

São Carlos
Dezembro, 2012

Autor

Rui Machado
Pesquisador

da Embrapa Pecuária Sudeste,
São Carlos, SP
rui.machado@embrapa.br

Protocolos para otimizar a fertilidade de vacas de corte e de leite

Resumo

A mortalidade embrionária precoce é reconhecida como a principal causa de perdas de prenhez em bovinos de interesse zootécnico. Com a intensificação dos sistemas de produção e a adoção de biotécnicas, como a inseminação artificial em tempo fixo (IATF), tornou-se imperativa a necessidade de aumentar a eficiência reprodutiva dos rebanhos. Nesse contexto, foram idealizadas estratégias de administração de hormônios (gonadotrofina coriônica equina aplicada antes da ovulação; e a combinação de hormônio liberador de gonadotrofinas e gonadotrofina coriônica humana aplicada após a ovulação) capazes de aumentar em 15% a taxa de concepção e em 10% a taxa de prenhez das fêmeas bovinas.

Introdução

Esta publicação apresenta resultados de uma série de experimentos desenvolvidos na Embrapa Pecuária Sudeste que objetivaram reduzir as perdas de prenhez em vacas de corte e de leite. As informações ora sumariadas destinam-se principalmente aos técnicos, produtores e extensionistas usuários das tecnologias que visam à intensificação dos sistemas de exploração dos bovinos. Não obstante, professores e estudantes (Medicina Veterinária e Zootecnia) irão se beneficiar das inovações aqui divulgadas. Nesta obra, destaca-se a importância de se otimizar a fertilidade das matrizes e apresentam-se os aspectos fisiológicos envolvidos no estabelecimento da prenhez nas fêmeas bovinas. A partir disso, fundamentam-se abordagens para melhorar a interação materno-embrionária

durante a gestação. Nesse contexto, enfatizam-se técnicas visando à modulação da função ovariana da vaca, de modo a favorecer o estabelecimento e a manutenção da prenhez. Por fim, são apresentados protocolos para aumentar a eficiência reprodutiva de vacas leiteiras e de corte.

A importância de se otimizar a fertilidade da vaca

A melhoria no desempenho reprodutivo das fêmeas bovinas causa impactos positivos sob diversos aspectos. No aspecto sócio-econômico, a eficiência



Fotos: Rui Machado

Inseminação artificial

reprodutiva é o fator que, isoladamente, mais influencia a produtividade e a lucratividade de um rebanho. A taxa de fertilização é geralmente alta nos bovinos (SARTORI & DODE, 2008) mas as taxas de natalidade (nascimento de crias vivas) são muito menores (SARTORI et al., 2002; SARTORI & DODE, 2008). Isso comprova a ocorrência de perdas de prenhez. Em revisão, Binelli et al. (2009) constataram que muitos autores apontam as perdas precoces da prenhez como a maior fonte de prejuízos na bovinocultura. Esses prejuízos são crescentes, pois a cadeia produtiva da carne no Brasil vem aumentando sua importância dentro da economia nacional (FARIA et al., 2008), tanto para o abastecimento interno como para a exportação. Paulatinamente, a maior disponibilidade de fontes de proteína animal a custos mais acessíveis contribui para a redução no déficit alimentar da nossa população e nas taxas de subnutrição infantil (LIMA et al., 2010).

No aspecto ambiental, os sistemas modernos de criação de bovinos, baseados na intensificação, são mais eficientes ambientalmente. De fato, Capper (2011) afirmou que o impacto ambiental dos sistemas de produção intensiva de bovinos de corte, adotados nos Estados Unidos, é menor do que há trinta anos. Os sistemas atuais requerem consideravelmente menos recursos e têm menos desperdício (produção de resíduos) para a produção de carne, de modo que a pegada de carbono para a produção de carne reduziu-se em 16,3% nos EUA. Para o gado leiteiro a situação é análoga, para produção de um bilhão de quilogramas de leite nos EUA requerem-se 21% dos animais, 23% da comida, 35% da água e somente 10% da terra que eram necessários para produzir a mesma quantidade de leite em 1944 (THATCHER, 2011). No Brasil ainda predominam sistemas pouco eficientes ambientalmente, baseados em exploração mais extensiva. A intensificação desses sistemas pecuários só será possível mediante o alcance de taxas reprodutivas ótimas (BERGAMASCHI et al., 2010).

