. The pregnancy rate was higher ( $P<0.01$ ) in the BioRep group (54.7%) than in the EB group (33.3%). In suckled cows, two days of estrus detection associated to fixed-time insemination using GnRH to induce ovulation allowed the attainment of higher pregnancies rates than exclusively TAI using EB.

**Key words:** post partum, insemination, estrous induction, GnRH, estradiol.

#### INTRODUÇÃO

Os protocolos hormonais, aplicados em vacas no pós-parto, possibilitam que a maior parte do rebanho retorne à ciclicidade e emprenhe em um período reduzido de tempo (BARUSELLI et al., 2004). Para isto, os programas de indução e sincronização de estros são métodos que precisam apresentar repetibilidade e ser minimamente dependentes do ambiente. Isto

<sup>I</sup>Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS, Brasil.

<sup>II</sup>Departamento de Grandes Animais, UFSM, Santa Maria, RS, Brasil.

<sup>III</sup>Curso de Medicina Veterinária, UFSM, Santa Maria, RS, Brasil.

<sup>IV</sup>Departamento de Grandes Animais, UFSM, Santa Maria, RS, Brasil. E-mail: bayard@biorep.ufsm.br. \*Autor para correspondência.

possibilitaria que elevadas taxas de prenhez (número de vacas prenhes/número de vacas sincronizadas) sejam obtidas em diferentes locais e situações. Quanto menor a necessidade de observação de estro, mais atrativos tornar-se-ão os programas de inseminação artificial (IA). Tem sido proposto que a IA em tempo fixo (IATF) é uma opção de manejo capaz de eliminar a necessidade de detecção de estros, produzindo resultados iguais ou superiores à IA convencional (detecção de estros e IA a cada 12h; DISKIN et al., 2002; MAPLETOFT et al., 2002).

O controle preciso do momento da ovulação é fundamental para a IATF. Em bovinos, os indutores da ovulação mais utilizados são o benzoato de estradiol (BE) e o hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH). Quando o BE é aplicado 24h após a retirada do dispositivo com progestágeno, todos os animais devem ser inseminados 30h a partir desta administração (LAMMOGLIA et al., 1998; BURKE et al., 2001; MARTINEZ et al., 2002a). O GnRH deve ser aplicado entre 36-48h após a retirada dos dispositivos com progestágeno e a IA deverá ser realizada 12-18 h após o GnRH (TWAGIRAMUNGU et al., 1995; AMBROSE et al., 2005; COLAZO et al., 2007). Vacas de corte em pós-parto são tratadas com BE no intuito de induzir estro e ovulação. O tratamento com este estrógeno promove a liberação de um pico de LH, dentro de um intervalo de 16 a 30h (LAMMOGLIA et al., 1998). A administração de GnRH induz um pico de LH que se inicia logo após sua aplicação (em torno de 15 minutos).

Em vacas de corte amamentando, os programas que utilizam exclusivamente a IATF, independentemente do indutor da ovulação utilizado, apresentam taxas de prenhez que oscilam entre 25 e 67% (FERNANDES et al., 2001; BARUSELLI et al., 2002; KASIMANICKAM et al., 2006). Estes resultados variam de acordo com a porcentagem de animais acíclicos no rebanho, as condições ambientais e nutricionais em que estes animais se encontram e, também, com a associação hormonal utilizada. Devido a esta grande amplitude dos resultados, os manejos alternativos têm sido utilizados visando possibilitar a IA em vacas de corte no pós-parto.

Alguns programas para indução de estros permitem que todos os animais sejam inseminados em um curto período de tempo, associando a IATF à IA convencional, obtendo elevadas taxas de prenhez (BASTOS et al., 2004; LOGUÉRCIO et al., 2007). Utilizando este manejo, mais de 3.000 vacas de corte amamentando, aproximadamente aos 60 dias pós-parto, já foram inseminadas e os resultados médios estão próximos a 70% de prenhez. Aproximadamente 50% das fêmeas foram detectadas em estro nas 48h após a

retirada dos pessários vaginais com progestágeno e destas, entre 70 e 90%, emprenharam. As vacas que não foram detectadas em estro neste período receberam GnRH e foram submetidas à IATF. Esta inseminação sem observação de sinais de estro apresentou uma taxa de concepção (TC; número de vacas prenhes/número de vacas IA) média de 50%. Sendo assim, este sistema para vacas amamentando propicia que mais de 2/3 das vacas emprenhem em apenas uma IA, necessitando-se apenas quatro observações de estro.

