

## Estratégias para reduzir a mortalidade embrionária em bovinos: II. Protocolo para reduzir a mortalidade embrionária em vacas de leite e em receptoras de embrião



*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Embrapa Pecuária Sudeste  
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

# ***Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 27***

## **Estratégias para reduzir a mortalidade embrionária em bovinos: II. Protocolo para reduzir a mortalidade embrionária em vacas de leite e em receptoras de embrião**

Rui Machado  
Marco Aurélio C. M. Bergamaschi  
Júlio C.B. da Silva  
Mario Binelli

Embrapa Pecuária Sudeste  
São Carlos, SP  
2010

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

**Embrapa Pecuária Sudeste**

Rod. Washington Luiz, km 234  
13560 970, São Carlos, SP  
Caixa Postal 339  
Fone: (16) 3411- 5600  
Fax: (16): 3361-5754  
Home page: [www.cppse.embrapa.br](http://www.cppse.embrapa.br)  
Endereço eletrônico: [sac@cppse.embrapa.br](mailto:sac@cppse.embrapa.br)

**Comitê de Publicações da Unidade**

Presidente: Ana Rita de Araujo Nogueira  
Secretária-Executiva: Maria Luiza F. Nicodemo  
Membros: Ane Lisy F.G. Silvestre, Maria Cristina Campanelli Brito,  
Milena Ambrosio Telles, Sônia Borges de Alencar

Normalização bibliográfica: Sônia Borges de Alencar  
Edição eletrônica: Maria Cristina Campanelli Brito  
Foto da capa: Sudano, M.J. e Danilo de Paula Moreira

**1ª edição**

1ª edição on-line (2010)

**Todos os direitos reservados**

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Embrapa Pecuária Sudeste**

---

Machado, Rui

Estratégias para reduzir a mortalidade embrionária em bovinos. II. Protocolo para reduzir a mortalidade embrionária em vacas de leite e em receptoras de embrião [Recurso eletrônico] / Rui Machado [et al.] \_\_ Dados eletrônicos. \_\_ São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, 2010.

Sistema requerido: Adobe Acrobat Reader.

Modo de acesso: Word Wide Web: <<http://www.cppse.embrapa.br/sites/default/files/principal/publicacao/Boletim27.pdf> >

Título da página na Web (acesso em 30 de dezembro de 2010).

23 p. (Embrapa Pecuária Sudeste / Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 27; ISSN: 1980-6841).

1. Gado leiteiro - Vaca - Reprodução - Embrião - Mortalidade - I. Bergamaschi, Marco Aurélio C. M. II. Silva, Júlio C. B. III. Binelli, Mario. IV. Título. V. Série.

---

CDD: 636.0824

© Embrapa 2010

# Sumário

Resumo .....	5
Abstract .....	7
Introdução .....	8
Revisão de Literatura .....	8
Material e Métodos .....	10
Resultados .....	13
Discussão .....	14
Conclusões .....	18
Referências .....	19

# Estratégias para reduzir a mortalidade embrionária em bovinos: II. Protocolo para reduzir a mortalidade embrionária em vacas de leite e em receptoras de embrião

---

*Rui Machado<sup>1</sup>*

*Marco Aurélio C. M. Bergamaschi<sup>2</sup>*

*Júlio C.B. da Silva<sup>3</sup>*

*Mario Binelli<sup>4</sup>*

## Resumo

A mortalidade embrionária precoce é a maior causa de perdas reprodutivas em bovinos e ela relaciona-se, principalmente com os distúrbios do reconhecimento materno da prenhez originados em disfunções do corpo lúteo ovariano. Recentemente, foi desenvolvido na Embrapa Pecuária Sudeste, um protocolo hormonal que melhora a função luteínica e permite aumentar a oportunidade para um reconhecimento materno da prenhez bem sucedido. O protocolo baseia-se na administração de hormônios reprodutivos (GnRH e hCG) em ocasiões estratégicas após a ovulação. Foram realizados dois experimentos, um com vacas leiteiras e outro com receptoras de embrião, para testar e validar o uso desse protocolo. Após a aplicação do tratamento houve aumento nas taxas de prenhez. Os resultados detalhados do uso dessa prática estão descritos no presente Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento. O protocolo testado traduz-se numa prática pecuária de controle das funções ovariana e uterina que otimiza a eficiência reprodutiva de vacas leiteiras e de receptoras de embrião.

**Termos para indexação:** bovino, embrião, GnRH, hCG, prenhez.

<sup>1</sup> Médico Veterinário, Dr., pesquisador da Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, SP, rui@cppse.embrapa.br

<sup>2</sup> Médico Veterinário, Dr., Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, SP, marco@cppse.embrapa.br

<sup>3</sup> Médico Veterinário, Embryolife, Ouro Fino, MG.

<sup>4</sup> Engenheiro Agrônomo, PhD., Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, Pirassununga, SP.

