AVALIAÇÃO DAS TAXAS DE CONCEPÇÃO EM VACAS PLURÍPARAS ANELORADAS COM A UTILIZAÇÃO DE DOIS ANÁLOGOS DE GnRH NO MOMENTO DA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO

Evaluation of conception rates in pluriparous nellore ringed cows with the utilization of two GnRH analogues at the time of fixed time artificial insemination

Thiago Neder LISBOA *[1], Fábio André Ferreira CUSTÓDIO [2,3], Ana Carolina Rusca Correa PORTO [2], Igor Djalma RENOSTO[3], Jéssica Amaral Almeida CAMARGO[3], Fernanda de Oliveira GONÇALVES[3], Thiago Belo FERREIRA[4]

[1*] Graduando do Curso de Medicina Veterinária, Universidade de Sorocaba (UNISO), Sorocaba, SP, Brasil. E-mail: thiagolisboa99@hotmail.com.
[2-] M.V. Docente do Curso de Medicina Veterinária, Universidade de Sorocaba (UNISO), Sorocaba, SP, Brasil.
[3-] M.V. Centro de Treinamento Agropecuário Bravo (CTA BRAVO), Salto de Pirapora, SP, Brasil. [4-] Zootecnista, Centro de Treinamento Agropecuário Bravo (CTA BRAVO), Salto de Pirapora, SP, Brasil.

Resumo

A Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF) é uma das principais biotecnologias responsáveis pelos elevados índices de eficiência reprodutiva dentro das propriedades. A busca pela alta produtividade fomentou uma série de estudos ao longo dos últimos quarenta anos, como é o caso do uso do Hormônio Liberador de Gonadotrofina (GnRH) como segundo indutor de ovulação no momento da Inseminação Artificial (IA). Com isso, o objetivo do trabalho foi avaliar as taxas de concepção utilizando dois diferentes análogos do GnRH (Acetato de buserelina e Lecirelina) no momento da inseminação, em um protocolo para IATF. Os dados obtidos foram correlacionados com as taxas de expressão de estro no momento da IA e com as taxas de concepção avaliadas por diagnóstico de gestação ultrassonográfico aos 30 dias. Ao final, os análogos não apresentaram diferenças numericamente significantes quanto à taxa de concepção e a taxa de expressão de estro, porém quando comparamos a taxa de concepção de acordo com o escore de expressão de estro os resultados tiveram diferenças consideráveis, com expressivo aumento na concepção das fêmeas com manifestação parcial de estro (escore 2) que foram submetidas a aplicação da Lecirelina.

Palavras-chave: Análogos do GnRH. IATF. Taxa de concepção. Taxa de expressão de estro.

Abstract:

Fixed Time Artificial Insemination (FTAI) is one of the main biotechnologies responsible for high reproductive efficiency rates within farms. The search for high productivity has fostered a series of studies over the last forty years, such I the case of Gonadotropin-releasing hormone (GnRH) as the second ovulation inducer at the time of Artificial Insemination (AI). Thus, this paper's goal has been to identify the conception rates using two GnRH analogues (Buserelin acetate and Lecirelin) at the time of insemination, in an FTAI protocol. The data so obtained was correlated with Oestrus expression rates at the time of AI and with conception rates evaluated by ultrasonography pregnancy diagnosis after 30 days. In the end, both analogues did not show numerically significant differences as to conception rates and Oestrus expression rates. However when we compared the conception rate in accordance with the Oestrus expression score the results showed relevant differences, with expressive increase in conception of the females with partial manifestation of Oestrus (score 2) that have been submitted to application of Lecirelin.

Keywords: Conception rate. FTAI. GnRH analogues. Oestrus expression rate.

Introdução

De acordo com um levantamento feito pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, o Brasil possui um rebanho estimado em 224,6 milhões de cabeças bovinas (IBGE, 2021). A pecuária brasileira é líder em exportações, além de ocupar a segunda colocação entre os maiores países produtores de carne bovina no mundo (ABIEC, 2022), provando sua grande importância perante o cenário mundial.