Tendo em vista esses resultados de prenhez e visando a possibilidade de eliminar a necessidade de detecção de estros, este experimento foi delineado para investigar se a realização exclusiva da IATF, utilizando o BE como indutor da ovulação, poderá proporcionar taxas de prenhez semelhantes a uma associação de IA convencional e IATF com GnRH, em vacas de corte no pós-parto.

## MATERIAL E MÉTODOS

Este experimento foi realizado no mês de janeiro de 2005, em uma propriedade localizada no município de Rio Grande, região sul do Estado do Rio Grande do Sul. Esta região apresenta clima subtropical com temperatura média anual de 17,6°C e índices pluviométricos acumulados para o período de novembro a fevereiro de 450mm (EMBRAPA, 2006). Foram utilizadas 250 vacas *Bos taurus*, predominantemente Red Angus, amamentadas, entre 50 e 70 dias pós-parto, todas apresentando condição corporal 3 (CC; sendo 1-extremamente magra e 5-extremamente gorda).

No início do tratamento (dia zero), todas as vacas receberam um pessário vaginal, contendo 250mg de acetato de medroxi-progesterona (MAP) e uma injeção intramuscular (IM) de 5mg de BE. No dia 6, foram aplicadas 400UI de gonadotrofina coriônica equina (eCG) por via IM e 100µg de análogo de prostaglandina (dinoprost tromethamine) na submucosa vulvar. Também no dia 6, os terneiros foram submetidos a um desmame temporário em mangueira, por 96h. Após a retirada dos pessários (dia 7), as vacas foram aleatoriamente distribuídas em dois grupos. No grupo BioRep (n=150), as fêmeas foram observadas para detecção de estro duas vezes por dia (manhã/tarde) por dois dias, sendo submetidas à inseminação artificial 12h após a detecção. No dia 9 (48h depois da retirada do pessário), todas as vacas que não foram diagnosticadas em estro nesse período receberam uma injeção IM de 100µg GnRH e entre 16 e 18h após foram submetidas à IATF. No grupo BE (n=100), todas as

vacas receberam uma injeção de 1mg de BE IM no dia 8 (24h após a retirada do MAP) e foram inseminadas sem detecção de estro no dia 9 (54h após a retirada do MAP; Figura 1).

O diagnóstico de gestação foi realizado no dia 50 do experimento, por exame ultra-sonográfico transretal, utilizando um aparelho pie-medical 450, equipado com sonda de arranjo linear de 5MHz. As taxas de concepção e prenhez foram comparadas pelo teste qui-quadrado.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A taxa de prenhez (vacas prenhes/vacas tratadas) obtida no grupo BioRep, no qual se associou um curto período de observação de estros à IATF, foi maior do que no grupo BE, em que se utilizou exclusivamente a IATF (54,7% x 33,3%, respectivamente;  $P < 0,001$ ). Estes resultados de prenhez após protocolos de indução de estro estão dentro da amplitude de variação encontrada na literatura para vacas em pós-parto (GEARY et al., 2001; MARTINEZ

et al., 2002 b; LOGUÉRCIO et al., 2007). No entanto, enquanto taxas de prenhez em torno de 50% podem ser consideradas razoáveis, resultados inferiores a isso são insatisfatórios, pois não justificam os custos de manejo e a implementação destes programas hormonais.

No grupo BioRep, até 48h após a retirada do pessário vaginal, 48,7% das vacas foram diagnosticadas em estro e submetidas à IA convencional (12h após detecção), e destas 69,9% conceberam (Tabela 1). Vacas inseminadas após demonstração de estro podem apresentar de 50 a 90% de TC. Esta variação está normalmente correlacionada com perdas embrionárias precoces, as quais oscilam entre 20 a 60% até o trigésimo dia após IA (HUMBLOT et al., 2001; SANTOS et al., 2004). Porém, outros fatores podem influenciar a concepção, por exemplo, a qualidade do sêmen utilizado, a experiência e a competência do inseminador. Neste experimento, a TC nas vacas IA após o estro sugere que o processo de IA foi adequadamente realizado.

