

# 147

## Comparação de protocolos de 8 e 9 dias de duração à base de estradiol e progesterona em vacas submetidas à inseminação artificial em blocos

### Introdução

Protocolos hormonais de sincronização de cio foram desenvolvidos, principalmente na década de 1990, para aumentar índices produtivos e reprodutivos de rebanhos de corte e leite submetidos à inseminação artificial em tempo-fixado (IATF). No Brasil, tais protocolos têm sido amplamente utilizados nos sistemas de produção de corte. Os protocolos hormonais utilizados para vacas Nelore criadas em condições tropicais consistem basicamente da inserção de um dispositivo intravaginal de progesterona e uma injeção de benzoato de estradiol (BE) para induzir a emergência da onda folicular, e mais duas injeções de um análogo de PGF2a (PGF) e de um éster de estradiol (benzoato ou cipionato) para induzir a luteólise e ovulação, respectivamente.

Desde o desenvolvimento dos programas de IATF, os protocolos hormonais têm sofrido modificações com intuito de aumentar a fertilidade. Atualmente, tais protocolos de IATF, resultam em taxas de prenhez por inseminação (P/IA) que variam de 40% a 60%. Portanto, novas alternativas para aumentar a fertilidade de vacas submetidas a programas de IATF são necessárias. Recentemente, uma técnica conhecida como inseminação artificial em Blocos (IAB), foi desenvolvida para aumentar a fertilidade dos protocolos baseados no uso de estradiol e progesterona (PFEIFER et al., 2015). Neste estudo, vacas Nelore multíparas apresentaram aumento de 29% na taxa de prenhez, em relação a vacas inseminadas com IATF tradicional. Apesar das vantagens já observadas, a técnica de IAB ainda não foi testada em outros protocolos hormonais e em vacas primíparas. Baseado nessas considerações, no presente estudo, foram comparados dois dos protocolos mais utilizados de IATF para vacas Nelore lactantes no Brasil na técnica IAB com o objetivo de avaliar: 1) se a utilização de IAB em protocolos, baseados no uso de estradiol e progesterona, com 9d é tão efetiva quanto em protocolos com 8d de duração, e; 2) o efeito da categoria animal na fertilidade de vacas inseminadas em Blocos.

### Material e métodos

#### Animais e tratamentos hormonais

Para o estudo foram utilizadas 253 vacas da raça Nelore (*Bos indicus*) lactantes alocadas em uma fazenda de corte localizada no Município de Jarú, Rondônia, Brasil. Todos animais eram mantidos em pastagem *Brachiaria brizantha* e com livre acesso a sal mineral e água. As vacas foram tratadas de acordo com o desenho experimental (Figura 1). O experimento foi realizado no período de fevereiro a maio de 2015. Todas vacas foram tratadas hormonalmente entre 30 e 60 dias pós-parto. Os animais foram separados aleatoriamente em dois grupos de acordo com o protocolo de IAB; 1) Grupo 8d (n = 124; 60 primíparas e 64 multíparas), para sincronizar a emergência de onda folicular as vacas receberam

Porto Velho, RO  
Dezembro, 2016

### Autores

**Luiz Francisco Machado Pfeifer**  
Médico-veterinário,  
D.Sc. em Reprodução  
Animal, pesquisador  
da Embrapa Rondônia,  
Porto Velho, RO

**Jamyle Pereira Cestaro**  
Médica-veterinária,  
Faculdades Integradas  
Aparício Carvalho  
(FIMCA) Porto Velho, RO

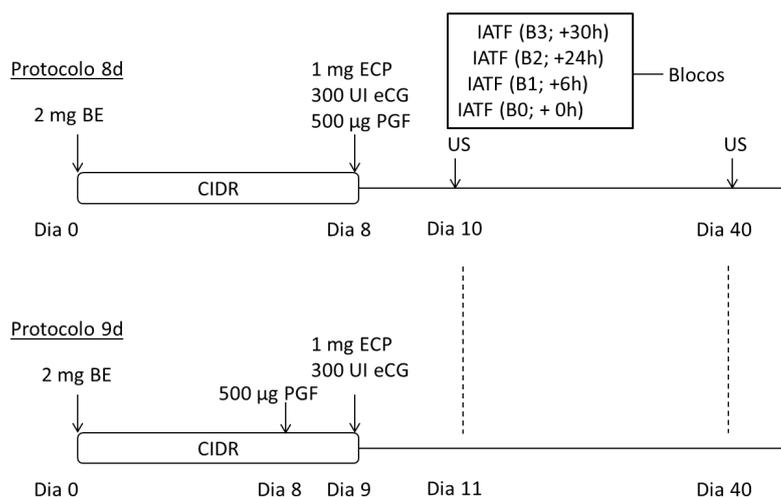
**Paulo Marcos Araújo Neves**  
Zootecnista,  
Faculdades Integradas  
Aparício Carvalho  
(FIMCA), Porto Velho, RO