# Strategies to reduce embryo mortality in cattle. II. Protocol to reduce embryo mortality in dairy cows and embryo recipients

---

## Abstract

Early embryo mortality is the major cause of reproductive losses in cattle and relates to disturbances of the maternal recognition of pregnancy, which in their turn result from corpus luteum malfunctioning. Recently, Embrapa Pecuária Sudeste devised a hormonal treatment that optimizes luteal function in order to favor a well-succeeded maternal recognition of pregnancy. The protocol is based on the administration of reproductive hormones (GnRH and hCG) at specific times after ovulation. In order to test and validate such protocol, two field trials were carried out with dairy cows and embryo recipients. There was an increase in the pregnancy rate of treated cows. This outcome makes possible to use the protocol as an innovative husbandry practice, which is fully addressed in this Research and Development Bulletin.

**Index terms:** cattle, embryo, GnRH, hCG, pregnancy.

## Introdução

A eficiência reprodutiva é determinante da produtividade e lucratividade das explorações pecuárias. Entretanto, a taxa de parição após uma única inseminação artificial (IA) é baixa e situa-se por volta de 42% em vacas leiteiras (STEVENSON et al., 1999), embora as taxas de fertilização em bovinos atinjam até 100% (SARTORI & DODE, 2008). Nesse contexto é preciso aumentar as taxas de prenhez para tornar as explorações pecuárias mais lucrativas e competitivas. Nos estudos sobre o tema, ficou consistentemente demonstrado que a maioria das perdas de prenhez ocorre no período inicial do desenvolvimento embrionário. Esse cenário motivou a elaboração de um projeto de pesquisa, desenvolvimento e inovação na Embrapa sob o título de: “Mortalidade embrionária em bovinos e estratégias para a sua redução”, o qual teve como um de seus objetivos o desenvolvimento de alternativas para reduzir a mortalidade embrionária precoce em bovinos.

O presente Boletim de Pesquisa & Desenvolvimento apresenta resultados finalísticos daquele projeto que resultaram na validação de uma prática pecuária (ÁVILA & BORGES, 2007) que reduziu a mortalidade embrionária precoce, com conseqüente aumento da taxa de prenhez de vacas leiteiras e receptoras de embrião.

## Revisão de literatura

A eficiência reprodutiva é um dos componentes mais importantes no desempenho econômico das explorações pecuárias leiteiras (LEITE et al., 2001) e das propriedades que utilizam a transferência de embriões (FERNANDES, 1999). Segundo Gaines (1994), o ganho potencial resultante do incremento na taxa reprodutiva é cinco vezes maior que o esperado pelo aumento da qualidade do leite e três vezes maior que o esperado pelo melhoramento genético. Porém, o desempenho reprodutivo de bovinos criados no Brasil ainda é deficiente e há espaço para melhoria significativa nos seus índices de prenhez.

A maioria das perdas de prenhez ocorre no início da gestação da vaca (DISKIN & SREENAN, 1980). De fato, no verão, em vacas lactantes da raça holandesa de alta produção, a percentagem de embriões viáveis foi de 33,3% e de 27,1%, respectivamente aos seis dias (SARTORI et al., 2002) e aos treze dias (RYAN et al., 1993) após a inseminação artificial (IA). Estas perdas no início da gestação coincidem com o período da maturação funcional do corpo lúteo (MANN, 2001), a qual deveria perdurar até o reconhecimento materno da prenhez, que ocorre entre 15 e 19 dias desde a fertilização.

Portanto, a disfunção luteínica está associada com as perdas precoces de prenhez. Para Binelli et al. (2009), a resultante dessa disfunção é a luteólise, que pode ocorrer independentemente da presença do embrião no útero. A redução ou corte do suprimento de progesterona luteínica afeta negativamente a comunicação entre o concepto (embrião em desenvolvimento envolto nas membranas extra-embrionárias) e o útero materno. Disso decorre a mortalidade embrionária precoce.

Para contornar possíveis deficiências na função do corpo lúteo pode-se suplementar progesterona (GEISERT et al., 1988) ou administrar agentes luteotróficos (BINELLI et al., 2001; MACHADO et al., 2008a) após a ovulação. Machado et al. (2006) apresentaram um protocolo pós-ovulação para a otimização da função luteínica baseado na aplicação de hormônio liberador das gonadotrofinas (GnRH) e da gonadotrofina coriônica humana (hCG), respectivamente cinco e doze dias depois da ovulação. Num estudo recente com vacas de corte (MACHADO et al., 2010) realizado na Embrapa Pecuária Sudeste, esse protocolo logrou retardar a luteólise, aumentar a fase luteínica e aumentar a produção de progesterona no diestro até o período de reconhecimento materno da prenhez.