Na bovinocultura de corte e leite, a eficiência reprodutiva é um dos principais responsáveis pela lucratividade e sucesso na criação. Quando aliada a um bom manejo nutricional, sanitário e uma boa seleção no melhoramento genético, reflete significativamente na qualidade dos bezerros produzidos por vaca/ano, intensificando a sustentabilidade econômica da produção (CASTRO et al., 2018). Diante disso, quando aplicadas corretamente, as biotecnologias impactam positivamente no desempenho produtivo e reprodutivo do rebanho, além de otimizarem os sistemas de criação e sua rentabilidade (BARUSELLI et al., 2012; BARUSELLI et al., 2019).

Dentre as biotecnologias da reprodução bovina, a Inseminação Artificial (IA) é a mais empregada em todo o mundo e sua inserção nas propriedades resulta em inúmeras vantagens quando comparada com a monta natural (BARUSELLI et al., 2018).

Segundo os dados divulgados pela ASBIA (INDEX CEPEA/ASBIA 2022), de um total de 82.031.208matrizes (corte/leite) disponíveis apenas 20,81%% foram submetidas à IA no Brasil em 2022, crescendo significativamente quando comparado com 2002, ano em que se iniciaram as avaliações. O constante crescimento da Inseminação Artificial muito se deve aos estudos e avanços científicos nos protocolos de sincronização para a Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF), permitindo a utilização da técnica em larga escala uma vez que elimina a necessidade de detecção de estro, aumentando a disseminação de material genético superior e a produtividade da cadeia (BARUSELLI et al., 2022).

Diversos são os modelos de protocolos para o emprego da IATF em bovinos (GOTTSCHALL et al.,2009). As diferentes opções farmacológicas, diferentes princípios ativos, fabricantes, doses, e até mesmo o momento das aplicações resultam em inúmeros estudos para a evolução da técnica.

Um dos protocolos mais empregados é formado a base de estradiol (E2), progesterona (P4) e prostaglandina (PGF) (BÓ et al., 1995; BARUSELLI et al., 2012). A combinação de E2 e P4 tem a função de realizar a atresia dos folículos presentes independente da fase do ciclo estral em que a fêmea esteja, e dar início à emergência de uma nova onda folicular (BÓ et al., 2002). O uso da PGF2α e seus análogos possui efeito luteolítico, possibilitando maiores taxas de expressão de estro (NARUMIYA et al., 1999).

A adoção da gonadotrofina coriônica equina (eCG) pode melhorar os resultados dentro de um programa de IATF, principalmente quando aplicada em fêmeas que apresentarem ECC baixo (SALES et al., 2011). Sua aplicação promove um maior crescimento do folículo pré-ovulatório, que produzirá mais estrógeno e terá uma melhor resposta ovulatória. Desta forma, um maior corpo lúteo se originará, e, consequentemente com maior produção de progesterona, melhorando as chances de manutenção de uma possível gestação (BARUSELLI et al., 2008).

A indução da ovulação pode ser realizada através da aplicação direta de um análogo de GnRH (PETERS, 2005), ou então usando os ésteres de estradiol (benzoato, cipionato) (SALES et al., 2012). Além de ser utilizado como um indutor de ovulação, em um primeiro momento o GnRH foi estudado como estratégia de prevenção contra perdas embrionárias e tratamento para cistos ovarianos (PETERS, 2005).

O GnRH é um decapeptídeo liberado de forma pulsátil pelo hipotálamo e seu alvo são sítios específicos localizados na adeno-hipófise, a qual irá estimular liberação do hormônio folículo estimulante (FSH) e do hormônio luteinizante (LH) (REECE et al., 2017). Desta forma, sua função é provocar ovulação ou luteinização do folículo dominante presente no momento da aplicação (MACMILLAN e THACTHER, 1991).

Conhecendo o mecanismo de ação desse hormônio, alguns estudos foram realizados sobre seu uso para aumentar a fertilidade dos animais. Sendo assim, Mee et al. (1990) desenvolveram um estudo em que faziam o uso de uma dose de GnRH no momento da inseminação artificial em um sistema de observação

de cio, visando um aumento das taxas ovulatórias. Após analisarem milhares de animais, os tratados com o hormônio se sobressaíram quando comparados aos do grupo controle, apresentando entre seis e sete pontos percentuais a mais na taxa de prenhez no primeiro e segundo serviço, respectivamente.