Há também o aspecto produtivo, pois a vaca leiteira em lactação no século XXI tornou-se subfértil após a intensa seleção para a produção de leite (THATCHER et al., 2006). Essa subfertilidade decorre de fatores como a mortalidade embrionária, precoce e tardia. Esses mesmos autores determinaram ser essencial buscar e descrever estratégias e práticas de manejo para aumentar as taxas de prenhez.

Aspectos fisiológicos envolvidos no estabelecimento da prenhez nas fêmeas bovinas

A reprodução na vaca segue um padrão cíclico, de modo a oportunizar novas chances de concepção, caso a vaca falhe em conceber após uma ovulação. Na vaca não-prenhe ("vazia"), há um mecanismo programado para a síntese da prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) pelo útero. Essa substância é sintetizada a partir de uma cadeia de eventos iniciada no próprio ovário, por meio do estímulo causado pelo estradiol, hormônio produzido pelo folículo ovariano em suas fases finais de crescimento (Figura 1). A $PGF_{2\alpha}$ atua no ovário destruindo uma glândula - o corpo lúteo (Figura 1), no fenômeno denominado de luteólise. O resultado dessa ação é a redução drástica da produção de progesterona, que é o hormônio que dá suporte à gestação. A consequência fisiológica da luteólise é o início de um novo ciclo reprodutivo, de modo que haja o crescimento folicular e uma futura ovulação (BERGAMASCHI, 2005).

Por outro lado, se a vaca for servida e ocorrer a fecundação, a sua fisiologia programada para a luteólise deve ser modificada, do contrário repetese o ciclo, consequentemente a progesterona não atuará no útero no momento oportuno e a gestação não prosseguirá. Portanto, o estabelecimento da prenhez na vaca depende que o útero ajuste as suas funções para receber, abrigar, nutrir e proteger um conceito. Entretanto, compete ao embrião sinalizar bioquimicamente sua presença no útero e bloquear a síntese de $PGF_{2\alpha}$ (BINELLI et al., 2001), o que irá impedir a luteólise. Essa sinalização pelo embrião para o útero materno é a responsável pela sobrevivência embrionária, materializada no reconhecimento materno da prenhez (RMP), que nos bovinos situa-se entre os dias 15 e 17 após a ovulação.

Essa comunicação depende tanto do embrião como das funções uterina e ovariana da mãe. De fato, quanto maior for o conceito (embrião e suas membranas extra-embrionárias) e a área que ele ocupa no útero melhor é a inibição da síntese de prostaglandina (MANN et al., 1999). Por outro lado, o crescimento ótimo do conceito está relacionado ao preparo prévio do ambiente uterino pela progesterona produzida no corpo lúteo (KERBLER et al., 1997). Disso decorre uma relação inversa

entre mortalidade embrionária e concentração circulante de progesterona, principalmente entre os dias 4 e 9 após o acasalamento e durante o RMP, o que confirma a importância do corpo lúteo para o estabelecimento da prenhez (SANDRA, 2011).

Abordagens para melhorar a interação materno-embrionária e modular a função ovariana da vaca

Para aumentar as chances de sucesso do RMP e consequentemente da sobrevivência embrionária, há duas premissas básicas: prevenir a luteólise e assegurar o crescimento ótimo do conceito. Assim, Binelli et al. (2001) sugeriram: a) aumentar as concentrações circulantes da progesterona na fase luteínica e no período de RMP; e b) reduzir as concentrações circulantes de estradiol no período de RMP para prevenir a liberação de $\text{PGF}_{2\alpha}$ e retardar ou inibir a luteólise. Assim, as estratégias têm por objetivo aumentar a capacidade de produção da progesterona pelo corpo lúteo e/ou reduzir os efeitos do folículo ovariano durante o RMP (Figura 1).