Ao contrário do que se nota em vacas de leite, os sistemas para IATF que utilizam o GnRH como

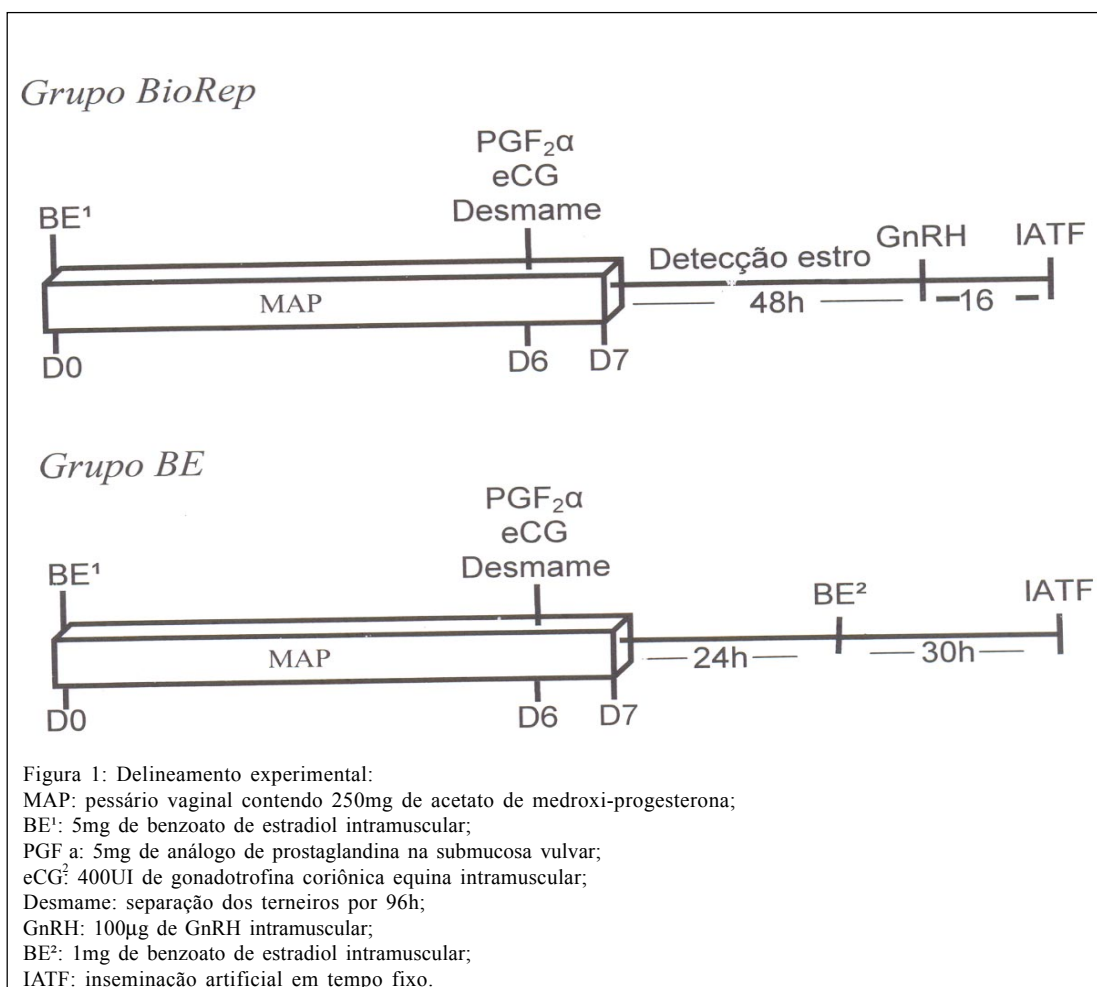


Tabela 1 - Porcentagens de estro, concepção e prenhez em vacas de corte no pós-parto submetidas somente à IATF, utilizando como indutor da ovulação o benzoato de estradiol (grupo BE), ou às 48h de observação de estro e inseminação convencional associada à IATF com GnRH (grupo BioRep).

Parâmetros	-----Grupo-----	
	BE*	BioRep
Estro (48 horas) <sup>1</sup>	-	73/150 (48,7)
Concepção <sup>2</sup>	Com observação de estro (48 horas)	51/73 (69,9)
	IATF	31/77 (40,6) <sup>a</sup>
Prenhez <sup>3</sup>	33/99 (33,3) <sup>a</sup>	82/150 (54,7) <sup>b</sup>

\* no diagnóstico de prenhez uma vaca do Grupo BE não foi encontrada, sendo excluída da análise estatística

<sup>a, b</sup> letras diferentes na mesma linha indicam diferença estatística ( $P < 0,001$ );

<sup>1</sup> animais que foram detectados em estro no período de 48h no grupo BioRep;

<sup>2</sup> n° de vacas prenhes ao diagnóstico de gestação/n° de vacas inseminadas;

