

UTILIZAÇÃO DE CLOPROSTENOL SÓDICO E BENZOATO DE ESTRADIOL EM VACAS DE CORTE INSEMINADAS EM TEMPO-FIXO OU COM OBSERVAÇÃO DE CIO

LUIZ FRANCISCO MACHADO PFEIFER,¹ EDUARDO MADEIRA CASTILHO,² AUGUSTO SCHNEIDER,³
ELIAS MOURA DA LUZ,² THOMAZ LUCIA JÚNIOR,⁴ NELSON JOSÉ LAURINO DIONELLO⁵ E
MARCIO NUNES CORRÊA⁶

1. Médico veterinário, MSc, Doutorando em Melhoramento Animal – UFPel. E-mail: lpfeifer@ufpel.edu.br

2. Médico veterinário

3. Médico veterinário, Mestrando em Biotecnologia Agrícola – UFPel

4. M.C., doutor, professor de Reprodução Animal. Faculdade de Veterinária – UFPel

5. M.C., doutor, professor de Melhoramento Animal. Faculdade de Agronomia – UFPel

6. M.C., doutor, professor de Clínica de Grandes Animais. Faculdade de Veterinária – UFPel

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar o emprego de um análogo da prostaglandina $F_2\alpha$ ($PGF_2\alpha$) em associação ao benzoato de estradiol (BE) em programas de sincronização de cios. Utilizaram-se 185 fêmeas não-lactantes divididas em quatro grupos. O G1 (44) e o G2 (46) receberam duas aplicações de $PGF_2\alpha$ (D0 e D11) e os animais do G3 (26) e G4 (37) uma aplicação de $PGF_2\alpha$, após cinco dias de detecção de cio. O G1 e o G3 receberam 1mg de BE 48

horas após a $PGF_2\alpha$. A taxa de prenhez na IA foi de 42,2% no G1, 47,8% no G2, 32,1% no G3 e 57,6% no G4 ($p>0,05$) e de 38,4% e 51,4% para animais submetidos à IATF e à detecção de cio, respectivamente ($p>0,05$). Notou-se que a taxa de prenhez nas fêmeas inseminadas em tempo-fixo não diferiu daquelas que foram inseminadas após a detecção de cio.

PALAVRAS-CHAVES: Bovinos de corte, inseminação artificial em tempo fixo, prostaglandina, sincronização de cios.

ABSTRACT

USE OF SODIUM CLOPROSTENOL AND OESTRADIOL BENZOATE IN BEEF CATTLE FEMALES INSEMINATED IN FIXED-TIME WITH OR WITHOUT ESTROUS RETECTION

The aim of this study was to evaluate the use of a prostaglandin $F_2\alpha$ analogue ($PGF_2\alpha$) and oestradiol benzoate (ODB) in estrus synchronization programs. A hundred and eighty five non-lactating females divided in 4 groups were used. G1 (44) and G2 (46) received two applications of $PGF_2\alpha$ (D0 and D11) and G3 (26) and G4 (37) received one application after 5 days of estrous detection. G1 and

G3 also received a 1 mg ODB application 48 hours after the $PGF_2\alpha$. The pregnancy rate at AI was 42,2% for G1, 47,8% for G2, 32,1% for G3 and 57,6% for G4 ($p>0,05$) and of 38,4% and 51,4% for animals submitted to FTAI and estrous detection, respectively ($p>0,05$). This results show that pregnancy rates of females fixed time inseminated didn't differ of that inseminated after estrus detection.

KEY-WORDS: Beef cattle, estrus synchronization, fixed time artificial insemination, prostaglandin.

INTRODUÇÃO

Apesar das vantagens da sua utilização, a técnica da inseminação artificial (IA) ainda é pouco difundida. Apenas 5% das matrizes dos EUA (PATTERSON et al., 2003) e 7% das brasileiras (ASBIA, 2004) são inseminadas anualmente. Uma das principais causas desses índices é a baixa acurácia na detecção de cio (BRITT, 1987). Nesse contexto, técnicas, como a sincronização de cios, podem ser utilizadas como ferramenta para otimização da eficiência reprodutiva (MAPLETOFT et al., 2003). A sincronização pode conduzir à obtenção tanto de melhores percentuais de natalidade quanto de uma parição mais precoce e uniforme na estação reprodutiva (GREGORY & ROCHA, 2004).