Há estratégias diretas ou indiretas para aumentar a concentração de progesterona. Dentre as primeiras destaca-se a aplicação da gonadotrofina coriônica equina (eCG) antes da ovulação (e da inseminação). Esse hormônio estimula o crescimento e a maturação final do folículo ovulatório, de modo que o corpo lúteo (Figura 1) a ser formado a partir dele terá maior capacidade de sintetizar progesterona (BERGAMASCHI, 2005; BINELLI et al., 2009). Já a estratégia indireta baseia-se no uso de agentes luteotróficos (a gonadotrofina coriônica humana – hCG; e o hormônio liberador de gonadotrofinas – GnRH) durante a fase luteínica que sucede a ovulação/inseminação. Esses agentes administrados entre os dias 4 e 7 do ciclo estral (MACHADO et al., 2010b) induzem a formação de um corpo lúteo acessório e otimizam a produção de progesterona pelo corpo lúteo original (Figura 1). Isso resulta em aumento nas concentrações de progesterona circulante durante a fase luteínica.

Reduzir as concentrações de estradiol equivale a minimizar os efeitos de um folículo em final de desenvolvimento durante o RMP. Para isso, deve-se deslocar a cronologia do crescimento folicular, ou seja, retardar o surgimento de grandes folículos

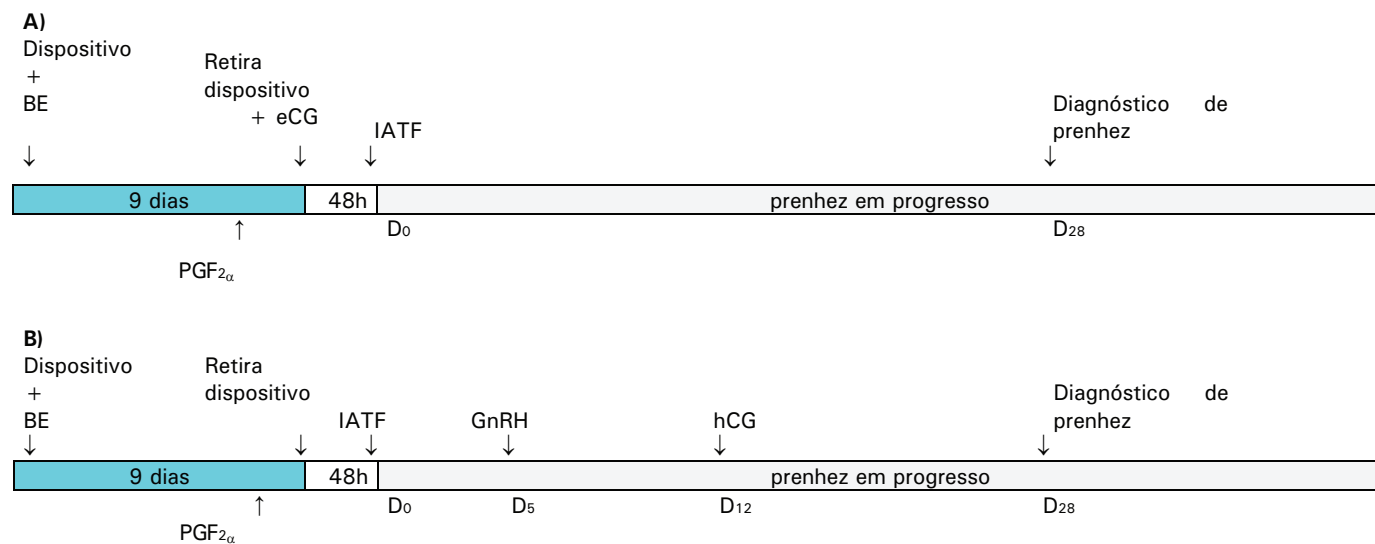
(maiores que 8mm) durante o RMP para prolongar a fase luteínica do ciclo estral (alta concentração de progesterona) e favorecer a sobrevivência embrionária (AMBROSE et al., 1998). Com efeito, o uso do GnRH entre os dias 11 e 13 por Peters (1996) e da hCG no dia 12 por Machado et al. (2010b) manteve as concentrações de estradiol baixas e as de progesterona altas durante o RMP, o que resultou em maior número de vacas prenhes (MACHADO et al., 2010a).