<sup>3</sup> n° de vacas prenhes ao diagnóstico de gestação/n° de vacas sincronizadas.

indutor da ovulação, ainda não estão adequados para serem utilizados em vacas de corte amamentando, pois produzem resultados variados e normalmente com baixas taxas de prenhez (STEVENSON et al., 2000; FERNANDES et al., 2001; BARUSELLI et al., 2002). Neste experimento, dentre as vacas que não foram detectadas em estro no grupo BioRep e foram inseminadas 16-18h após administração de GnRH, 40,6% emprenharam (Tabela 1). Esta taxa de prenhez, se isoladamente analisada, é relativamente baixa. Porém, dentro deste sistema em que se realiza um período de 48h de detecção de estros anteriormente ao uso do GnRH, a IATF torna-se uma ferramenta importante. Neste caso, ela reduz a necessidade de manejo para detecção de estros e ainda é capaz de proporcionar uma prenhez aceitável ao final do tratamento.

Esperava-se que, em resposta ao GnRH, uma maior TC fosse atingida, em virtude deste hormônio induzir a ovulação de forma mais concentrada nos animais (LAMMOGLIA et al., 1998). No entanto, considerando-se somente a IATF, não houve diferença entre os grupos (Tabela 1). Provavelmente, estas baixas TC proporcionadas pela IATF estão relacionadas com a incapacidade do maior folículo iniciar o processo de ovulação. Em bovinos, a ovulação é desencadeada pelo pico pré-ovulatório de LH e, em raças européias (*Bos taurus*), os folículos ovarianos adquirem maior capacidade ovulatória a partir dos 12mm de diâmetro (SARTORI et al., 2001). Sendo assim, a assincronia do crescimento folicular e o tamanho reduzido do folículo dominante no momento do pico de LH são os maiores desafios a serem superados a fim de possibilitar elevadas taxas de ovulação e prenhez nos processos de IATF.

É importante salientar, que quando se utiliza exclusivamente a IATF, a TC normalmente fica perto

do limiar aceitável de 50%. No entanto, quando IATF é associada a um período de 48h de detecção de estro e IA convencional, espera-se que ocorra um aumento acima de 20% de prenhez final em relação aos sistemas que utilizam somente IATF. Neste experimento, provavelmente em decorrências de fatores ambientais e nutricionais, os índices obtidos ficaram aquém do esperado. Durante a realização deste experimento, o Rio Grande do Sul passava por um período de chuvas escassas, em que a precipitação pluviométrica esperada para o período de novembro de 2004 a fevereiro de 2005 era de aproximadamente 450mm e havia chovido menos de 80mm (EMBRAPA, 2006). O estresse nutricional e o balanço energético negativo crônico são fatores que afetam negativamente o desempenho reprodutivo dos bovinos e programas de manipulação do ciclo estral aplicados durante estes períodos podem apresentar resultados insatisfatórios (MACIEL et al., 2001; BASTOS et al., 2004). Apesar da redução na TP em relação ao esperado, o grupo BioRep permitiu que mais da metade das vacas tratadas emprenhassem, mesmo frente a condições adversas. Já no grupo BE, apenas 1/3 das fêmeas conceberam. Este resultado demonstra que a utilização exclusiva da IATF pode propiciar resultados desapontadores, tornando assim o processo pouco confiável. No entanto, se associada a um curto período de detecção de estros, a IATF parece ser uma alternativa viável de manejo reprodutivo para vacas de corte amamentando.

## CONCLUSÃO

Em vacas de corte *Bos taurus* os protocolos de indução de estro para o período pós-parto poderão realizar a observação de estro por dois dias associada

à inseminação pré-fixada, utilizando GnRH para induzir a ovulação, ao contrário do uso exclusivo de IATF com o BE.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq pelo suporte financeiro e à Granja Quatro Irmãos Ltda., pelo uso dos animais.