**Jéssica Souza de Andrade**  
Biomédica, mestranda  
pela Universidade  
Federal de Rondônia  
(UNIR), Porto Velho, RO

**Natália Ávila de Castro**  
Médica-veterinária,  
doutoranda pela  
Universidade Federal  
de Pelotas (UFPEL),  
Pelotas, RS

2 mg de Benzoato de Estradiol (Sincrodiol<sup>®</sup>, Ouro Fino, Cravinhos, Brasil) i.m., e um dispositivo intravaginal de progesterona (Sincrogest<sup>®</sup>, Ouro Fino, Cravinhos, Brasil) no Dia 0. No Dia 8, o dispositivo de progesterona foi removido e as vacas receberam 500 µg de análogo de prostaglandina F2 alfa (PGF, Cloprostenol Sódico (Sincrocio<sup>®</sup>, Ouro Fino, Cravinhos, Brasil) i.m., 1 mg de ECP (SincroCP<sup>®</sup>, Ouro Fino, Cravinhos, Brasil) i.m., e 300 UI de eCG (Sincro eCG<sup>®</sup>, Ouro Fino, Cravinhos, Brasil) i.m.; 2) Grupo 9d (n = 129; 60 primíparas e 69 multíparas) receberam o mesmo tratamento no Dia 0 conforme as fêmeas do Grupo 8d. Entretanto, vacas deste grupo receberam PGF no Dia 7 e tiveram o dispositivo intravaginal removidos no Dia 9, seguido da aplicação de 1 mg de ECP i.m., e 300 UI de eCG i.m.. Na manhã do Dia 10 para o Grupo 8d e na manhã do Dia 11 para o Grupo 9d (08:00 a.m.), o diâmetro do folículo pré-ovulatório foi avaliado por ultrassonografia (SIUI CTS-900, probe linear com 5 MHZ, Guangdong, China). Ambos

os grupos eram subsequentemente divididos baseado no diâmetro do folículo pré-ovulatório determinado por ultrassonografia no Dia 10 ou Dia 11, segundo Pfeifer et al., (2015). Vacas de ambos os grupos foram inseminadas somente uma vez nos seguintes momentos, de acordo com o diâmetro do folículo pré-ovulatório (FPO), estimado anteriormente por Pfeifer et al. (2015) B0 (FPO ≥ 15 mm, IATF 0h após IATF convencional), B1 (FPO = 13 A 14,9 mm, IATF 6 h após IATF convencional), B2 (FPO = 10,1 a 12,9 mm, IATF 24 horas após IATF convencional) e B3 (FPO = ≤ 10 mm, IATF 30 h após IATF convencional). O número de vacas em cada bloco de acordo com o protocolo está descrito na Tabela 1. Novos exames de ultrassom foram realizados 30 dias após IATF para avaliar diagnóstico de prenhez. A visualização da vesícula embrionária e detecção do embrião foram os critérios positivos para determinar a gestação.



**Figura 1.** Desenho experimental utilizado para vacas lactantes tratadas com protocolo 8 d e 9d baseado no uso de BE-CIDR.

BE, benzoato de estradiol; eCG, gonadotrofina coriônica equina; ECP, cipionato de estradiol; PGF, prostaglandina; IATF, inseminação artificial em tempo fixo; US, exame ultrassonográfico.

Blocos	Tratamento	
	8d	9d
0 (AI imediatamente)	23	38
1 (AI + 6 h)	35	46
2 (AI + 24 h)	31	27
3 (AI + 30 h)	35	18
<b>Total</b>	<b>124</b>	<b>129</b>

**Tabela 1.** Número de vacas inseminadas em cada bloco de acordo com o protocolo de IAB utilizado.

## Análises Estatísticas

Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o Software SAS 9.0 (SAS Institute Inc., Cary, NC, EUA). O Diâmetro do folículo ovulatório foi analisado por meio do procedimento General Linear Models (GLM) e o teste de Tukey foi utilizado para determinar diferenças entre os tratamentos. O peso corporal, idade, escore de condição corporal (ECC), e dias pós-parto não apresentaram efeito significativo quando incluídas no modelo e foram, portanto, excluídos do modelo estatístico final. Tratamento e categoria foram incluídos no modelo final em todas as análises. Prenhez por IA foi avaliada pelo teste do qui-quadrado quando se comparou o efeito do tratamento em vacas primíparas e multíparas separadamente. De outro modo, a prenhez por IA foi avaliada por meio de regressão logística para analisar o efeito do tratamento, categoria e interação tratamento categoria. A P/IA foi calculada como a proporção de vacas prenhes de 30 dias após a IATF dividido pelo número de vacas que foram inseminadas.