De acordo com Ferreira et al. (2017), o uso do GnRH no momento da inseminação artificial em novilhas impacta significativamente nas taxas de concepção, tanto nos animais que apresentam cio como naqueles que não apresentam. O tratamento com GnRH pode ser uma ferramenta interessante para otimizar os resultados da IATF também em primíparas, independente se houver ou não manifestação de estro (GONÇALVES et al., 2017). Em pluríparas, os resultados não seguiram os mesmos padrões das categorias anteriores. Consentini et al. (2017) constataram que o GnRH não obteve melhora na fertilidade dos animais que manifestaram estro, enquanto os que não demonstraram estro apresentaram uma tendência para o aumento da prenhez.

Diante disso, esse trabalho teve como objetivo avaliar as taxas de concepção utilizando dois diferentes análogos do GnRH no momento da Inseminação Artificial, dentro de um programa de IATF.

Material e Métodos

Este trabalho foi aprovado pelo CEUA – UNISO sob o protocolo nº 227/2022

Foram utilizadas 69 vacas pluríparas aneloradas em período de pós-parto selecionadas a partir das condições reprodutivas, sanitárias e nutricionais para participarem do programa de IATF. Os animais residem na Fazenda Estância Hortência, localizada na Estrada Vicinal João Vermelho, s/n, no município de Salto de Pirapora, SP.

Após selecionados, cada animal passou por um único protocolo de sincronização, realizado em momentos diferentes dentro da estação reprodutiva. O protocolo para a Inseminação Artificial em Tempo Fixo foi pensado estrategicamente de acordo com as características do lote, sendo realizado em três manejos de entrada em curral (D0; D8; D10) de acordo com o descrito no **Quadro 1**. No último dia (D10), juntamente com a IA foi realizada a aplicação do Hormônio Liberador de Gonadotrofina (GnRH), como segundo indutor de ovulação. Por ordem de entrada, as vacas de forma intercalada receberam um dos dois diferentes análogos de GNRH pela via intramuscular, podendo ser o Acetato de Buserelina (Sincroforte®) ou a Lecirelina (Tec-relin®) nos volumes de 2,5 e 1 ml, respectivamente.

Quadro 1: Protocolo de Inseminação Artificial em Tempo Fixo utilizado nas vacas submetidas ao experimento.

D0	D8	D10
Colocação do dispositivo de progestágeno e aplicação de Benzoato de Estradiol (2ml)	Retirada do dispositivo de progestágeno; Aplicação de Cipionato de Estradiol (0,5ml); Gonadotrofina coriônica equina – ECG (1,5ml) e Cloprostenol Sódico (2ml) + Bastão de cera	Inseminação Artificial em Tempo Fixo e aplicação do Hormônio liberador de gonadotrofina: Acetato de Buserelina (2,5ml) ou Lecirelina (1ml)

Fonte: Elaboração própria.

Para possível interpretação dos resultados, no manejo do dia 8 foi realizada nos animais a passagem de bastão de cera identificador de cio na base da cauda, permitindo a realização do escore de classificação de estro no momento da inseminação, com notas variando entre 1 e 3, sendo 1) Manifestação total de estro; 2) Manifestação parcial de estro e 3) Sem manifestação de estro, conforme a **Figura 1**.

Figura 1: Escore de manifestação de estro.

Resultados e Discussão

De acordo com as informações obtidas através do diagnóstico de gestação realizado 30 dias após o protocolo de Inseminação Artificial em Tempo Fixo, as taxas de concepção entre os dois diferentes análogos utilizados não apresentaram diferenças numericamente significativas **(Tabela 1).**

Tabela 1: Taxas de concepção de acordo com os análogos de GnRH empregados durante o protocolo de IATF.

