

SINCRONIZAÇÃO DA OVULAÇÃO EM FÊMEAS NELORE, COM ASSOCIAÇÃO DE PROGESTÁGENO, ESTRÓGENO E GONADOTROFINA SÉRICA DE ÉGUA PRENHE

(*ESTRUS SYNCHRONIZATION OF NELLORE FEMALES,
WITH ASSOCIATION OF PROGESTOGENS, ESTROGENS AND
PREGNANT MARE'S SERUM GONADOTROPIN*)

M. A. C. M. BERGAMASCHI¹, W. R. R. VICENTE²,
R. T. BARBOSA³, J. A. MARQUES⁴, A. R. FREITAS⁵

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar a taxa de gestação após um protocolo de sincronização da ovulação, realizado em fêmeas Nelore, em atividade estral ou anestro, composto de progestágeno, estrógeno e gonadotrofina sérica de égua prenhe. A sincronização da ovulação foi realizada em 125 fêmeas; utilizou-se solução injetável, constituída de valerato de estradiol (5 mg) e progestágeno (norgestomet, 3 mg) de aplicação intramuscular, simultaneamente ao implante auricular contendo 3 mg de norgestomet, que permaneceu por 9 dias. Administrou-se no mesmo dia da extração do implante, por via intramuscular, 500 UI de PMSG. Procedeu-se à IA em horário pré-determinado, 48 horas após a retirada do implante. O diagnóstico de gestação foi realizado 31 dias após a IA, por ultra-sonografia. A taxa de gestação foi de 43,9% para o total dos animais sincronizados e de 45,4 e 38,5% para as fêmeas em atividade estral e em anestro, respectivamente. Não houve diferença na resposta à sincronização entre os grupos em ciclo e em anestro pelo teste Z de proporções ($Z=0,40$; $P>0,05$). Dessa forma, o protocolo apresentou-se com eficiência semelhante entre estes dois grupos. Constataram-se dez gestações gemelares e uma com trigêmeos, evidenciando-se taxa de gestação múltipla de 20,37%. A utilização do PMSG na sincronização da ovulação pode promover superovulação, apesar de a dosagem para este fim ser maior que a recomendada para a sincronização. Esse aspecto deve ser considerado na utilização desse protocolo no gado zebu, principalmente em novilhas com atividade estral, pois concepções múltiplas interferem no desenvolvimento desta categoria animal e causam transtornos reprodutivos, como aborto, distocia e anestro pós-parto.

PALAVRAS-CHAVE: Sincronização. Estro. Nelore. Norgestomet. PMSG

* Apoio Financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP – Processo nº 98/09889-9

1 Pós-graduando em Medicina Veterinária - Universidade Estadual Paulista – Unesp – *Campus* de Jaboticabal - SP. End. Eletrôn.: marcokeko@yahoo.com.br

2 Professor titular do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal, FCAV, Unesp, *Campus* de Jaboticabal. End. Eletrôn.: wilter@fcav.unesp.br

3 Pesquisador da Embrapa Pecuária Sudeste, área de Reprodução Animal, São Carlos, SP.

4 Professor Adjunto do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, FCAV, Unesp, *Campus* de Jaboticabal.

5 Pesquisador da Embrapa Pecuária Sudeste, área de Genética e Métodos Quantitativos, São Carlos, SP. Bolsista do CNPq.

SUMMARY

The objective was to evaluate the pregnancy rate after a protocol of estrus synchronization in cycling and in anestrus Nelore females, using progestogens, estrogens and pregnant mare's serum gonadotropin (PMSG). Estrus synchronization was performed in 125 females, 97 showing ovarian activity and 26 in anestrus; with intramuscular injection of estradiol valerate (5mg) and norgestomet (3mg), administered simultaneously to a 6 mg norgestomet implants, placed in the convex surface of the ear. Implants were left *in situ* for 9 days. An intramuscular injection of PMSG (500 IU) was administered on the same day of implant removal, and artificially inseminated (AI) 48 hours after, without estrus detection. Pregnancy diagnosis was performed 31 days after AI by ultrasonography. Pregnancy rates were 43,9% for all synchronized animals and the ones of cycling females and females without estrus observation were 45,4 and 38,5%, respectively. The analysis was realized by Z test of proportions ($Z=0.40$; $P>0.05$) showed no difference in estrus synchronization between estrus activity or anestrus groups. After calving, ten gemelar gestations were verified and one of them with triplets, accounting for a 20,37% of multiple gestation rate. Use of PMSG in estrus synchronization can promote superovulation, in spite of the dosage for this end to be much larger than recommended for synchronization. This aspect should be considered in the use of this protocol in zebu cattle, mainly in heifers with estrus activity, because multiple conceptions interfere in the development of this animals and affect reproduction, increasing abortion and dystocia rates and postpartum anestrus period.