Protocolos para aumentar a eficiência reprodutiva

A partir dos conceitos apresentados no tópico anterior idealizaram-se dois protocolos de tratamentos hormonais para modular a função ovariana. A cronologia de cada protocolo está mostrada na Figura 2. O primeiro protocolo consiste na aplicação de eCG pré-ovulação (BERGAMASCHI, 2005). Seu uso é feito em associação a um tratamento comercial de indução da ovulação para adotar a inseminação artificial em tempo fixo (IATF; Figura 3). Hipoteticamente, esse protocolo estimula o crescimento do pré-folículo ovulatório, de modo que ele se torne um corpo lúteo (Figura 1) com maior produção de progesterona no ciclo subsequente (BERGAMASCHI, 2005).

O outro protocolo baseia-se na aplicação de GnRH, cinco dias após a inseminação artificial (D_5), e de hCG no D_{12} (MACHADO et al., 2010a,b). Hipoteticamente nesse protocolo, o GnRH deve causar a ovulação de um folículo em crescimento (primeira onda folicular) com a consequente formação de um corpo lúteo acessório (Figura 1) e o recrutamento de outros folículos (segunda onda de desenvolvimento). A injeção de hCG induz a ovulação do folículo dessa segunda onda, causando a formação de um segundo corpo lúteo acessório e o recrutamento da terceira onda (no D_{14} ou D_{15}). Assim, o folículo em crescimento no RMP mantém-se pequeno (menor que 8mm), produz pouco estradiol e não é capaz de induzir a luteólise antes do D_{19} . Esse atraso associado ao aumento da progesterona circulante (pela ação dos corpos lúteos original e acessórios) facilita a sobrevivência e o desenvolvimento embrionário. Em experimentos

desenvolvidos na Embrapa Pecuária Sudeste, constatou-se que o protocolo GnRH + hCG atua conforme a proposição descrita, ou seja, ele prolonga (em tempo) e otimiza (aumenta a progesterona circulante) a fase luteínica, bem como retarda a luteólise (MACHADO et al., 2010b). Na Figura 1 apresenta-se a cronologia de cada protocolo.



Dispositivo = dispositivo intravaginal com 1,9g de progesterona inserido em dia aleatório do ciclo estral simultaneamente à aplicação (IM) de 2mg de benzoato de estradiol (BE); PGF_{2α} = 0,5mg de cloprostenol (IM) aplicada sete dias após a inserção do dispositivo; eCG = 400 UI de gonadotrofina coriônica equina aplicada (IM) no momento da retirada do dispositivo; IATF = inseminação artificial em tempo fixo; GnRH = hormônio liberador de gonadotrofinas - 0,25μg de gonadorelina (IM) aplicado cinco dias (D₅) após a IATF; hCG = 2500 UI de gonadotrofina coriônica humana (IM) aplicada 12 dias (D₁₂) após a IATF.

Figura 2. A) Protocolo para aumentar a produção de progesterona com utilização de eCG antes da ovulação. B) Protocolo para reduzir as concentrações de estradiol e aumentar a produção de progesterona com utilização de GnRH e hCG após a ovulação.

Ambos os protocolos foram testados em experimentos conduzidos com gado de corte da raça Nelore na Embrapa Pecuária Sudeste e em outras fazendas. No caso da administração da eCG pré-ovulação, verificou-se incremento ou manutenção na concentração de progesterona na fase luteínica (BERGAMASCHI, 2005) e aumento de aproximadamente 13% na taxa de prenhez (BERGAMASCHI et al., 2012).

Numa abordagem não-invasiva de coleta transcervical de conceitos, Machado et al. (2011) verificaram que as perdas embrionárias precoces em vacas Nelore após um tratamento comercial de indução da ovulação para a IATF atingiram entre 40% e 41,7%, e que a adição da eCG (como mostrado na Figura 1A) reduziu essas perdas para 25%, ou seja houve recuperação de conceitos 15% mais alta para as vacas tratadas com eCG pré-ovulação.