Para a sincronização de cios podem ser utilizados protocolos de diferentes custos associando hormônios que resultam em distintos índices de eficiência reprodutiva. Considerando a relevância da relação custo-benefício nos sistemas de produção, essa questão costuma limitar a utilização da técnica (CORAH & KIRACOFÉ, 1989; NAHMS, 1994).

Entre as alternativas de protocolos hormonais, a prostaglandina ($PGF_2\alpha$) e o benzoato de estradiol (BE) têm sido utilizados com frequência, porém combinados a outros hormônios, tais como progesterona ou análogos e GnRH (LANE et al., 2000; MARTINEZ et al., 2004), o que aumenta os custos desses protocolos. Em estudos em que é utilizada somente a $PGF_2\alpha$, apesar de sua efetividade na indução da luteólise, os sinais de cio podem ocorrer em um período de até seis dias após a aplicação desse hormônio. Essa variação do intervalo entre a aplicação hormonal, exteriorização do cio e, conseqüente, ovulação não se deve somente à responsividade do corpo lúteo (CL), mas também ao estágio de desenvolvimento do folículo dominante no momento da aplicação (MARTINEZ et al., 2004). Esse fato compromete o desempenho de programas de inseminação em tempo-fixado (IATF) exigindo, portanto, uma detecção de cio mais eficaz (BÓ et al., 2003). Nesse contexto, a utilização de estrógenos, tal como BE, tem se mostrado efi-

ciente quando associado a protocolos baseados em $PGF_2\alpha$, pois permite induzir, com adequada precisão, o momento da ovulação. Estudos indicam que o momento mais apropriado para a aplicação de 0,5 mg de BE (HANSEL et al., 1975; O'ROURKE et al., 2000) seria 24 horas após indução da luteólise (NANCARROW & RADFORD, 1975; RYAN et al., 1995), pois induz um pico nas concentrações de estradiol sérico, com amplitude semelhante ao que ocorre durante o cio natural (GLENCROSS & POPE, 1981).

O objetivo deste estudo foi avaliar o emprego de cloprostenol sódico em associação ao BE em vacas de corte não lactantes inseminadas em tempo-fixado ou com observação de cio, sobre a expressão de cio e taxa de prenhez.

MATERIAL E MÉTODOS

Este experimento foi realizado na Fazenda Sarandi, localizada na cidade de Melo, República Oriental do Uruguai. Utilizaram-se 185 vacas não-lactantes da raça Braford, sob condição de pastejo em campo nativo e recebendo suplementação mineral. Todas as fêmeas selecionadas para este experimento foram submetidas a um exame ginecológico por ultra-sonografia (PIE-MEDICAL ANSWER, equipado com sonda sectorial convexa de 5 MHz), bem como avaliadas quanto à condição corporal (CC) (em uma escala de 1 a 5). Descartaram-se do experimento as fêmeas que se apresentavam em anestro e/ou com $CC < 2,5$.

Dividiram-se os animais em quatro grupos, sendo que o Grupo 1 (G1), com 44 animais, recebeu duas aplicações de 250 μ g de cloprostenol sódico (Ciosin[®]), um análogo de $PGF_2\alpha$ (o que corresponde à metade da dose recomendada pelo fabricante) em um intervalo de onze dias e 1 mg de BE, 48 horas após a segunda aplicação de Ciosin[®]. As fêmeas desse grupo foram inseminadas 24 horas após a aplicação de BE. O Grupo 2 (G2), com 46 animais, também recebeu duas aplicações de Ciosin[®] na mesma dosagem do G1, em um intervalo de onze dias. Neste grupo, porém, após a segunda aplicação, fez-se observação de cio e procedeu-se à inseminação arti-

ficial das fêmeas que exteriorizavam cio. Já nos Grupos 3 e 4 (G3 e G4), com 26 e 37 animais, respectivamente, fez-se observação de cio seis dias antes da aplicação de Ciosin[®], sendo que os animais detectados em cio durante esse período eram inseminados e excluídos do experimento. Dessa forma, estes grupos foram compostos por um menor número de animais, em relação a G1

e G2. Os animais do G3 receberam apenas uma aplicação de metade da dose de Ciosin[®] e, 48 horas após, 1 mg de BE, sendo inseminados depois de 24 horas. Os animais do G4 receberam a mesma dosagem de Ciosin[®] do G3 e, após, procedeu-se à detecção de cio e inseminação artificial (IA) desses animais. A esquematização dos grupos experimentais é apresentada na Figura 1.