As bases fisiológicas desse protocolo foram determinadas pelo modo de ação de cada um daqueles hormônios. Antecipava-se que o GnRH aplicado no D<sub>5</sub> induziria a ovulação do folículo dominante da primeira onda, formaria um corpo lúteo acessório e recrutaria, de modo sincronizado, a segunda onda de crescimento folicular. A hCG

administrada no  $D_{12}$  causaria a ovulação do dominante dessa segunda onda e induziria a formação de um segundo corpo lúteo acessório, bem como recrutaria a terceira onda no dia  $D_{15}$  pós-ovulação. Deste modo, os folículos em crescimento dessa terceira onda estariam pequenos até  $D_{19}$  e produziram menos estradiol. Este efeito equivaleria à “remoção farmacológica” do folículo dominante no período crítico do reconhecimento materno da prenhez, o que poderia retardar o estímulo luteolítico e aumentar o período de exposição progesterônica ao concepto. Adicionalmente, a hCG estimularia os corpos lúteos (original + acessórios) a produzirem mais progesterona, o que prepararia ainda mais o ambiente uterino para o desenvolvimento embrionário. Em síntese, esta imbricada cascata de eventos teria como resultante líquida a otimização da função luteínica e o controle do crescimento folicular durante o reconhecimento materno da prenhez (BINELLI et al., 2009).

A otimização do reconhecimento materno da prenhez implica no aumento das taxas de prenhez por permitir mais tempo para o concepto crescer e tornar eficiente sua sinalização, prevenindo a luteólise e evitando a mortalidade embrionária precoce. Neste Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento estão apresentados os resultados de experimentos conduzidos a campo e que aplicaram o citado protocolo em vacas de leite e receptoras de embrião.

## Material & Métodos

Foi conduzido um experimento na Fazenda Canchim da Embrapa Pecuária Sudeste (São Carlos, SP) e outro na Fazenda Cardinal (Mococa, SP). Ambas as localidades possuem clima tropical (tipo CWA, Köppen) de verão quente e úmido com inverno seco. O experimento um (E1) utilizou vacas da raça Holandesa do rebanho leiteiro da Embrapa e o experimento dois (E2) usou vacas mestiças de corte, majoritariamente  $\frac{1}{2}$  Nelore  $\frac{1}{2}$  Simental e  $\frac{1}{2}$  Nelore  $\frac{1}{2}$  Red Angus do rebanho de receptoras de embrião da fazenda Cardinal.

## Experimento um (E1)

Duzentas e noventa e seis vacas cíclicas em lactação da raça Holandesa foram observadas quanto à manifestação do estro (entre as 05h00min e 18h00min pelos próprios manejadores) e inseminadas artificialmente pelo sistema “am:pm” “pm:am”<sup>1</sup> entre março de 2008 e abril de 2010. As vacas tinham entre dois e cinco partos, pesavam  $518 \pm 58$  kg e apresentavam escore de condição corporal (ECC; MACHADO et al., 2008b) de  $3,1 \pm 0,3$ . Os animais foram vacinados contra febre aftosa em novembro e maio, clostridiose bovina em novembro e agosto e pasteurelose bovina e paratifo no período peri-parto. Foi feito o teste cervical comparativo para tuberculose. Os endoparasitos foram controlados conforme calendário próprio da fazenda Canchim, com doramectina e o controle de ectoparasitos foi feito de acordo com a carga de infestação. O controle das doenças da reprodução baseou-se na realização de testes diagnósticos (CARDOSO et al., 1999) para brucelose (soro-aglutinação), neosporose (soro-aglutinação), diarreia bovina à vírus – BVD (neutralização viral), rinotraqueíte infecciosa bovina - IBR (neutralização viral) e leptospirose (soro-aglutinação microscópica). As vacas foram avaliadas ginecologicamente por ultra-sonografia e aquelas com histórico de falhas reprodutivas (abortos e “repeat-breeders”) não foram usadas.

O manejo adotado incluiu pastejo rotacionado em Panicum sp. e suplementação concentrada (conforme produção leiteira). Quando necessária foi fornecida suplementação volumosa (cana-de-açúcar + uréia + sulfato ou silagem de milho). As vacas foram distribuídas num delineamento inteiramente casualizado nos grupos: Controle ( $C_{\text{leite}}$ ;  $n = 163$ ), que não recebeu tratamento adicional e grupo tratado ( $GH_{\text{leite}}$ ;  $n = 133$ ) que recebeu  $250\mu\text{g}$  de gonadorrelina (GnRH) 5 dias e  $2500$  UI da hCG 12 dias depois da IA.

---

<sup>1</sup> Vacas observadas em “cio” pela manhã eram inseminadas à tarde, e aquelas observadas à tarde eram inseminadas na manhã do dia seguinte. Em ambos os casos a inseminação era feita próxima ao fim do “cio”, ou seja, na faixa temporal de fertilidade mais alta.

## Experimento dois (E2)

Cento e oitenta e três receptoras de embrião cruzadas  $\frac{1}{2}$  Angus +  $\frac{1}{2}$  Nelore e  $\frac{1}{2}$  Simental +  $\frac{1}{2}$  Nelore foram mantidas sob manejo padronizado da Fazenda Cardinal. As vacas eram cíclicas e tinham (média  $\pm$  erro padrão) idade de  $4,31 \pm 0,65$  anos, peso vivo de  $447,9 \pm 5,7$  kg e ECC de  $5,1 \pm 0,1$  (escala de 1-9; MACHADO et al., 2008b) ao início do experimento. O manejo zoonitário foi similar ao descrito em E1.