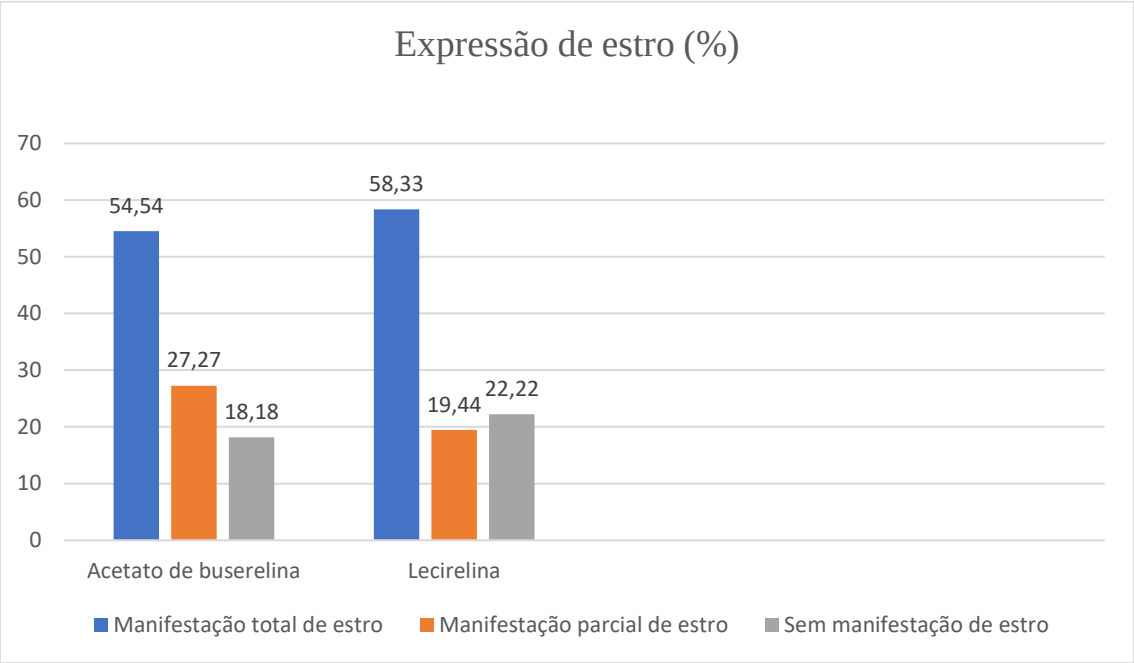
Análogo	Apresentação comercial	N total	N P+	Concepção (%)
Acetato de Buserelina	Sincroforte®	33	23	**69,70**
Lecirelina	Tec-relin®	36	23	**63,89**

Fonte: Elaboração própria.

As taxas de expressão de estro no momento da IATF também não apresentaram grandes diferenças numéricas entre os dois princípios ativos do GnRH.

Admitindo que as classificações de escore de estro 1 e 2 representam as vacas que manifestaram estro (total ou parcial), a diferença no resultado entre os análogos foi de 4,04 pontos percentuais, sendo o Acetato de Buserelina quem se sobressaiu **(Figura 2).**