## REFERÊNCIAS

- AMBROSE, J.D. et al. Progesterone (CIDR)-based timed AI protocols using GnRH, porcine LH or estradiol cypionate for dairy heifers: Ovarian and endocrine responses and pregnancy rates. **Theriogenology**, v.53, p.1121-1134, 2005.
- BARUSELLI, P.S. et al. Efeito de diferentes protocolos de inseminação artificial em tempo fixo na eficiência reprodutiva de vacas de corte lactantes. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, v.26, p.218-221, 2002.
- BARUSELLI, P.S. et al. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrus beef cattle in tropical climates. **Animal Reproduction Science**, v.82, p.479-486, 2004.
- BASTOS, G.M. et al. Hormonal induction of ovulation and artificial insemination in suckled beef cows under nutritional stress. **Theriogenology**, v.62, p.847-853, 2004.
- BURKE, C.R. et al. Effects of maturity of the potential ovulatory follicle on induction of oestrus and ovulation in cattle with oestradiol benzoate. **Animal Reproduction Science**, v.66, p.161-174, 2001.
- COLAZO, M.G. et al. Effects of plasma progesterone concentrations on LH release and ovulation in beef cattle given GnRH. **Domestic Animal Endocrinology**, v.34, p. 109-117, 2007.
- DISKIN, M.G. et al. Exogenous hormonal manipulation of ovarian activity in cattle. **Domestic Animal Endocrinology**, v.23, p.211-228, 2002.
- EMBRAPA. **Unidade de apoio, pesquisa e desenvolvimento de instrumentação agropecuária**. Campinas, 2000. Acesso em 5 jun. 2006. Online. Disponível em: <<http://www.cnpia.embrapa.br>>.
- FERNANDES, P. et al. Timed artificial insemination in beef cattle using GnRH agonist PGF2alpha and estradiol benzoate. **Theriogenology**, v.55, p.1521-1532, 2001.
- GEARY, T.W. et al. Calf removal improves conception rates to the Ovsynch and CO-Synch protocols. **Journal of Animal Science**, v.79, p.1-4, 2001.
- HUMBLOT, P. et al. Use of pregnancy specific proteins and progesterone assays to monitor pregnancy and determine the timing, frequencies and sources of embryonic mortality in ruminants. **Theriogenology**, v.56, p.1417-1433, 2001.
- KASIMANICKAM, R. et al. Effect of timing of prostaglandin administration, controlled internal drug release removal and gonadotropin releasing hormone administration on pregnancy rate in fixed-time AI protocols in crossbred Angus cows. **Theriogenology**, v.66, p.166-172, 2006.
- LAMMOGLIA, M.A. et al. Induced and synchronized estrus in cattle: dose titration of estradiol benzoate in periparturient heifers and postpartum cows after treatment with an intravaginal progesterone-releasing insert and prostaglandin F2a. **Journal of Animal Science**, v.76, p.1662-1670, 1998.
- LOGUÉRCIO, R.S. et al. Effect of equine chorionic gonadotrophin on follicular dynamics and ovulatory capacity for fixed-time insemination and estrus resynchronization in postpartum beef cows (Trabalho submetido para publicação - Animal Reproduction Science). **Animal Reproduction Science**, 2007.
- MACIEL, M.N. et al. Efeito da somatotrofina bovina (bST-r), do implante de progestágeno e do desmame por 72 horas na indução do estro e na taxa de prenhez em vacas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.53, p.666-670, 2001.
- MARTINEZ, M.F. et al. The use of progestins in regimens for fixed-time artificial insemination in beef cattle. **Theriogenology**, v.57, p.1049-1059, 2002a.
- MARTINEZ, M.F. et al. The use of a progesterone-releasing device (CIDR) or melengestrol acetate with GnRH, LH or estradiol benzoate for fixed-time AI in beef heifers. **Journal of Animal Science**, v.80, p.1746-1751, 2002b.
- MAPLETOFT, R.J. et al. Estrogen esters to synchronize follicular wave emergence and ovulation in CIDR-treated cattle. In: ANNUAL CONVENTION OF THE AMERICAN EMBRYO TRANSFER ASSOCIATION, 2002, Albuquerque, New Mexico. **Proceedings...** Albuquerque: American Embryo Transfer Association, 2002. p.27-38.
- SANTOS, J.E.P. et al. The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrus synchronization programs. **Animal Reproduction Science**, v.82-83, p.513-535, 2004.
- SARTORI, R. et al. Follicular deviation and acquisition of ovulatory capacity in bovine follicles. **Biology of Reproduction**, v.65, p.1403-1409, 2001.
- STEVENSON, J.C. et al. Synchronizing estrus and (or) ovulation in beef cows after combinations of GnRH, norgestomet, and prostaglandin F2a with or without timed insemination. **Journal of Animal Science**, v.78, p.1747-1758, 2000.
- TWAGIRAMUNGU, H. et al. Synchronization of ovarian follicular waves with a gonadotropin-releasing hormone agonist to increase the precision of estrus in cattle: a review. **Journal of Animal Science**, v.73, p.3141-3151, 1995.