As diferenças entre grupos foram consideradas significativas com base em um valor P inferior a 0,05. Os valores de P entre 0,05 e 0,10 foram considerados como sendo indicativo de uma tendência.

## Resultados e Discussão

Não houve diferença na taxa de prenhez entre os Grupos 8d e 9d (Tabela 2). No presente estudo, desconsiderando Grupo e Categoria animal, a média de prenhez geral foi de 47,03 %, sendo este resultado consistente com as médias históricas que têm sido registradas no Brasil, de cerca de 50% (MENEGETTI et al., 2009). Apesar de que a fertilidade do Grupo 8d na IAB ficou muito abaixo do esperado, quando observamos a taxa de P/IA, foi possível detectar um aumento de 92,2% de prenhez das vacas multíparas em comparação com as vacas primíparas tratadas com o mesmo protocolo. Em estudo prévio, nosso grupo registrou 63% de P/IA em vacas multíparas inseminadas em IAB. Este resultado está de acordo com os resultados registrados em vacas multíparas do Grupo 8d do presente estudo (Tabela 3), demonstrando que a IAB se mantém consistente quando utilizada com este protocolo e categoria animal específicos. Além disso, considerando que não houve diferença entre os grupos, a utilização de protocolos de 8 dias pode apresentar a vantagem de ter menos manejo com os animais, pois protocolos de 9 dias exigem que as vacas tratadas sejam trazidas para o curral uma vez a mais.

	Tratamento		Categoria		Valor de P		
	8d	9d	Primíparas	Multíparas	Trat	Categ	Trat*Cat
Diâmetro do Folículo pré-ovulatório, mm	12,3±0.2	13±0.2	11,5±0.2	13,7±0.2	0,07	<0.001	0,74
Prenhez por AI, % (n/n)	49,2% (61/124)	45% (58/129)	36,7% (44/120)	56,4% (75/133)	0,44	0,25	0,09

**Tabela 2.** Resposta da fertilidade de vacas inseminadas em blocos tratadas com protocolos 8d e 9d utilizando CIDR-BE.

	Tratamento		Valor de P
	8d	9d	
<b>Primíparas</b>			
Número de animais	60	60	
Prenhez por IA	33,3%	40%	0.45
<b>Multíparas</b>			
Número de animais	64	69	
Prenhez por IA	64,1%	49,3%	0.08
Valor de P	< 0,001	0,29	

\*Diâmetro do folículo pré-ovulatório avaliado no dia 10 no Grupo 8d e no dia 11 no Grupo 9d

**Tabela 3.** Prenhez por IA de vacas primíparas e multíparas inseminadas em blocos tratadas com protocolos 8d e 9d baseados BE- CIDR.

Não foi detectado diferença na P/IA entre vacas multíparas e primíparas. Entretanto, quando consideramos apenas animais do Grupo 8d, vacas multíparas tiveram incremento de 92% na P/IA em comparação com vacas primíparas. Pode-se pressupor que o esquema de IAB utilizado neste experimento não é adequado para vacas primíparas. Para responder a essa questão, novos estudos já estão em andamento no intuito de desenvolver um procedimento de IAB adequado para vacas primíparas. Embora, alguns estudos também não tenham detectado diferenças na fertilidade entre vacas Nelore multíparas e primíparas pós-parto (MENEGETTI et al., 2009; SA FILHO et al., 2010; MARQUES et al., 2015), outros têm demonstrado que vacas multíparas de corte em lactação são mais propensas a emprenharem em programas de IATF (SA FILHO et al., 2013; FERRAZ JUNIOR et al., 2016). Vacas de corte primíparas criadas em sistema a pasto, muitas vezes possuem o anestro pós-parto prolongado (RANDEL, 1990; WILTBANK, 1970) e as taxas de prenhez reduzidas em programas de IATF em comparação com vacas multíparas (SA FILHO et al., 2009). A demanda de energia para o crescimento, além dos requisitos de manutenção e lactação, são considerados os maiores responsáveis pelos efeitos negativos sobre a ciclicidade e desempenho reprodutivo de vacas primíparas sob condições de pastagem (RANDEL, 1990; WILTBANK, 1970).