A sincronização do ciclo estral foi feita pela administração de uma injeção IM com 2mg de Benzoato de estradiol (BE) simultaneamente à colocação de implante auricular com 3 mg de Norgestomet, que permaneceu *in situ* por nove dias. No momento da retirada do implante foram aplicadas 400UI de eCG via IM. Sete dias após a ovulação (D7), as vacas foram inovuladas com embriões da raça Brahman produzidos *in vitro*. Antes da transferência, as vacas foram distribuídas num delineamento de blocos casualizados generalizados (animais estratificados por idade, peso vivo, condição corporal) de forma aleatória nos seguintes tratamentos: Controle<sub>seca</sub> (n = 37) – vacas inovuladas no final da época seca (mês de agosto) sem receber tratamento adicional; GnRH/hCG<sub>seca</sub> (n = 36) – vacas inovuladas no final da época seca que receberam 250 $\mu$ g de gonadorelina (GnRH) 09 dias depois da retirada do implante (D5 pós ovulação) e 2500 UI de hCG, sete dias depois (D12 pós ovulação); Controle<sub>águas</sub> (n = 57) – vacas inovuladas na época chuvosa (mês de fevereiro) sem receber tratamento adicional; GnRH/hCG<sub>águas</sub> (n = 53) – vacas tratadas como em GnRH/hCG seca, porém inovuladas na época chuvosa.

O diagnóstico de gestação foi feito por ultra-sonografia transretal de 28 a 30 dias após a inseminação artificial das vacas leiteiras no E1 e aos 28 e 60 dias após a data da ovulação das receptoras no E2. As ultrassonografias foram feitas conforme procedimento padrão (PIERSON & GINTHER, 1988) com o aparelho Mind Ray modelo Vet 3300 acoplado ao transdutor de 5,0 MHz. O procedimento FREQ do SAS System for Windows (2000) foi usado para aplicar o teste do qui-quadrado ( $\chi^2$ ) sobre as taxas de prenhez.

## Resultados

Os resultados estão sumariados nas tabelas 1 e 2.

**Tabela 1** – Taxas de prenhez de vacas leiteiras da raça holandesa segundo os tratamentos<sup>\*, 2</sup>

	controle	GnRH/hCG
Tratadas (N)	163	133
Prenhes (n)	77	76
Taxa de prenhez*	47,2% <sup>b</sup>	57,1% <sup>a</sup>

\*  $a \neq b$ ;  $0,05 < P < 0,10$ ;  $\chi^2 = 2,87$ .

Não houve efeito significativo do touro utilizado ou da época do ano ( $P > 0,05$ ) em que foi feita a inseminação artificial.

**Tabela 2** – Taxas de prenhez de receptoras de embrião segundo os tratamentos

<b>Estação seca</b>	controle	GnRH/hCG
Tratadas (N)	37	36
Prenhes aos 28 dias(n)	15	18
Taxa de prenhez aos 28 dias	40,5%	50,0%
Prenhes aos 60 dias (n)	12	16
Taxa de prenhez aos 60 dias	32,4%	44,4%
<b>Estação águas</b>		
Tratadas (N)	57	53
Prenhes aos 28 dias(n)	34	32
Taxa de prenhez aos 28 dias	59,6%	60,4%
Prenhes aos 60 dias (n)	28	30
Taxa de prenhez aos 60 dias	49,1%	56,6%
<b>Total</b>		
Tratadas (N)	94	89
Prenhes aos 28 dias(n)	49	50
Taxa de prenhez aos 28 dias	52,1%	56,2%
Prenhes aos 60 dias (n)	40	46
Taxa de prenhez (60 dias)	42,5%	51,7%

<sup>2</sup> A probabilidade de 10% ( $P < 0,10$ ) foi arbitrada como estatisticamente significativa.

A despeito de não atingir significância estatística ( $\chi^2 = 2,33$ ), a proporção de mortalidade embrionária entre 28 e 60 dias foi mais alta para vacas controle (9/49 = 18,4%) do que para as vacas tratadas (4/50 = 8%). Na ultrassonografia (feita aos 60 dias de prenhez das receptoras de embrião) verificou-se um número significativamente ( $P < 0,05$ ) maior de corpos lúteos nas vacas tratadas ( $1,64 \pm 0,12$ ) do que nas vacas controle ( $0,78 \pm 0,08$ )<sup>3</sup>.

## Discussão

Nos dois experimentos, a proporção de vacas prenhes foi mais alta naquelas que receberam o protocolo. No E1, a taxa de prenhez das vacas tratadas com GnRH/hCG foi maior ( $P < 0,10$ ) que a das vacas controle. O incremento nas taxas de prenhez (9,9% no E1 e 9,2% no E2) decorreu da ação combinada dos hormônios utilizados. De fato, em experimento prévio (MACHADO et al, 2010) conduzido na Embrapa Pecuária Sudeste, a estratégia baseada na combinação GnRH/hCG retardou a luteólise, ampliou a fase luteínica e aumentou a produção de progesterona no período crítico do reconhecimento materno da prenhez em vacas de corte Nelore. A associação desses efeitos mantém o útero sob ação progesterônica no período de interesse para a comunicação entre o concepto e a unidade materna, ocorrência que favorece o crescimento do concepto (BINELLI & THATCHER, 1999), a sinalização bioquímica de sua presença no útero e a manutenção da prenhez (BINELLI et al., 2001).