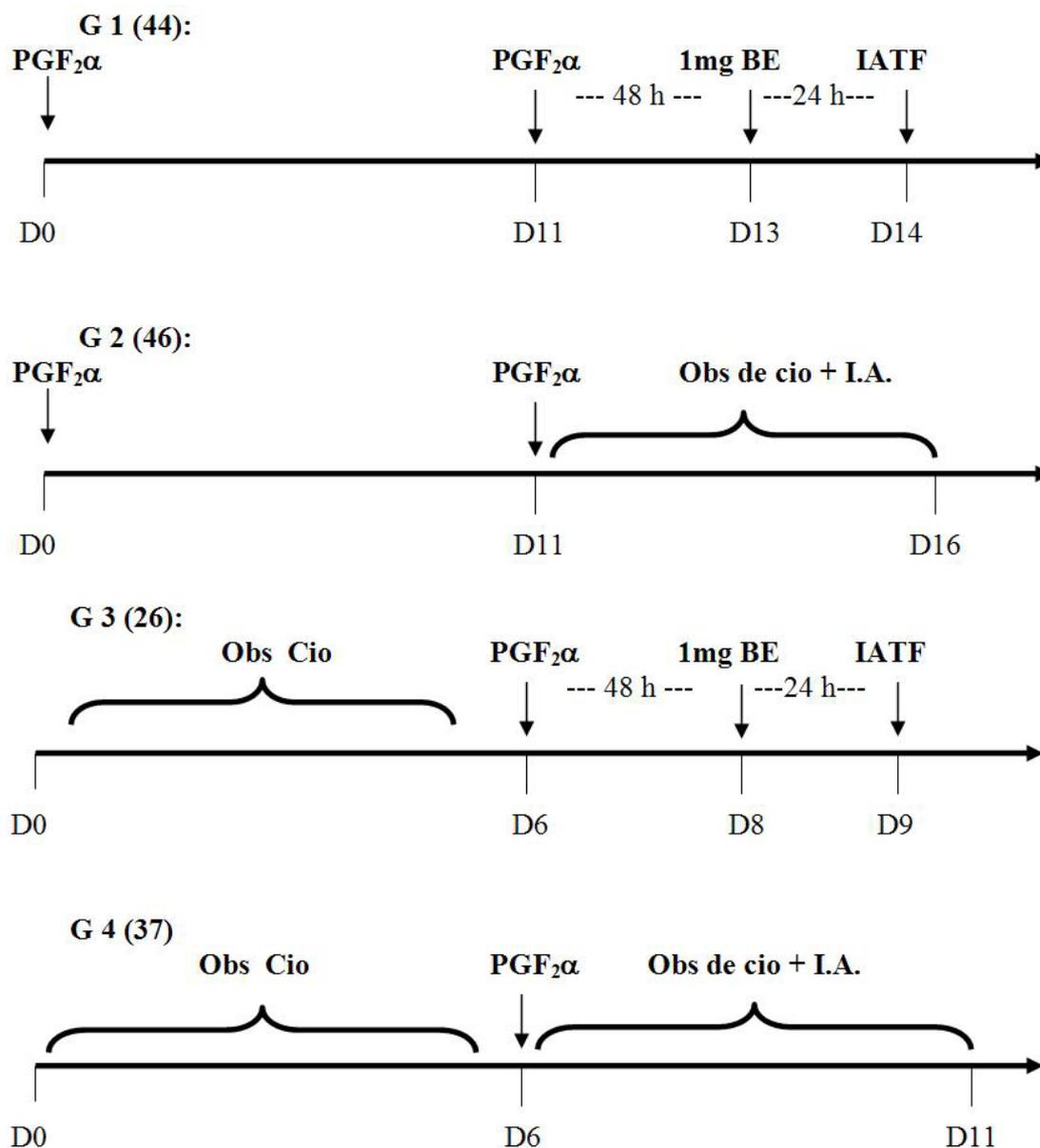


FIGURA 1. Protocolos utilizados no experimento

No G1, vinte animais (47%) apresentavam $CC \leq 3,0$ e 23 (53%) $CC > 3,0$; no G2, doze animais (26%) apresentavam $CC \leq 3,0$ e 34 (74%) $CC > 3,0$; no G3, dezessete (65%) animais apresentavam $CC \leq 3,0$ e 9 (35%) $CC > 3,0$; no G4, vinte e dois (62%) animais apresentavam $CC \leq 3,0$ e 14 (38%) $CC > 3,0$.