KEY WORDS: Synchronization. Estrus. Nelore. Norgestomet. PMSG.

INTRODUÇÃO

Um grande entrave na reprodução bovina é a dificuldade na observação do estro, principalmente em animais mantidos em regime de pastagem. Esse fato compromete o controle reprodutivo do rebanho, tanto em sistemas de acasalamento natural quanto na inseminação artificial. A falha das fêmeas de corte em expressar o estro da puberdade ou pós-parto no início da estação de acasalamento é um problema sério. A concepção precoce na estação de acasalamento de novilhas e vacas permitem que os partos ocorram mais cedo e, com isso, o desmame de bezerras com maiores idade e peso. Os transtornos reprodutivos em rebanhos bovinos são causados principalmente por ineficiente detecção do estro e por serviços inférteis. Dessa forma, a eficiência reprodutiva pode ser aumentada na maioria dos rebanhos por uma precisa detecção de estro, inseminação no momento apropriado em relação ao estro e ovulação e pela utilização de sêmen proveniente de touros de alta fertilidade. A identificação de estro ineficiente resulta freqüentemente na constatação de somente metade das fêmeas em estro, causando omissões de inseminações, inseminação de vacas que não estão no estro, taxas reduzidas de fertilização de ovócitos por causa do momento inadequado da operação e aumento da mortalidade embrionária devido à fertilização de ovócitos envelhecidos (HAWK & BELLOWS, 1988).

O objetivo da sincronização da ovulação é promover o recrutamento uniforme e desenvolvimento de um folículo ovulatório (RYAN *et al.*, 1999). Os protocolos para esse fim utilizam várias combinações hormonais, in-

cluindo a progesterona, estradiol, hormônio liberador de hormônio gonadotrófico (gonadotropin-releasing hormone - GnRH) e prostaglandina do grupo F_{2a} (RYAN *et al.*, 1995). BO *et al.* (1994) demonstraram que a utilização do estradiol com a progesterona, em vários estágios do ciclo estral, resultou em um intervalo constante de aproximadamente quatro dias para emergência de uma nova onda folicular. O norgestomet é um progestágeno de alta atividade biológica. Quando associado ao valerato de estradiol, promove a supressão do estro em bovinos (ODDE, 1990; KESLER & FAVERO, 1996; MACHADO & KESLER, 1996).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a taxa de gestação obtida após um protocolo de sincronização da ovulação, realizado em fêmeas Nelore, em ciclo ou em anestro, composto de progestágeno, estrógeno e gonadotrofina sérica da égua prenhe (pregnant mare's serum gonadotropin - PMSG), o qual contemplava uma única inseminação artificial com horário pré-determinado, sem a observação do estro.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido na Embrapa Pecuária Sudeste, Unidade da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), em São Carlos, região central do Estado de São Paulo.

Foram utilizadas 125 novilhas da raça Nelore com idade superior a três anos. O estudo foi desenvolvido com animais que participaram da estação de monta de 26 de

novembro de 1999 a 03 de março de 2000. As fêmeas foram avaliadas ginecologicamente, no início do experimento, examinando-se os órgãos genitais internos por palpação e ultra-sonografia transretal e os externos por inspeção. Determinou-se a ciclicidade do grupo experimental pela observação do estro, por um período de 60 dias, realizada diariamente, com auxílio de rufiões mantidos com buçal marcador, preparados cirurgicamente por aderência lateral do pênis na parede abdominal associado à caudoepididimectomia.

A sincronização da ovulação foi realizada utilizando-se solução injetável, constituída de valerato de estradiol (5 mg) e progestágeno (norgestomet, 3 mg) de aplicação intramuscular, simultaneamente ao implante de silicone contendo 3 mg de norgestomet¹, o qual foi inserido no tecido subcutâneo, na porção média da face externa da orelha, com o auxílio de aplicador próprio. Permaneceu por 9 dias, retirando-o através de pequena incisão realizada com lâmina de bisturi. Administraram-se no mesmo dia da extração do implante, por via intramuscular, 500 UI de gonadotrofina sérica da égua prenhe (pregnant mare's serum gonadotropin – PMSG)². A inseminação artificial foi realizada 48 horas após a retirada do implante, sem a observação do estro, utilizando-se sêmen certificados de centrais de inseminação, de três touros de cada raça, sendo elas: Nelore, Canchim, Aberdeen Angus e Simental.