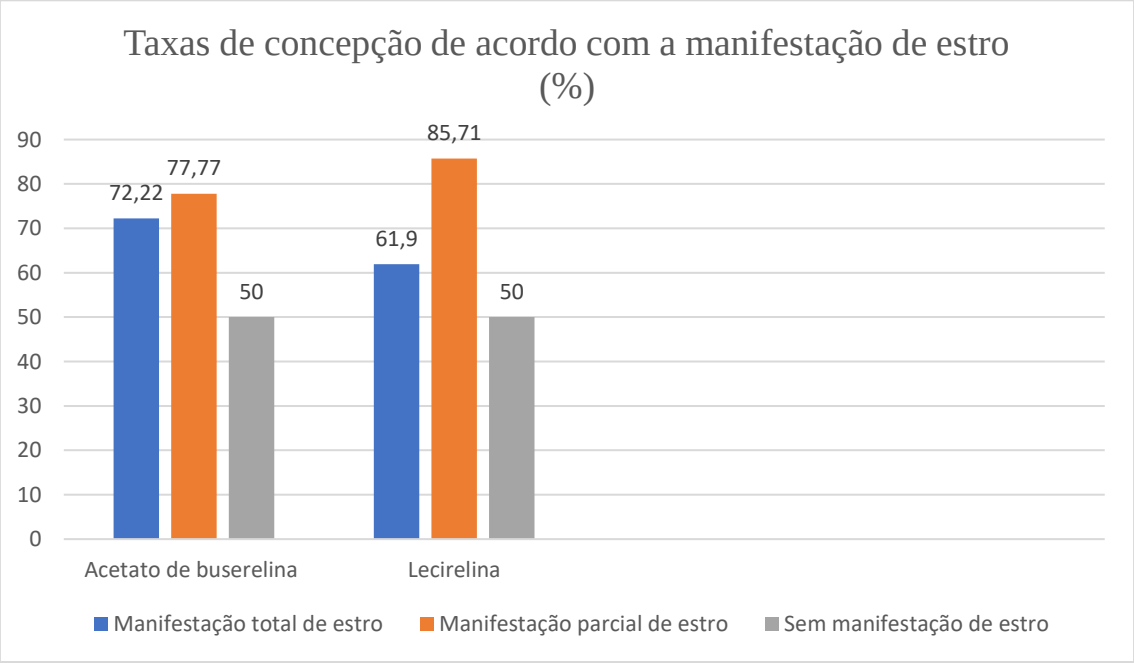
Figura 2: representação gráfica das Taxas de expressão de estro durante o protocolo de IATF.



Fonte: Elaboração própria.

Em relação às taxas de concepção quando relacionadas à expressão de estro, o Acetato de Buserelina obteve sucesso de 10,32% a mais nas vacas que manifestaram totalmente estro (Escore 1). Quando as taxas são analisadas em relação às vacas que tiveram manifestação parcial de estro os resultados se invertem, fazendo com que a Lecirelina leve vantagem em 7,95% (Escore 2) **(Figura 3).**

Figura 3: representação gráfica das Taxas de concepção de acordo com a manifestação de estro.



Fonte: Elaboração própria.

Embora Consentini et al. (2017) terem constatado que o GnRH não proporcionou melhora na fertilidade das vacas que manifestaram estro, em nosso estudo quando classificamos os animais de acordo com a manifestação de estro as matrizes que demonstraram estro parcial foram as responsáveis pelas maiores taxas de concepção de acordo com a manifestação de estro independente do análogo utilizado. Além disso, a lecirelina se mostrou muito eficaz obtendo uma taxa de 23,81% a mais nas fêmeas que manifestaram parcialmente estro (escore 2) quando comparada com as que manifestaram totalmente (escore 1), enquanto o acetato de buserelina obteve somente 5,55%. **(Figura 3)**.

O mecanismo de ação do hormônio teve influência direta nos resultados, uma vez que promove o pico de GnRH e consequentemente o pico de secreção de LH, resultando na ovulação (SARTORI et al., 2017), além de apresentar capacidade luteinizante que irá originar um melhor corpo lúteo e uma melhor manutenção da gestação (MEE et al., 1990).

Nas vacas que não tiveram manifestação de estro no momento da inseminação (Escore 3), as taxas de concepção foram iguais nos dois diferentes análogos, conforme a **Figura 3.** Esses animais, ao receberem o GnRH se mantiveram na média em suas concepções. Os níveis baixos de estrógeno circulante podem ter evitado a ocorrência da manifestação de estro e consequentemente a ovulação poderia não ter ocorrido ou acontecido em um momento inadequado. Pode ainda ter ocorrido falha na sincronização do recrutamento de ondas de crescimento folicular nas fêmeas que não expressaram estro no dia da IATF, atrasando o momento ovulatório. A indução da ovulação com o GnRH mesmo sendo administrada no momento da inseminação, pode resultar em uma melhor resposta ovulatória dessas matrizes e consequentemente em um aumento nas taxas de concepção (FACHIN, 2018).