Fez-se a observação de cio durante cinco dias após a aplicação de Ciosin®, em todos os grupos, sendo realizada duas vezes ao dia, às seis e dezoito horas, por um período de uma hora por turno. Os animais eram inseminados doze horas após a detecção do cio no G2 e G4. Após o término do período de IA, submetem-se os animais à monta natural por um período de 45 dias.

Efetuiu-se o diagnóstico de gestação através de ultra-sonografia (PIEMEDICAL ANSWER, equipado com sonda setorial convexa de 5 MHz), trinta dias após o fim do período de monta natural, sendo que a diferença da taxa de prenhez entre a monta natural e as inseminações foi observada pelo tamanho do feto e características uterinas (GONÇALVES et al., 2001).

Avaliaram-se os resultados estatisticamente, mediante a utilização do programa STATISTIX® (2004). Procedeu-se à distribuição de frequências para as variáveis CC, momento da exibição de cio, taxa de prenhez na IA e tratamento. Também se realizou a regressão logística para as variáveis tratamento, CC e momento da exibição de cio.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Noventa e três (61,2%) das fêmeas apresentaram cio antes de 48 horas e 59 (38,8%) após 48 horas. Quando se considerou o total de fêmeas dos grupos submetidas à detecção de cio (G2 e G4), 24 (30,4%) fêmeas exibiram cio antes de 48 horas e 55 (69,6%) após 48 h. Já o G1 e o G3 (submetidos à IATF), 69 (94,5%) apresentaram cio antes de 48 horas e quatro (5,5%) após 48 horas. Diante da aplicação exógena de estradiol, foi observada diferença ($p < 0,0001$) no momento da exteriorização do cio do G1 e G3 em relação a G2 e G4, ou seja, os animais que receberam

BE exibiram cio antes de 48 horas após o término dos protocolos. Considerando os animais que exibiram cio antes de 48 horas após a aplicação do análogo de $PGF_2\alpha$, 44 (97,8%), 15 (32,6%), 25 (89,3%) e 9 (27,3%) pertenciam aos Grupos 1, 2, 3 e 4, respectivamente. Esses resultados concordam com os registrados por EVANS et al. (2003), que observaram em animais sincronizados com $PGF_2\alpha$ e BE que exteriorizaram cio entre 20 e 32 horas após a aplicação de BE, reduzindo o intervalo da aplicação de $PGF_2\alpha$ ao cio, independentemente se aplicado durante o período de emergência ou de dominância folicular. Dada essa independência entre a aplicação de BE e a manifestação de cio, não foi avaliado neste experimento o estágio de desenvolvimento folicular.

Como os níveis de progesterona diminuem rapidamente após a aplicação de $PGF_2\alpha$, há uma variação significativa no intervalo do período pró-estro subsequente (MacMILLAN, 1983), sendo este dependente do tamanho e da viabilidade do folículo dominante no momento da aplicação de $PGF_2\alpha$ (SCARAMUZI et al., 1980; MacMILLAN & HENDERSON, 1984). Em virtude desse fato, a sincronização é mais concentrada (75%-80% em cio dentro de um período de 24 horas) quando a $PGF_2\alpha$ é aplicada no início do diestro (dia 7), pois se tem maior padronização do diâmetro folicular (MacMILLAN et al., 2003). Estes achados demonstram que os animais submetidos à IATF, do G1 e G3, possivelmente possuíam um folículo dominante com diâmetro capaz de responder à indução da ovulação no momento da aplicação, evidenciando, assim, a boa eficácia desses protocolos na indução da ovulação.

A taxa de prenhez foi de 42,2% para o G1, 47,8% para o G2, 32,1% para o G3 e 57,6% para o G4 (Tabela 1), não se registrando diferenças ($p > 0,05$) entre esses grupos.

Para o G1 e o G3 (IATF), a taxa de prenhez na IA foi de 38,4% (28/73); para o G2 e o G4 (inseminação com detecção de cio), de 51,9% (41/79), e não se verificaram diferenças ($p > 0,05$). Esses resultados concordam com os de MARTINEZ et al. (2004), que relatam uma taxa

de prenhez de 39% na IATF em animais sincronizados com PGF₂α e BE em comparação a animais que receberam GnRH após a aplicação de PGF₂α. Outros estudos também demonstram que a aplicação de BE após tratamento com PGF₂α reduz a variabilidade do aparecimento do cio (WELCH et al., 1975), porém não afeta a taxa de concepção (WELCH et al., 1975; PETER et al., 1977).