Os animais permaneceram em pastos de *Coast cross*, com carga de 5 unidades animal por hectare, sob sistema intensivo de pastejo rotacionado. Foi fornecido sal mineralizado e água à vontade durante todo o experimento.

Os exames ultra-sonográficos foram realizados com aparelho de ultra-som da marca Pie-Medical, modelo Scanner 200 Vet, em Modo-B, com transdutor de 5,0 MHz, por via retal, com os animais em posição quadrupedal, utilizando-se tronco de contenção. Realizou-se o diagnóstico da prenhez aos 31 dias de gestação, tendo como base a identificação do concepto e como fator determinante a observação dos batimentos cardíacos.

A eficiência da sincronização da ovulação foi avaliada por meio da taxa de gestação entre as fêmeas em atividade estral e em anestro, utilizando-se o teste Z para comparar dados na forma de proporções (FREITAS, 1991).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Realizou-se a sincronização da ovulação em 125 fêmeas Nelore, apresentando-se 97 em atividade estral e 26 não; dois animais não completaram o processo de sincronização, um por óbito e o outro pela perda do implante.

A taxa de gestação obtida por meio do protocolo de sincronização da ovulação com associação de progestágeno, estrógeno e PMSG, assim como o número de animais submetidos ao procedimento e que conceberam por meio da inseminação artificial estão apresentados na Tabela 1. A eficiência da sincronização da ovulação em grupos de animais em ciclo e em anestro, avaliada por meio da taxa de gestação, encontra-se na Tabela 2.

Tabela 1 - Número de animais submetidos à sincronização da ovulação, com gestação confirmada e taxa de gestação dos grupos experimentais. São Carlos, SP.

GRUPOS	NÚMERO DE ANIMAIS		TAXA DE GESTAÇÃO (%)
	SINCRONIZADOS	GESTANTES	
G1 ¹	50	20	40,00
G2 ²	24	10	41,67
G3 ³	25	12	48,00
G4 ⁴	24	12	50,00
TOTAL	123	54	43,90

¹ G1 - fêmeas Nelore acasaladas com touros Nelore;

² G2 - fêmeas Nelore acasaladas com touros Canchim;

³ G3 - fêmeas Nelore acasaladas com touros Aberdeen Angus;

⁴ G4 - fêmeas Nelore acasaladas com touros Simental.

Tabela 2 - Taxa de gestação, com uso da associação de progestágeno, estrógeno e PMSG em fêmeas Nelore apresentando atividade estral ou anestro. São Carlos, SP.

Na presente pesquisa constatou-se taxa de gestação de 43,90% no procedimento de sincronização da ovulação; índice similar aos 42% obtidos por HUMBLOT *et al.* (1996) e menor que os 53,5%, constatados por KERR *et al.* (1991), utilizando protocolos semelhantes.

Observou-se 45,4% de concepção no grupo de fêmeas em atividade estral, valor equivalente aos 44,6% verificados por BROWN *et al.* (1988) e inferior aos 67,8 e 56,6% relatados por BARUFI *et al.* (1999) e HUMBLOT *et al.* (1996), respectivamente.

Para o grupo de animais em anestro notou-se eficiência de 38,5%, valor superior aos 30% encontrados por BRINK & KIRACOFÉ (1988) e 26,2% por BROWN *et al.* (1988), semelhante aos 39,5% evidenciados por HUMBLOT *et al.* (1996) e menor que os 48% registrados por ODDE (1990).

Vários são os fatores que influenciam a eficiência da sincronização da ovulação: nutrição materna, atividade ovariana, fase do ciclo estral, manejo reprodutivo e período pós-parto. Nesta pesquisa, acredita-se que algumas condições afetaram o procedimento, tais como, compra recente e transporte dos animais, com o conseqüente curto período de adaptação ao novo sistema de pastejo e excessivo manejo na formação dos grupos experimentais. Esses fatores podem ter causado estresse, comprometendo a sincronização da ovulação. Outra consideração importante foi a realização de uma única inseminação artificial, com hora pré-determinada, sem observação do estro, podendo levar à falta de sincronia entre a mesma e a hora da ovulação. Esta suspeita é baseada no fato de que várias fêmeas conceberam ao redor de 21 dias após a primeira inseminação, ou seja, período correspondente a um ciclo estral.