Fêmeas do Grupo 9d tenderam a ter diâmetro de FPO maior do que as fêmeas do Grupo 8d. Observou-se também o aumento do diâmetro de FPO em relação à categoria, sendo que vacas multíparas apresentaram FPO de maior diâmetro que vacas primíparas. A relação entre o diâmetro do folículo dominante e o intervalo de ovulação está bem elucidado (MARTINEZ et al., 2000; BO et al., 2003; MARTINEZ et al., 2005). Deste modo, acreditamos que o procedimento de IAB poderia ser usado independentemente da categoria de protocolo e animal. No entanto, mais do que somente o diâmetro da FPO, o momento da ovulação depende de uma interação muito bem orquestrada entre hormônios (FORTUNE et al., 2009), maturação folicular (AUSTIN et al., 1999; BURKE et al., 2001), duração do proestro (BRIDGES et al., 2010), e momento da aquisição da capacidade ovulatória (MARTINEZ et al., 1999; SARTORI et al., 2001; GIMENES et al., 2008). Portanto, possivelmente novos estudos com o objetivo de desenvolver uma curva de regressão que forneça

uma relação adequada entre o diâmetro de FPO e o momento da ovulação para diferentes categorias e protocolos no intuito de dividir as vacas em blocos de acordo com o momento estimado da ovulação pode ser necessário.

## Conclusão

Apesar de os protocolos não terem diferido na taxa de prenhez, vacas multíparas tenderam a aumento nas taxas de prenhez com o protocolo de 8 dias. A técnica de IAB em protocolos de oito dias demonstrou ser eficaz quando utilizada em multíparas, entretanto, os resultados deste estudo sugerem que a IAB não deve ser utilizada em vacas primíparas e em protocolos de nove dias de duração.

## Referências

- AUSTIN, E.J., MIHM, M., RYAN, M.P., WILLIAMS, D.H., ROCHE, J.F. Effect of duration of dominance of the ovulatory follicle on onset of estrus and fertility in heifers. **Journal of Animal Science**, v. 77, n. 8, p. 2219-2226, aug. 1999.
- BO, G. A., BARUSELLI, P. S., MARTINEZ, M. F. Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 78, n. 3-4, p. 307-326, oct. 2003.
- BRIDGES, G.A., MUSSARD, M.L., BURKE, C.R., DAY, M.L. Influence of the length of proestrus on fertility and endocrine function in female cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 117, n. 3-4, p. 208-215, feb. 2010.
- BURKE, C. R., MUSSARD, M. L., GRUM, D. E., DAY, M. L. Effects of maturity of the potential ovulatory follicle on induction of oestrus and ovulation in cattle with oestradiol benzoate. **Animal Reproduction Science**, v. 66, n. 3-4, p. 161-174, may. 2001.
- FERRAZ JUNIOR, M.V., PIRES, A.V., BIEHL, M.V., SANTOS, M.H., BARROSO, J.P., GONCALVES, J.R., SARTORI, R., DAY, M.L. Comparison of two timed artificial insemination system schemes to synchronize estrus and ovulation in Nelore cattle. **Theriogenology**, v. 86, n. 8, p. 1939-1943, nov. 2016.

FORTUNE, J.E., WILLIS, E.L., BRIDGES, P.J., YANG, C.S. The periovulatory period in cattle: progesterone, prostaglandins, oxytocin and ADAMTS proteases. **Animal Reproduction**, v. 6, n. 1, p. 60-71, jan. 2009.

GIMENES, L. U., SA FILHO, M. F., CARVALHO, N. A., TORRES-JUNIOR, J. R., SOUZA, A. H., MADUREIRA, E. H., TRINCA, L. A., SARTORELLI, E. S., BARROS, C. M., CARVALHO, J. B., MAPLETOFT, R. J., BARUSELLI, P.S. Follicle deviation and ovulatory capacity in *Bos indicus* heifers. **Theriogenology**, v. 69, n. 7, p. 852-858, apr. 2008.

MARQUES, M. O., MOROTTI, F., DA SILVA, C. B., JUNIOR, M. R., DA SILVA, R. C., BARUSELLI, P. S., SENEDA, M. M. Influence of category--heifers, primiparous and multiparous lactating cows--in a large-scale resynchronization fixed-time artificial insemination program. **Journal Veterinary Science**, v. 16, n. 3, p. 367-371, mar. 2015.