Conclusão

A utilização dos diversos análogos do Hormônio Liberador de Gonadotrofina no momento da Inseminação Artificial é comprovadamente eficaz na fertilidade das fêmeas bovinas ao participarem de um programa de IATF. Ao compararmos o Acetato de buserelina com a Lecirelina as taxas de expressão de estro ao término do protocolo e as taxas de concepção obtidas através do diagnóstico de gestação trinta dias após à IATF não apresentaram diferenças numericamente significantes entre os dois análogos de GnRH utilizados. Porém, quando comparados os dados das taxas de concepção em relação ao escore de expressão de estro notou-se uma considerável diferença no uso da Lecirelina nas vacas que manifestaram parcialmente estro (escore 2) em relação as que manifestaram totalmente (escore 1), sendo as de escore 2 superiores em 23,81%. Novos estudos deverão ser realizados com um número maior de animais e também com um lote de grupo controle para analises mais sólidas dos resultados.

Agradecimentos

Agradecemos ao Centro de Treinamento Agropecuário BRAVO (CTA BRAVO) por ter apoiado e possibilitado a realização deste trabalho.

Referências bibliográficas

ABIEC. Associação brasileira das indústrias exportadora de carne. **Perfil da pecuária no Brasil. BeefREPORT**, p. 47, 2022.

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. In: III Simpósio Internacional de Reprodução Animal, Proceedings, v.1, p.380, 2008.

BARUSELLI P.S., SALES J.N.S., SALA R.V., VIEIRA L.M., SÁ FILHO M.F. History, evolution and perspectives of timed artificial insemination programs in Brazil. **Anim Reprod Sci**, v.9, n.3, p.139-152, 2012.

BARUSELLI P.S., FERREIRA R.M., SÁ FILHO M.F., BÓ G.A. Review: Using artificial insemination v. natural service in beef herds. **Animal**, v.12, p.45-52, 2018.

Baruselli P.S., Catussi B.L.C., Abreu L.A., Elliff, F.M., Silva L.G., Batista E.S., Crepaldi G.A. 2019. Evolução e perspectivas da inseminação artificial em bovinos. Rev. Bras**. Reprod. Anim**. 43(2): 308-314.

BARUSELLI, P. S. et al. IATF em números: evolução e projeção futura. Anais da VI Reunião Anual da Associação Brasileira de Andrologia Animal. 2022.

BO, G.A.; ADAMS, G.P.; PIERSON, R.A.; MAPLETOFT, R.J.Exogenous control of follicular wave emergence in cattle. **Theriogenology** 43: 31-40, 1995

BÓ, G.A.; BARUSELLI, P.S.; MORENO, D.; CUTAIA, L.; CACCIA, M.; TRIBULO, R.; TRIBULO, H.; MAPLETOFT, R.J. The control of follicular wave development for self-appointed embryo transfer programs in cattle. Theriogenology 57: 53-72, 2002.

CASTRO, Fernanda Cavallari de; FERNANDES, Hugo; LEAL, Cláudia Lima Verde. Sistemas de manejo para maximização da eficiência reprodutiva em bovinos de corte nos trópicos.**Vet. Zoot.**, p. 41-61, 2018.

CONSENTINI, C. E. C.; MADUREIRA, G.; MOTTA, J. C. L.; MELO, L. F.; PRATA, A. B.; GONÇALVES, J. R. S.; JUNIOR, P. L. J. M.; ALVARENGA, A. B.; WILTBANK, M. C.; SARTORI, R. Reproductive efficiency of Nelore cows submitted to 7-d FTAI protocols initiated with estradiol benzoate or GnRH and with or without gnrh at the time of AI. ANNUAL MEETING OF THE BRAZILIAN EMBRYO TECHNOLOGY SOCIETY (SBTE), 31. 2017, Cabo de Santo Agostinho, Pe, Brazil. ANIMAL REPRODUCTION. Belo Horizonte, Mg, Brazil: Editorial Board, 2017. 14 v.

FACHIN, H. Uso de GnRH no momento da inseminação artificial como ferramenta para otimizar os resultados de protocolos de IATF em gado de corte. 2018. 26f. Graduação (Trabalho de conclusão de curso) – Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Catarina, Curitibanos.