Não ocorreu diferença significativa na resposta à sincronização entre os grupos em estro e anestro, segundo análise realizada pelo teste Z ($Z=0,40$; $p>0,05$). Dessa forma, o protocolo apresentou-se com eficiência semelhante entre os dois grupos.

Ao parto, constataram-se dez gestações gemelares e uma com trigêmeos, três abortaram e oito vieram a termo, apresentando 13 bezerros vivos e três natimortos, evidenciando taxa de gestação gemelar de 20,37%. Este índice é alto, pois de acordo com HAWK & BELLOWS (1988) raças bovinas leiteiras e de corte apresentaram 1,9% e 0,4% de gestações múltiplas, respectivamente; GRUNERT & BIRGEL (1984) observaram em média, 2% de partos gemelares.

Essa alta taxa de gestação gemelar observada pode ser explicada pela utilização do PMSG, que desempenha ação marcante do hormônio folículo estimulante (follicle stimulating hormone – FSH), favorecendo o crescimento das células intersticiais do ovário e maturação folicular. MUNRO (1986) observou que vacas *Bos taurus* apresentaram tendência de resposta superovulatória com o aumento da dose de FSH exógeno, porém, em *Bos indicus*, concentrações menores foram suficientes para a estimulação folicular, sendo assim, a utilização do PMSG na sincronização da ovulação pode promover superovulação, apesar da dosagem para este fim ser maior que a recomendada para a sincronização. HAMMOND & BHATTACHARYA (1944), citados por MUNRO (1986), relataram que o PMSG administrado próximo do fim do ciclo estral induzirá a superovulação na vaca. Portanto, suspeita-se que este fator seja desencadeador de gestações múltiplas, aspecto que deve ser considerado na utilização deste protocolo no gado zebu, principalmente em novilhas com atividade estral, pois concepções múltiplas interferem no desenvolvimento dessa categoria animal e causam transtornos reprodutivos, como aborto, distocia e anestro pós-parto.

A taxa de aborto observada neste estudo foi de 6,1% (quatro animais), semelhante ao índice de 5,5 observado por BAXTER & WARD (1997) e 6,5 por BEAL *et al.* (1992) e muito aquém dos 23,0%, constatados por CHAFFAUX *et al.* (1986). Apesar de a porcentagem observada na presente pesquisa concordar com a literatura, entende-se ser um índice melhor que o esperado, pois três

episódios foram provenientes de gestações múltiplas, duas fêmeas apresentaram dois fetos (abortando no 3º e 8º meses após a concepção, respectivamente) e uma com trigêmeos, manteve a prenhez até o 8º mês. A taxa de aborto é maior em gestações múltiplas pois o volume exibido pelo útero e peso dos conceptos acabam influenciando a fisiologia materna como um todo e, aliado ao fato de a fêmea não suprir adequadamente as necessidades do feto, acabam comprometendo o desenvolvimento fetal e a gestação.

Duas fêmeas com prenhez gemelar tiveram dificuldade ao parto, resultando em 3,28 % de distocia. Considerando-se o número de partos gemelares, observado nesta pesquisa, acredita-se que esta porcentagem de distocia é baixa, uma vez que a incidência de dificuldade ao parto em fêmeas em gestação com mais de um feto tende a ser maior (VATTI, 1969 e GREGORY *et al.*, 1990), pois um feto acaba comprometendo a insinuação do outro.

Este protocolo apresentou eficiência semelhante na sincronização da ovulação em fêmeas cíclicas ou em anestro, porém o aspecto de superovulação observado, originando gestações gemelares, deve ser considerado, sendo inclusive motivo para futuras pesquisas.

ARTIGO RECEBIDO: OUTUBRO/2001

REFERÊNCIAS

BARUFI, F. B.; MADUREIRA, E. H.; MARQUES, A.; CARVALHO, N. A. T.; CELEGHINI, E. C. C.; BARUSELLI, P. S.; RODRIGUES, P. H. M. Avaliação do uso de crestar ou cidr-b + benzoato de estradiol, seguidos ou não pela aplicação de gonadotrofina coriônica eqüina (ecg), no desempenho reprodutivo de vacas de corte com bezerro ao pé. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.23, n. 3, p.332-333, 1999.

BAXTER, S. J.; WARD, W. R. Incidence of fetal loss in dairy cattle after pregnancy diagnosis using an ultrasound scanner. **The Veterinary Record**, v.140, n. 11, p.287-288, 1997.