MARTINEZ, M. F., ADAMS, G. P., BERGFELT, D. R., KASTELIC, J. P., MAPLETOFT, R. J. Effect of LH or GnRH on the dominant follicle of the first follicular wave in beef heifers. **Animal Reproduction Science**, v. 57, n. 1-2, p. 23-33, oct. 1999.

MARTINEZ, M. F., ADAMS, G. P., KASTELIC, J. P., BERGFEL, D. R., MAPLETOFT, R. J. Induction of follicular wave emergence for estrus synchronization and artificial insemination in heifers. **Theriogenology**, v. 54, n. 5, p. 757-769, sep. 2000.

MARTINEZ, M. F., KASTELIC, J. P., BO, G. A., CACCIA, M., MAPLETOFT, R. J. Effects of oestradiol and some of its esters on gonadotrophin release and ovarian follicular dynamics in CIDR-treated beef cattle. **Animal reproduction science**, v. 86, n. 1-2, p. 37-52, mar. 2005.

MENEGHETTI, M.; SA FILHO, O. G.; PERES, R. F. G.; LAMB, G. C.; VASCONCELOS, J. L. M. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cattle: I. Basis for development of protocols. **Theriogenology**, v. 72, p. 179-189, jul. 2009.

PFEIFER, L. F. M.; CASTRO, N. A.; MELO, V. T. O.; NEVES, P. M. A.; CESTARO, J. P.; SCHNEIDER, A. Timed artificial insemination in blocks: A new alternative to improve fertility in lactating beef cows.

**Theriogenology**, v. 136, p. 89-96, dez. 2015.

RANDEL, R.D. Nutrition and Postpartum Rebreeding in Cattle. **Journal of Animal Science**, v. 68, n. 3, p. 853-862, mar. 1990.

SA FILHO, M. F.; CRESPILO, A. M.; SANTOS, J. E. P.; PERRY, G. A.; BARUSELLI, P. S. Ovarian follicle diameter at timed insemination and estrous response influence likelihood of ovulation and pregnancy after estrous synchronization with progesterone or progestin-based protocols in suckled *Bos indicus* cows. **Animal Reproduction Science**, v. 120, p. 23-30, jul. 2010.

SA FILHO, O. G.; MENEGHETTI, M.; PERES, R. F. G.; LAMB, G. C.; VASCONCELOS, J. L. M. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows II: Strategies and factors affecting fertility. **Theriogenology**, v. 72, p.210-218, jul. 2009.

SA FILHO, M.F.; PENTEADO, L.; REIS, E.L.; REIS, T.A.; GALVAO, K.N.; BARUSELLI, P.S. Timed artificial insemination early in the breeding season improves the reproductive performance of suckled beef cows. **Theriogenology**, v. 79, p. 625-632, nov. 2013.

SARTORI, R., FRICKE, P.M., FERREIRA, J.C., GINTHER, O.J., WILTBANK, M.C. Follicular deviation and acquisition of ovulatory capacity in bovine follicles. **Biology of Reproduction**, v. 65, n.1, p. 1403-1409, jun. 2001

WILTBANK, J.N. Research Needs in Beef Cattle Reproduction. **Journal of Animal Science**, v. 31, n. 4, p. 755-762, 1970.

**Circular  
Técnica, 147**

MINISTÉRIO DA  
AGRICULTURA, PECUÁRIA  
E ABASTECIMENTO



Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:

**Embrapa Rondônia**

BR 364 km 5,5, Caixa Postal 127,  
CEP 76815-800, Porto Velho, RO.

Fone: (69)3219-5004

Telefax: (69)3222-0409

[www.embrapa.br/rondonia](http://www.embrapa.br/rondonia)

[www.embrapa.br/fale-conosco/sac](http://www.embrapa.br/fale-conosco/sac)

1ª edição

1ª impressão (2016): 100 exemplares

**Comitê  
de Publicações**

**Presidente:** César Augusto Domingues Teixeira

**Secretário:** Henrique Nery Cipriani

**Membros:** Marília Locatelli

Rodrigo Barros Rocha

José Nilton Medeiros Costa

Ana Karina Dias Salman

Luiz Francisco Machado Pfeifer

Fábio da Silva Barbieri

Wilma Inês de França Araújo

**Expediente**

**Normalização:** Daniela Maciel Pinto

**Revisão de texto:** Wilma Inês de França Araújo

**Editoração eletrônica:** Gamma Editora