TABELA 1. Taxa de prenhez (%) na IA de acordo com o tratamento aplicado (G1: PGF₂α + PGF₂α + BE; G2: PGF₂α + PGF₂α + OC; G3: PGF₂α + BE; G4: PGF₂α + OC)

Tratamento	Taxa de prenhez (%)
1	42,2 (19/45)
2	47,8 (22/46)
3	32,1 (9/28)
4	57,6 (19/33)

Não foram observadas diferenças entre os grupos ($p > 0,05$). OC= observação de cio; PGF₂α= prostaglandina; BE= benzoato de estradiol

ROCHE et al. (1979) demonstraram que a taxa de prenhez para animais tratados com duas aplicações de PGF₂α e IATF, às 72 e 96 horas, foi de 32% contra 48% de prenhez dos animais que foram tratados com uma aplicação de PGF₂α e submetidos a detecção de cio. Conforme observado em nosso experimento, os animais que receberam apenas uma aplicação de análogo da PGF₂α tiveram as melhores taxas de prenhez, provavelmente por serem submetidos a menores variações de seu ciclo fisiológico.

Quando a taxa de prenhez na IA foi categorizada para animais por $CC \leq 3$ e com $CC > 3$, esta foi de 44,7% (34/76) e 46,1% (35/76), respectivamente, não havendo diferença entre tais categorias ($p > 0,05$).

Os protocolos com inseminação em tempo-fixo utilizados neste experimento demonstraram boa eficiência reprodutiva, de acordo com o discutido anteriormente, e, portanto, sua implantação na estação reprodutiva apresenta uma grande vantagem. Isto é, esse tipo de inseminação reduz o tempo de trabalho e a mão-de-obra.

Além disso, é de baixo custo, se comparado a protocolos que utilizam progestágenos.

CONCLUSÃO

A partir dos resultados deste estudo foi possível observar que a taxa de prenhez nas fêmeas inseminadas em tempo-fixo, utilizando protocolos com cloprostenol sódico e benzoato de estradiol, não diferiu daquelas que foram inseminadas com observação de cio.

REFERÊNCIAS

ASBIA. Relatório Anual da Associação Brasileira de Inseminação Artificial. Uberaba, MG: Ed. ASBIA, 2004. 6p. Disponível em: <http://www.asbia.org.br/download/mercado/relatorio2004.pdf>. Acesso em: 10 abr. 2006.

BÓ, G. A.; BARUSELLI, P. S.; MARTINEZ, M. F. Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 78, p. 307-326, 2003.

BRITT, J. H. Induction and synchronization of ovulation. In: HAFEZ, E. S. E; HAFEZ, B. **Reproduction in Farm Animals**. Philadelphia, PA: Ed. Lea & Febiger, 1987. 367 p.

CORAH, L. R.; KIRACOFÉ, G. H. Present status of heat synchronization in beef cattle. **Angus Journal**, St. Joseph, v. June/July, p. 628-631, 1989.

EVANS, A. C. O.; O'KEEFFE, P.; MIHM, M.; ROCHE, J. F.; MACMILLAN, K. L.; BOLAND, M. P. Effect of oestradiol benzoate given after prostaglandin at two stages of follicle wave development on oestrus synchronisation, the LH surge and ovulation in heifers. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 76, p. 13-23, 2003.

GLENCROSS, R. G.; POPE, G. S. Concentrations of oestradiol 17β and progesterone in the plasma of dairy heifers before and after cloprostenol-induced and natural luteolysis during

early pregnancy. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 4, p. 93-106, 1981.

GONÇALVES, P. B. D.; FIGUEIREDO, J. R.; FREITAS, V. J. F. **Biotécnicas aplicadas à reprodução animal**. Brasil: Livraria Varela, 2001. p. 1-13.

GREGORY, R. M.; ROCHA, D. C. Protocolos de sincronização e indução de estros em vacas de corte no Rio Grande do Sul. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUÇÃO ANIMAL APLICADA, 1., 2004, Londrina, PR. **Anais ... Londrina**, 2004.

HANSEL, W.; SCHECHTER, R. J.; MALVEN, P. V.; SIMMONS, K. R.; BLACK, D. L.; HACKETT, A. J.; SAATMAN, R. R. Plasma hormone levels in 6-methyl-17-acetoxypregesterone and estradiol benzoate treated heifers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 40, p.671-681, 1975.