BEAL, W. E.; PERRY, R. C.; CORAH, L. R. The use of ultrasound in monitoring reproductive physiology of beef cattle. **Journal of Animal Science**, v.70, n. 3, p.924-929, 1992.

BO, G. A.; ADAMS, G. P.; PIERSON, R. A.; TRIBULO, H. E.; CACCIA, M. MAPLETOFT, R. J. Follicle wave dynamics after estradiol-17B treatment of heifers with or without a progestogen implant. **Theriogenology**, v.41, p.1555-1569, 1994.

BRINK, J. T.; KIRACOFÉ, G. H. Effect of estrous cycle stage at syncromate b treatment on conception and time to estrus in cattle. **Theriogenology**, v.29, n. 2, p.513-518, 1988.

BROWN, L. N.; ODDE, K. G.; KING, M. E.; LEFEVER, D. E.; NEUBAUER, C. J. Comparison of melengestrol acetate – prostaglandin f_{2a} to syncromate b for estrus synchronization in beef heifers. **Theriogenology**, v.30, n. 1, p.1-12, 1988.

CHAFFAUX, S.; REDDY, G. N. S.; VALON, F.; THIBIER, M. Transrectal real-time ultrasound scanning for diagnosing pregnancy and for monitoring embryonic mortality in dairy cattle. **Animal Reproduction Science**, v.10, n. 3, p.193-200, 1986.

FREITAS, A. R. O uso de tabelas de contingência 2x2 na experimentação animal. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.26, n. 8, p.1283-1292, 1991.

GREGORY, K. E.; ECHTERNKAMP, S. E.; DICKERSON, G. E.; CUNDIFF, L. V.; KOCH, R. M.; VAN VLECK, L. D. Twinning in cattle: III. Effects of twinning on dystocia, reproductive traits, calf survival, calf growth and cow productivity. **Journal of Animal Science**, v.68, n. 10, p.3133-3144, 1990.

GRUNERT, E.; BIRGEL, E.H. Fisiologia da prenhez. In: _____. **Obstetrícia Veterinária**. 2.ed. Porto Alegre: Editora Sulina, 1984. cap.1, p.27-60.

HAWK, H. W.; BELLOWS, R. A. Ciclos reprodutivos – bovinos de corte e de leite. In: HAFEZ, E. S. E. (Ed.). **Reprodução animal**. 4.ed. São Paulo: Editora Manole Ltda., 1988. cap.16, p.387-396.

HUMBLLOT, P.; GRIMARD, B.; RIBON, O.; KHIREDINE, B.; DERVISHI, V.; THIBIER, M. Sources of variation of post-partum cyclicity, ovulation and pregnancy rates in primiparous charolais cow treated with norgestomet implants and pmsg. **Theriogenology**, v.46, n. 6, p.1085-1096, 1996.

KERR, D.R.; MCGOWAN, M. R.; CARROLL, C. L.; BALDOCK, F. C. Evaluation of three estrus synchronization regimens for use in extensively managed *Bos indicus* and *Bos indicus/taurus* heifers in northern australia. **Theriogenology**, v.36, n. 1, p.129-141, 1991.

KESLER, D. J.; FAVERO, R. J. Estrus synchronization in beef females with norgestomet and estradiol valerate. part 2: factors limiting and enhancing efficacy. **Agri-Practice**, v.17, p.12-17, 1996.

MACHADO, R.; KESLER, D. J. Efficacy of norethindrone acetate and norgestomet implants in suppressing estrus in female beef cattle. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v.22, n. 12, p.1211-1216, 1996.

MUNRO, R. K. The superovulatory response of *Bos taurus* and *Bos indicus* cattle following treatment with follicle stimulating hormone and progesterone. **Animal Reproduction Science**, v.11, n. 2, p.91-97, 1986.

ODDE, K. G. A review of synchronization of estrus in postpartum cattle. **Journal of Animal Science**, v.68, n.3, p.817-830, 1990.

RYAN, D. P.; SNIJDERS, S.; YAAKUB, H.; O'FARRELL, K. J. An evaluation of estrus synchronization programs in reproductive management of dairy herds. **Journal of Animal Science**, v.73, p.3687-3695, 1995.

RYAN, D. P.; GALVIN, J. A.; O'FARRELL, K. J. Comparison of oestrous synchronization regimens for lactating dairy cows. **Animal Reproduction Science**, v.56, p.153-168, 1999.

VATTI, G. El parto patológico. In: _____ **Ginecología y obstetricia veterinaria**. 3.ed. México: Hispano-Americana, 1969. cap.12, p.350-434.