Vacas leiteiras são particularmente acometidas por disfunções ovarianas que resultam em baixa atividade luteínica com diminuição da concentração de progesterona circulante durante o diestro (SANGSRITAVONG et al., 2002), redução na concepção (WATHES et al., 2003) e comprometimento do reconhecimento materno da prenhez e do desenvolvimento embrionário (MANN & LAMMING, 1999). Há inúmeras origens para essas disfunções, como: o estresse térmico (GEISERT et al.,

---

<sup>3</sup> Resultado que já havia sido divulgado em Machado et al., 2006.

1988), os desequilíbrios nutricionais caracterizados por redução no ECC (LÓPEZ-GATIUS et al., 2002) e o desvio de nutrientes para a síntese láctea nas vacas de alta produção (LUCY, 2001). Este último fenômeno é agravado ainda pelo acelerado metabolismo hepático das vacas leiteiras para as moléculas de esteróides (VASCONCELOS et al., 2004). Assim, nos rebanhos leiteiros há uma grande proporção de vacas “alvo” a serem beneficiadas por suplementação hormonal.

Apesar de que os resultados em prenhez apresentarem-se maiores aos previamente relatados para vacas leiteiras (SARTORI et al., 2002; RYAN et al., 1993), especula-se que as diferenças percentuais nas taxas de prenhez (tabelas 1 e 2) poderiam ter sido ainda maiores, pois antecipava-se uma ação luteotrófica muito potente nas vacas tratadas. Porém, o GnRH nem sempre atua consistentemente na indução da ovulação do folículo dominante da primeira onda (KASTELIC & MAPLETOFT, 1998) e no recrutamento sincronizado da segunda onda de crescimento folicular (BINELLI et al., 2009). Nesses casos, os ovários ficam sem suplementação gonadotrófica até a aplicação da hCG em D12. Nesse período, efeitos estressores como a nutrição inadequada e a temperatura ambiente elevada (GAINES, 1994; LOPEZ-GATIUS et al., 2002; LUCY, 2001; SANGSRITAVONG et al., 2002; SARTORI & DODE, 2008) podem por em risco a viabilidade embrionária. Mesmo assim, o uso do GnRH é justificável, pois, naquelas vacas que respondem, ocorre elevação da média de progesterona circulante ao longo do diestro (BINELLI et al., 2009). Além disso, a ação benéfica do GnRH aplicado no D5 ocorre bem antes do início de toda a cascata de eventos que levam à luteólise (BANU et al., 2003). Tal circunstância melhora o micro ambiente uterino, de modo a favorecer o crescimento do concepto e a secreção de suas moléculas sinalizadoras já a partir do 10º dia do desenvolvimento embrionário (PETERS et al., 1992). Isso contribui para o reconhecimento materno da prenhez. Por outro lado, Araújo et al. (1998) aplicaram 10µg de busirelina, análogo do GnRH, à inovulação (D7) e cinco dias depois (D12) e não houve maior retenção de prenhez nas receptoras tratadas em comparação às do controle. Esses achados reforçaram a decisão de usar a hCG no D12, a qual pode compensar a possível “falha” na resposta ao GnRH.

No E2, as vacas responderam ao protocolo com a formação de corpo lúteo acessório, redundando num número maior ( $P < 0,05$ ) de corpos lúteos para as vacas tratadas. De fato, em experimento prévio (MACHADO et al., 2010) conduzido na Embrapa Pecuária Sudeste, verificou-se que a aplicação isolada da hCG no D12 foi luteotrófica, pois induziu a formação de um corpo lúteo acessório e aumentou a progesterona circulante, resposta análoga ao uso da hCG no início da fase luteínica (MACHADO et al., 2008a; WALTON et al., 1990). Tais efeitos foram atribuídos à longa meia-vida da hCG e lenta degradação do complexo hCG-receptor para LH nas células da granulosa (SCHMITT et al., 1996), de modo que a hCG atuou tanto no corpo lúteo original preexistente, como na neo-formação de tecido luteínico do corpo lúteo acessório. A progesterona secretada pelo corpo lúteo regula o desenvolvimento embrionário e Binelli & Thatcher (1999) enfatizaram a necessidade de potente atividade luteínica durante o período do reconhecimento materno da prenhez para favorecer o crescimento do concepto e sua capacidade de secretar interferon- $\tau$  em grande quantidade.