No caso da administração pós-ovulação de GnRH + hCG (Figura 1B) verifica-se consistentemente: substancial incremento na concentração de progesterona na fase luteínica (MACHADO et al., 2010b; 2011) e manutenção ou incremento nas taxas de prenhez e de parição (MACHADO et al., 2010a). Os benefícios dos protocolos se manifestam preponderantemente em vacas sob condições que alteram sua função luteínica. Por exemplo, receptoras de embrião tratadas com GnRH + hCG tiveram taxa de prenhez aproximadamente 10% maior que as não-tratadas, quando o protocolo foi aplicado numa época desfavorável em termos de disponibilidade de forrageiras (MACHADO et al., 2010a). Analogamente, vacas leiteiras especializadas e de alta produção submetidas ao estresse da lactação também se beneficiaram da administração do GnRH + hCG após a ovulação (MACHADO et al., 2010a). De fato, vacas da raça Holandesa em estro natural inseminadas

artificialmente e tratadas cinco e doze dias depois com GnRH e hCG, respectivamente, tiveram a taxa de prenhez de 57,1%, ou seja 9,9% superior à taxa de prenhez observada para vacas não tratadas (controle). Nesse caso, não houve efeito significativo da época do ano. Achado que se explica pelo fato de que tais animais foram suplementados com volumosos na época de menor disponibilidade de forragens.

Considerações e Conclusões

Falhas no RMP estão implicadas com a mortalidade embrionária precoce e se refletem em menores taxas de reprodução dos bovinos. Nesta obra abordaram-se duas estratégias para otimizar a comunicação entre o embrião e a unidade materna e aumentar a sobrevivência embrionária. Essas estratégias atuam por meio de diferentes hormônios, antes ou após a ovulação (e inseminação) e são eficientes no controle da dinâmica folicular, na regulação do momento da luteólise e na produção luteínica de progesterona.

Cada um dos protocolos (Figura 1) possui mecanismo de ação próprio. No caso da adição da eCG (Figura 1A), o próprio corpo lúteo originado na ovulação apresenta características que permitem maior produção de progesterona desde o início da fase luteínica (BERGAMASCHI, 2005). No caso da combinação GnRH + hCG (Figura 1B) ocorre a formação de corpos lúteos acessórios e o prolongamento da “vida útil” dos corpos lúteos preexistentes, o que resulta em aumento da progesterona circulante ao final da fase luteínica. Além disso, o mecanismo de ação desse protocolo pode reduzir a concentração de estradiol circulante em fases críticas do desenvolvimento embrionário e retardar a luteólise (MACHADO et al., 2010b). Assim, ambos os protocolos reprogramam a função ovariana, modulando a sua atividade hormonal (esteroidogênica) e causando o retardamento da luteólise e a amplificação da produção da progesterona. Sob determinadas condições, as vacas tratadas apresentam melhor desempenho reprodutivo com incrementos da ordem de 15% na taxa de concepção (medida como sobrevivência embrionária precoce após a recuperação de conceptos) e de 10% em taxas de prenhez.

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.
- BERGAMASCHI, M. A. C. M. **Estratégias hormonais para otimizar a função luteínica de vacas da raça Nelore após a sincronização do estro**. 2005. 111 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária, área de Reprodução Animal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2005.
- BERGAMASCHI, M. A. C. M.; MACHADO, R.; BARBOSA, R. T. **Eficiência reprodutiva das vacas leiteiras**. São Carlos, SP: Embrapa Pecuária Sudeste, 2010. 12 p. (Embrapa Pecuária Sudeste. Circular Técnica, 64). Disponível em: <<http://www.cppse.embrapa.br/sites/default/files/principal/publicacao/Circular64.pdf>>. Acesso em: 21 de nov. de 2011.
- BERGAMASCHI, M. A. C. M.; MACHADO, R.; BARBOSA, R. T.; PENTEADO, L.; VICENTE, W. R. R.; BARUSELLI, P. S.; de OLIVEIRA, C. A.; ALENCAR, M. M.; BINELLI, M. Ovarian function of Nelore cows (*bos taurus indicus*) treated with equine Chorionic Gonadotrophin before and with Estradiol-17 β after induced ovulation. **Theriogenology**, 2012. (Submetido).
- 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.; MATTOS, R.; BARUSELLI, P. S. Anti-luteolytic strategies to improve fertility in cattle. **Theriogenology**, v. 52, p. 1451-1463, 2001.
- CAPPER, J. L. The environmental impact of beef production in the United States: 1977 compared with 2007. **Journal of Animal Science**, v. 89, p. 4249-4261, 2011.
- FARIA, C. U. de; LÔBO, R. B.; MAGNABOSCO, C. U.; DIAS, F. J. S.; SAENZ, E. A. C. Impactos da pesquisa científica no melhoramento genético de bovinos de corte para qualidade da carne. **PUBVET**, v. 2, n. 31, 2008. Disponível em: <http://www.pubvet.com.br/texto.php?id=297>. Acesso em: 21 de nov. de 2011.