FERREIRA, R. M.; GONÇALVES JUNIOR, A.; SARAN JUNIOR, A. J.; GONÇALVES, R. L.; LOLLATO, J. P. M. SALES, J. N. S. BRUSELLI, P. S. Treatment with GnRH (Gonaxal®) at AI increases pregnancy rate of nelore cyclic heifers that showed or not estrus during the TAI protocol, with greater impact in those without estrus demonstration. ANNUAL MEETING OF THE BRAZILIAN EMBRYO TECHNOLOGY SOCIETY (SBTE), 31., 2017, Cabo de Santo Agostinho, Pe, Brazil. ANIMAL REPRODUCTION. Belo Horizonte, Mg, Brazil: Editorial Board, 2017. 14 v.

GONÇALVES JUNIOR W. A.; SARAN JUNIOR A. J.; GONÇALVES R. L.; LOLLATO J. P. M.; SALES J. N. S.; MINGOTI R. D.; BARUSELLI P. S.; FERREIRA R. M. Treatment with GnRH (Gonaxal®) at AI increases pregnancy rate of Nelore primiparous cows that showed or not estrus during the TAI protocol. ANNUAL MEETING OF THE BRAZILIAN EMBRYO TECHNOLOGY SOCIETY (SBTE), 31., 2017, Cabo de Santo Agostinho, Pe, Brazil. ANIMAL REPRODUCTION. Belo Horizonte, Mg, Brazil: Editorial Board, 2017. 14 v.

GOTTSCHALL, C. S. et al. Antecipação da aplicação de prostaglandina, em programa de inseminação artificial em tempo fixo em vacas de corte. Rev. Bras. Saúde Prod. Ani., v.10, n.4, p.970-979, 2009.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Censo Brasileiro de 2010. Rio de Janeiro: IBGE, 2012.

MACMILLAN, K. L.; THATCHER, W. W. Effects of an agonist of gonadotropin-releasing hormone on ovarian follicles in cattle. **Biology of Reproduction**, v. 45, n. 6, p. 883-889, 1991.

MEE, M.O., STEVENSON, J.S., SCOBY, R.K., FOLMAN, Y. Influence of gonadotropin-releasing hormone and timing of insemination relative to estrus on pregnancy rates of dairy cattle at first service. Journal of Dairy Science, 73, 1500– 1507, 1990.

NARUMIYA, S.; SUGIMOTO, Y.; USHIKUBI, F. Prostanoid receptors: structures, properties, and functions. Physiological Reviews, v.79, n.4, p.1193-226, 1999.

PETERS, A. R. Veterinary clinical application of GnRH - questions of efficacy. Animal reproduction science, v. 88, n. 1, p. 155-167, 2005.

REECE, W. Dukes – Fisiologia dos Animais Domésticos. 13ª ed., Roca, p.1465-1500. 2017

SALES J. N. S., CREPALDI G. A., GIROTTO R. W., SOUZA A. H., BARUSELLI P. S., Fixed-Time AI Protocols Replacing Ecg With A Single Dose Of FSH Were Less Effective In Stimulating Follicular Growth, Ovulation, And Fertility In Suckledanestrus Nellore Beef Cows. Anim Reprod Sci, v.124, p.12-18, 2011.

SALES, J.N.S.; CARVALHO, J.B.P.; CREPALDI, G.A.; CIPRIANO, R.S.; JACOMINI, J.O.; MAIO, J.R.G.; SOUZA, J.C.; NOGUEIRA, G.P.; BARUSELLI, P.S. Effects of two estradiol esters (benzoate and cypionate) on the induction of synchronized ovulations in Bos indicus cows submitted to a timed artificial insemination protocol. Theriogenology, 78: 510-516, 2012

SARTORI, R.; PURSLEY, J. R.; WILTBANK, M. C. Estrous cycle of heifers and lactating dairy cows: Ovarian and hormonal dynamics and estrous cycle abnormalities. 3. ed. 2017, p.489-502.