Além do efeito sobre o corpo lúteo, o protocolo com GnRH e hCG reprograma o ciclo ovariano de modo a impedir a presença de folículos dominantes no período crítico para o reconhecimento materno da prenhez (BINELLI et al., 2009). Este evento é importante, pois, o estradiol secretado pelo folículo dominante está implicado no mecanismo que deflagra a luteólise na vaca (BINELLI et al., 2001). Com efeito, Ambrose et al. (1998) demonstraram que sem a ação de folículos grandes, as concentrações de estradiol mantiveram-se baixas e as de progesterona altas durante o período crítico, o reconhecimento materno da prenhez foi favorecido e houve maior proporção de vacas prenhes. Esses autores concluíram que reduzir o tamanho ou eliminar a presença de um folículo dominante deve minimizar o estímulo luteolítico associado ao estradiol.

Há controvérsias se a ação luteotrófica da hCG sobre as vacas relaciona-se diretamente à redução da mortalidade embrionária (WALTON et al., 1990; RAJAMAHENDRAN & SIANANGAMA, 1992; SCHMITT et al., 1996). Nos relatos de Walton et al. (1990) e de Schmitt et al. (1996), as taxas de prenhez de vacas leiteiras não foram influenciadas pelo tratamento com hCG, pois em vacas sob estresse térmico, a progesterona circulante não é fator limitante do estabelecimento da gestação (SCHMITT et al., 1996). Isto é o que potencialmente ocorreria no nosso caso, quando há estresse ambiental em vacas de raças européias criadas em condições subtropicais. De fato, o estresse térmico pode causar danos que atuam diretamente no embrião (HANSEN, 2004) e resultam na sua morte, independentemente de qualquer papel da hCG sobre o microambiente uterino. Assim, na presença de estresse térmico, a elevação da progesterona hCG-induzida pode ser ineficaz.

Rajamahendran e Sianangama (1992) também verificaram taxa mais alta de prenhez em vacas tratadas com 1500 UI de hCG no D7 após a IA. Eles concluíram que o benefício da hCG adveio da permanência de uma estrutura luteínica acessória que pode ter contribuído para reduzir a mortalidade embrionária tardia (da 5ª até a 9ª semana da prenhez). Esta categoria pode responder por até 11,4% das perdas de prenhez (STARBUCK et al., 2004). Coerentemente, no E2 as perdas embrionárias entre 28 e 60 dias de gestação foram numericamente menos impactantes nas vacas tratadas (8%) do que nas controle (18,4%). Esse resultado (já divulgado preliminarmente por MACHADO et al., 2006) foi atribuído à presença de corpos lúteos acessórios aos 28 dias ( $P < 0,05$ ), o que ilustra a função luteínica otimizada para as fêmeas tratadas.

Marques (2002) obteve taxas de concepção mais altas para receptoras suplementadas com GnRH ou hCG à inovulação (D7) atingindo percentuais de respectivamente, 53,5% e 51,0% superiores ( $P < 0,05$ ) aos 28,6% das vacas não suplementadas. Analogamente, as receptoras que receberam a suplementação gonadotrófica no E2 tiveram valores mais altos (embora  $P > 0,05$ ) para a taxa de prenhez em relação às não tratadas.

Os resultados dos experimentos ganham consistência pelo fato de que a interação tratamento x taxa de prenhez não foi significativa ( $P > 0,05$ ), ou seja, a ação luteotrófica do protocolo GnRH/hCG manifestou-se em ambas as situações experimentais apresentadas e aumentou ( $P < 0,10$ ) a taxa de prenhez das vacas leiteiras. Além disso, no E1, as outras fontes de variação estudadas não tiveram efeito significativo, embora Vasconcelos et al. (2004) tenham relatado diferenças na fertilidade do sêmen de touros de raças leiteiras com reflexos sobre a taxa de concepção e López-Gatius et al. (2002) também reportaram haver touros causadores de maiores perdas de prenhez do que outros.

Uma das intenções do protocolo GnRH/hCG é aumentar, por via indireta, a progesteronemia da fase luteínica após a ovulação e favorecer assim o reconhecimento materno da prenhez. Esta estratégia mostrou-se tão eficaz quanto a administração “direta” da progesterona, pois em revisão prévia, Mann & Lamming (1999) encontraram que, em geral, vacas suplementadas com progesterona após a inseminação artificial obtiveram taxas de concepção aproximadamente 5% mais altas do que vacas não suplementadas. Valor aquém dos aproximados 10% alcançados no presente estudo.

## Conclusões

O protocolo testado, baseado na aplicação de GnRH e hCG em ocasiões específicas, mostrou ser uma estratégia eficaz para reduzir a mortalidade embrionária precoce, particularmente em vacas de leite. A partir dos resultados apresentados neste boletim, criam-se possibilidades de estudo e de aplicação do protocolo e aperfeiçoamentos relacionados à dose-efeito, uso de outros análogos do GnRH, outras doses e vias de aplicação do agente luteotrófico final (hCG ou LH).

## Referências

AMBROSE, J. D.; PIRES, M. F. A.; MOREIRA, F.; BINELLI, M.; THATCHER, W. W. Influence of Deslorelin (GnRH-agonist) implant on plasma progesterone, first wave dominant follicle and pregnancy in dairy cattle. **Theriogenology**, v. 50, p. 1157-1170, 1998.