KERBLER, T. L.; BUHR, M. M.; JORDAN, L. T.; LESLIE, K. E.; WALTON, J. S. Relationship between maternal plasma progesterone concentration and interferon-tau synthesis by the conceptus in cattle. **Theriogenology**, v. 47, p. 703-714, 1997.

LIMA, A. L. L. de; SILVA, A. C. F. da; KONNOI, S. C.; CONDEI, W. L.; BENICIO, M. H. D.; MONTEIRO, A. Causas do declínio acelerado da desnutrição infantil no Nordeste do Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 44, n.1, p.17-27, 2010.

MACHADO, R.; BERGAMASCHI, M. A. C. M.; da SILVA, J. C. B.; BINELLI, M. **Estratégias para reduzir a mortalidade embrionária em bovinos: II -Protocolo para reduzir a mortalidade embrionária em vacas de leite e em receptoras de embrião**. São Carlos, SP: Embrapa Pecuária Sudeste, 2010a. 23 p. (Embrapa Pecuária Sudeste. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 27). Disponível em: <<http://www.cppse.embrapa.br/080servicos/070publicacaogratis/boletim-de-pesquisa-desenvolvimento/Boletim27.pdf>>. Acesso em: 21 de nov. de 2011.

MACHADO, R.; FIGUEIREDO, R. A.; BERGAMASCHI, M. A. C. M.; 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, 2010b. 23 p. (Embrapa Pecuária Sudeste. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 26). Disponível em: <<http://www.cppse.embrapa.br/080servicos/070publicacaogratis/boletim-de-pesquisa-desenvolvimento/Boletim26.pdf>>. Acesso em: 21 de nov. de 2011.

MACHADO, R.; SUDANO, M. J.; BERGAMASCHI, M. A. C. M.; NOGUEIRA, G. P.; MEMBRIVE, C. M. B.; BINELLI, M. Early embryo mortality in beef cows after fixed time artificial insemination (FTAI) and hormonal treatments. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 39, n. suppl.1, p. 389-389, 2011.

MANN, G. E.; LAMMING, G. E.; ROBINSON, R. S.; WHATES, D. C. The regulation of interferon- τ production and uterine receptors during early pregnancy. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 54, n. suppl., p. 317-328, 1999.

PETERS, A. R. Embryo mortality in the cow. **Animal Breeding Abstracts**, v. 64, p. 587-598, 1996.

SANDRA, O. Decifrando as propriedades do reconhecimento precoce e do controle do endométrio: contribuição do útero para o estabelecimento da prenhez. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 39, n. suppl.1, p. 185-192, 2011.

SARTORI, R.; SARTOR-BERGFELT, 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.

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.

THATCHER, W. W. Observações históricas temporais, a rápida expansão e ferramentas tecnológicas e a integração de disciplinas científicas para melhorar o desempenho reprodutivo de vacas em lactação: as mães adotivas da raça Humana. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 39, n. suppl.1, p. 165-182, 2011.

THATCHER, W. W.; BILBY, T. R.; BARTOLOME, J. A.; SILVESTRE, B. F.; STAPLES, C. R.; SANTOS, J. E. P. Strategies for improving fertility in the modern dairy cow. **Theriogenology**, v. 65, p. 30-44, 2006.

Circular Técnica, 70

Embrapa Pecuária Sudeste

Endereço: Rod. Washington Luis, km 234, São Carlos, SP

Fone: (16) 3411-5600

Fax: (16) 3361-5754

Home Page: www.cppse.embrapa.br

Ministério da
Agricultura, Pecuária
e Abastecimento

1ª edição on-line (2012)



Comitê de publicações

Presidente: Ana Rita de Araujo Nogueira.

Secretário-Executivo: Simone Cristina Méo Niciura.

Membros: Ane Lisye F.G. Silvestre, Maria Cristina Campanelli Brito, Milena Ambrósio Telles, Sônia Borges de Alencar.

Expediente

Editoração eletrônica: Maria Cristina C. Brito.