LANE, E. A.; AUSTIN, E. J.; ROCHE, J. F.; CROWE, M. A. The effect of estradiol benzoate on synchrony of estrus and fertility in cattle after removal of a progesterone-releasing intravaginal device. **Theriogenology**, Los Altos, v. 55, p. 1807-1818, 2001.

MACMILLAN, K. L. Prostaglandin responses in dairy herd breeding programmes. **New Zealand Veterinary Journal**, Palmerston North, v. 31, p. 110, 1983.

MACMILLAN, K. L.; DAY, A. M.; SMITH, J. F. Onset of oestrus and fertility in lactating dairy cows injected with an analogue of prostaglandin F_{2α}, cloprostenol. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 3, p. 171-180, 1980.

MACMILLAN, K. L.; HENDERSON, H. V. Analysis of the variation in the interval from an injection on PGF_{2α} to oestrus as a method of studying patterns of follicle development during dioestrus in dairy cows. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 6, p. 245-254, 1984.

MACMILLAN, K. L.; SEGWAGWE, B. V. E.; PINO, C. S. Associations between the manipulation of patterns of follicular development and fertility in cattle. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 78, p. 327-344, 2003.

MAPLETOFT, R. J.; MARTÍNEZ, M. F.; COLLAZO, M. G.; KASTELIC, J. P. The use of controlled internal drug release devices for the regulation of bovine reproduction. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 81(E. Suppl. 2), p. E28-E36, 2003.

MARTÍNEZ, M. F.; KASTELIC, J. P.; MAPLETOFT, R. J. The use of estradiol and/or GnRH in a two-dose PGF protocol for breeding management of beef heifers. **Theriogenology**, Los Altos, v. 62, p. 363-372, 2004.

NAHMS. Sparse use of reproductive management technology for beef heifers and cows. National Animal Health Monitoring System, USDA, APHIS, CHAPA Info. Sheet 5/94, 1994. Disponível em: http://www.aphis.usda.gov/vs/ceah/cahm/Beef_Cow-Calf/chapa/ccmgtech.pdf. Acesso em 1 fev. 2005.

NANCARROW, C. D.; RADFORD, H. M. Proceedings: use of oestradiol benzoate to improve synchronization of oestrus in cattle. **Journal of Reproduction and Fertility**, Cambridge, v. 43, p. 404, 1975.

O'ROURKE, M.; DISKIN, M. G.; SREENAN, J. M.; ROCHE, J. F. The effect of dose and route of oestradiol benzoate administration on plasma concentrations of oestradiol and FSH in long-term ovariectomised heifers. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 59, p.1-12, 2000.

PATTERSON, D. J.; KOJIMA, F. N.; SMITH, M. F. A review of methods to synchronize estrus in replacement beef heifers and postpartum cows. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 81(E. Suppl. 2), p. E166-E177, 2003.

PETERS, J. B.; WELCH, J. A.; LAUDERDALE, J. W.; INSKEEP, E. K. Synchronization of estrus

in beef cattle with PGF 2α and estradiol benzoate. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 45, p. 2330-2335, 1977.

ROCHE, J. F.; PRENDIVILLE, D. J. Control of estrus in dairy cows with a synthetic analogue of prostaglandin F 2α . **Theriogenology**, Los Altos, v.11, p. 153-162, 1979.

RYAN, D. P.; SNIJDERS, S.; YAAKUB, H.; O'FARRELL, K. J. Effect of estradiol subsequent to induced luteolysis on development of the ovulatory follicle and interval to estrus and ovulation. **Theriogenology**, Los Altos, v. 43, p. 310, 1995.

SCARAMUZZI, R. J.; TURNBULL, K. E.; NANCARROW, C. D. Growth of Graafian folli-

cles in cows following luteolysis induced by the prostaglandin F 2α analogue, cloprostenol. **Australian Journal of Biological Sciences**, East Melbourne, v. 33, p.63-69, 1980.

STATISTIX®. **Statistix for Windows user's manual**. Tallahassee: Ed. Analytical Software, 2004.-

WELCH, J. A.; HACKETT, A. J.; CUNNINGHAM, C. J.; HEISHMAN, J. O.; FORD, S. P., NADARAJA, R. Control of estrus in lactating beef cows with prostaglandin F 2α and estradiol benzoate. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 41, p. 1686-1692, 1975.

Protocolado em: 10 maio 2006. Aprovado em: 5 set. 2007.