ARAÚJO, M. C. C.; FREITAS, C.; COSTA, E. P.; GALIMBERT, A. M.; SÁ, W. F. GUIMARÃES, J. D.; COSTA, D. S. GnRH analogous (buserelin) in bovine embryo recipients. **Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS**, v. 26, (Supl. 26) p. 219, 1998.

ÁVILA, A. F. D.; BORGES, J. R. A. **Manual dos indicadores de avaliação de desempenho dos centros de pesquisa da Embrapa\_ ano base 2007**. Brasília: Embrapa. Secretaria de Gestão e Estratégia. 2007. 36 p.

BANU, S. K.; AROSH, J. A.; CHAPDELAINE, P.; FORTIER, M. Expression and regulation of prostaglandin transporter in corpus luteum and utero-ovarian plexus during the bovine estrous cycle and pregnancy. **Biology of Reproduction**, v. 68 (suppl. 1), p. 175-176, 2003.

BINELLI, M.; MACHADO, R.; BERGAMASCHI, M. A. C. M.; BERTAN, C. M. Manipulation of ovarian and uterine function to increase conception rates in Cattle. **Animal Reproduction**, v. 6, n.1, p. 125-134, 2009.

BINELLI, M.; THATCHER, W. W. Conceptus stimulated signal transduction pathway in the endometrium to maintain pregnancy. **Annual Review of Biomedical Sciences**, v. 1, n. 1, p. 59-85, 1999.

BINELLI, M.; THATCHER, W. W.; MATTOS, R.; BARUSELLI, P. S. Antiluteolytic strategies to improve fertility in cattle. **Theriogenology**, v. 52, p. 1451-1463, 2001.

CARDOSO, M. V.; SCARCELLI, E.; GENOVÊZ, M. E.; GRASSO, L. M. P.; TEIXEIRA, S. R.; TIMENETSKY, J. *Ureaplasma diversum* e *Mycoplasma spp* em disfunções reprodutivas inespecíficas de vacas e novilhas de rebanhos do Estado de São Paulo, Brasil. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 23, n. 3, p. 408-409, 1999.

DISKIN, M. G.; SREENAN, J. M. Fertilization and embryonic mortality rates in beef heifers after artificial insemination. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 59, p. 463-468, 1980.

FERNANDES, C. A. C. Inovações não cirúrgicas e taxa de gestação de receptoras de embrião. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 51, n. 3, p. 263-266, 1999.

GAINES, J. D. Analysis of reproductive efficiency of dairy herds. In: PROCEEDINGS FOR ANNUAL MEETING, 1994, Kansas City. **Proceedings...** Kansas City: Society for Theriogenology, 1994.: p.86-107.

GEISERT, R. D.; ZAVY, M. T.; BIGGERS, B. G.; GARRET, J. E.; WETTEMANN, R. P. Characterization of the uterine environment during early conceptus expansion in the bovine. **Animal Reproduction Science**, v.16, n.1, p.11-25, 1988.

HANSEN, P. J. Physiological and cellular adaptations of zebu cattle to thermal stress. **Animal Reproduction Science**, v. 82-83, p. 349-360, 2004

KASTELIC, J. P.; MAPLETOFT, R. J. Follicular responses in dairy cows treated with GnRH and cloprostenol. **Canadian Veterinary Research**, v. 39, p. 107-109, 1998.

LEITE, T. E.; MORAES, J. C. F; PIMENTEL, C. A. Eficiência produtiva e reprodutiva em vacas leiteiras. **Ciência Rural**, v. 31, n. 3, p. 467-472, 2001.

LÓPEZ-GATIUS, F.; SANTOLARIA, P.; YÁNIZ, J.; RUTLLANT, J.; LÓPEZ-BÉJAR, M. Factors affecting pregnancy loss from gestation day 38 to 90 in lactating dairy cows from a single herd. **Animal Reproduction Science**, v. 57, p. 1251-1261, 2002.

LUCY, M. C. Reproductive loss in high-producing dairy cattle: where will it end? **Journal of Dairy Science**, v. 84, p. 1277-1293, 2001.

MACHADO; R.; BARBOSA, R. T.; SILVA, J. C. B.; BERGAMASCHI, M. A. C. M.; SARTI, L.; BINELLI, M. **A redução da mortalidade embrionária - estratégia hormonal para otimizar a função luteínica em bovinos**. São Carlos, SP: Embrapa Pecuária Sudeste, 2006. 11 p. (Embrapa Pecuária Sudeste. Circular Técnica, 51). Disponível [www.cppse.embrapa.br/08Oservicos/070publicacoesgratuitas](http://www.cppse.embrapa.br/08Oservicos/070publicacoesgratuitas)).

MACHADO, R.; BERGAMASCHI, M. A. C. M.; BARBOSA, R. T.; OLIVEIRA, C. A. de; BINELLI, M. Ovarian function in Nelore (*Bos taurus indicus*) cows after post-ovulation hormonal treatments. **Theriogenology**, v. 69, n. 7, p. 798-804, 2008a.

MACHADO, R.; BERGAMASCHI, M.A.C.M.; FIGUEIREDO, R.A.; BINELLI, M. Estratégias para reduzir a mortalidade embrionária em bovinos: I; Alternativas farmacológicas para otimizar a função luteínica de vacas de corte. São Carlos, SP: Embrapa Pecuária Sudeste, 2010. 32p. (Embrapa Pecuária Sudeste. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 26).

MACHADO, R.; CORRÊA, R. F.; BARBOSA, R. T.; BERGAMASCHI, M. A. C. M. Escore de condição corporal e sua aplicação no manejo reprodutivo de ruminantes. São Carlos, SP: Embrapa Pecuária Sudeste, 2008b. 16 p. (Embrapa Pecuária Sudeste. Circular Técnica, 57).

MANN, G. E. Pregnancy rates during experimentation in dairy cows. **The Veterinary Journal**, v. 161, p. 301-305, 2001.

MANN, G. E.; LAMMING, G. E. The influence of progesterone during early pregnancy in cattle. **Reproduction of Domestic Animals**, v. 34, p. 269-74, 1999.

MARQUES, M. O. Ultra-sonografia ovariana, concentração plasmática de progesterona e taxa de concepção em novilhas receptoras de embriões submetidas a diferentes tratamentos no dia 7 do ciclo estral. 2002. 78 f. **Dissertação** (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002.

PETERS, A. R.; DREW, S. B.; MANN, G. E; LAMMING, G. E.; BECK, N. F. Experimental and practical approaches to the establishment and maintenance of pregnancy. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 43, n. 4(Suppl. 1), p. 143-152. 1992.

PIERSON, R. A.; GINTHER, O. J. Ultrasonic imaging of the ovaries and uterus in cattle. **Theriogenology**, v. 49, p. 21-37, 1988.

RAJAMAHENDRAN, R.; SIANANGAMA, P. C. Effect human Corionic Gonadotrophin on dominant follicles in cows. Formation of accessory corpora lutea, progesterone production and pregnancy rates. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 95, n. 2, p. 577-584, 1992.

RYAN, D. P.; PRICHARD, J. F.; KOPEL, E.; GODKE, R. A. Comparing early embryo mortality in dairy cows during hot and cool seasons of the year. **Theriogenology**, 39, p. 719-737, 1993.

SANGSRITAVONG, S.; COMBS, D. K.; SARTORI, R; AMENTANO, L. E.; WILTBANK, M. C. High feed intake increases liver blood flow and metabolism of progesterone and estradiol-17 in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 85, p. 2831-2842, 2002.

SARTORI, R.; DODE, M. A. N. Mortalidade embrionária na IA, TE, FIV e clonagem. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUÇÃO ANIMAL APLICADA, 3., 2008, Londrina. **Anais...** São Paulo: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 2008. p. 175-194.

SARTORI, R.; SARTOR-BERGFEL, T. R.; MERTENS S. A.; GUENTHER J. N.; PARRISH J. J.; WILTBANK, M. C. Fertilization and early embryonic development in heifers and lactating cows in Summer and lactating and dry cows in winter. **Journal of Dairy Science**, v. 85, p. 2803-2812, 2002.

SAS INSTITUTE. **SAS/STAT**: user's guide, Version 6. 4. ed. Cary, 2000. v. 2, p. 891-1686.

SCHMITT, E. J. P.; BARROS, C. M.; FIELDS, P. A.; FIELDS, M. J.; DIAZ, T.; KLUGE, J. M.; THATCHER, W. W. A celular and endocrine characterization of the original and induced corpus luteum after administration of a GnRH-agonist or hCG on day five of the estrous cycle. **Journal of Animal Science**, v. 74, n. 8, p. 1915-1929, 1996.

STARBUCK, M. J.; DAILEY, R. A.; INSKEEP, E. K. Factors affecting retention of early pregnancy in dairy cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 84, n. 1, p. 27-39, 2004.

STEVENSON, J. S.; KOBAYASHI, Y.; THOMPSON, K. E. Reproductive performance of dairy cows in various programmed breeding systems including Ovsynch and combinations of gonadotropin-releasing hormone and prostaglandin F2. **Journal of Dairy Science**. v. 82, p. 506-515, 1999.

VASCONCELOS, J. L. M.; SANTOS, R. M.; PEREZ, G. C. Controle do estro e da ovulação visando a inseminação artificial em tempo fixo em bovinos de leite a pasto ou confinados. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUÇÃO ANIMAL APLICADA, 1., 2004, Londrina. **Anais...**, São Paulo: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 2004. p. 129-146.

WALTON, J. S.; HALBERT, G. W.; ROBINSON, N. A.; LESLIE, K. E. Effects of progesterone and human chorionic gonadotrophin administration five days postinsemination on plasma and milk concentrations of progesterone and pregnancy rates of normal and repeat breeder dairy cows. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 54, p. 305-308, 1990.

WATHES, D. C.; TAYLOR, V. J.; CHENG, Z.; MANN, G. E. Follicle growth, corpus luteum function and their effect on embryo development in postpartum dairy cows. **Reproduction**, v. 61, p. 219-237, 2003. Supplement.