

RELAÇÃO ENTRE O DIÂMETRO DO FOLÍCULO NO MOMENTO DA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO E A TAXA DE GESTAÇÃO EM VACAS NELORE

(Relationship between the size follicle at the time of fixed time artificial insemination and pregnancy rate in nellore cows)

Fábio Luiz Bim Cavalieri, Antonio Hugo Bezerra Colombo, Márcia Aparecida Andreazzi, Éder Augusto Gonçalves¹

¹Correspondência: eder10goncalves10@hotmail.com

RESUMO: A utilização da inseminação artificial em vacas permite o emprego, em grande escala, de indivíduos melhoradores. No entanto, uma grande limitação à sua expansão é a observação do cio, por isso, os programas de inseminação artificial em tempo fixo (IATF), onde não há a necessidade da detecção de cio, melhoram a eficiência e o emprego dessa técnica. Um fator importante nos resultados da taxa de concepção e na eficiência reprodutiva de vacas nos programas de sincronização para IATF é o tamanho do folículo ovulatório no final do programa. Desta forma, o objetivo deste estudo foi avaliar a relação entre o diâmetro dos maiores folículos (DF) no momento da IATF e a taxa de concepção em fêmeas nelore. Foram sincronizadas 120 vacas nelore e antes de cada IATF, mensurou-se o DF de todos os animais por ultrassonografia transretal, após, os animais foram divididos em 5 grupos, baseados no diâmetro do folículo, os quais variaram entre 7 a 16 mm. O diagnóstico de gestação foi realizado 30 dias após a IATF por ultrassonografia transretal. Os dados foram processados utilizando o programa estatístico SAS. A taxa de gestação geral foi de 46,66% e avaliando a taxa de gestação por grupo, observou-se que as vacas que apresentaram diâmetro folicular entre 7,0 e 10,0 mm tiveram 25% de taxa de gestação, entre 10,1 e 13,0 mm 47,60%, entre 13,1 e 16,0 mm 56,50%, acima de 16,0 mm 62,50% e os animais que não apresentaram folículo dominante no momento da inseminação resultaram em 48,10% de taxa de gestação. Os resultados demonstram efeito positivo do DF sobre a taxa de gestação de vacas Nelore, evidenciando que folículos maiores que 10 mm se relacionam positivamente ao aumento na taxa de gestação.

Palavras-chave: desenvolvimento folicular; reprodução em bovinos; taxa de concepção

ABSTRACT: The use of artificial insemination in cows makes possible breeding of superior animals, which are known as enhancer individuals. However, the major limitation for its expansion has been the necessity for estrus detection. Thus, programs of fixed time artificial insemination (FTAI), without the necessity for estrus detection, cooperates to increase efficiency and the application of this technique. The size of the ovulatory follicle at the end of synchronization programs for timed artificial insemination is an important factor that have an effect on conception rates and reproductive efficiency in cows. The objective of this study was to evaluate the relationship between the diameter of the largest follicle (DLF) at the time of artificial insemination and the conception rate of Nellore cows. Before the synchronization of all 120 females used in this study, transrectal ultrasonography was performed to measure the diameter of the dominant follicle. The animals were divided into 5 groups based on the diameter of the follicle, which varied from 7mm to 16 mm. Pregnancy diagnosis was performed 30 days after FTAI by transrectal ultrasonography. The data were analyzed using the SAS. The overall pregnancy rate was 46.66%. Cows were divided in groups by different follicular diameters at the time of insemination, from 7.0 to 10.0mm, from 10.1 to 13.0mm, from 13.1 to 16.0mm, above 16.00mm and without dominant follicle. The results for pregnancy rate were respectively 25%, 46.60%, 56.50%, 62.50% and 48.10%. The results showed a positive relationship between the DLF and fertility rates in Nellore cows utilizing synchronization protocol followed by timed artificial insemination.

Key Words: follicular development; pregnancy rate; reproduction in cattle

INTRODUÇÃO

O avanço tecnológico e o crescimento no mercado mundial de carnes exige maior eficiência produtiva e reprodutiva dos animais, o que resulta em melhores resultados econômicos da pecuária de corte (SÁ FILHO *et al.*, 2009).

Para se alcançar um bom desempenho produtivo e reprodutivo nos rebanhos, há a necessidade da redução do intervalo entre partos, por isso, uma alternativa é a utilização da inseminação artificial (IA) em vacas, que é uma das principais biotecnologias reprodutivas de impacto econômico na produção de bovinos (LUCY, 2001).

A IA é uma ferramenta extremamente importante no processo de melhoramento genético do rebanho, contudo, existem limitações devido ao seu custo e as falhas associadas ao trabalho de observação de cio por um longo período de tempo, a puberdade tardia e ao longo período de anestro pós-parto. Dessa forma, os programas de inseminação artificial em tempo fixo (IATF), os quais não necessitam a detecção de cio, colaboram para o aumento da eficiência e do emprego dessa técnica (BARUSELLI *et al.*, 2004; LARSON *et al.*, 2006; SÁ FILHO *et al.*, 2009).

O emprego da IATF proporciona um maior controle sobre o momento da inseminação do rebanho, permitindo inseminar um maior número de vacas em menor tempo, programar a inseminação e o nascimento dos bezerros, aumentar o número de bezerros de IA ao início da estação de nascimento e obter um melhor aproveitamento da mão-de-obra (BARUSELLI, 2004).

Um importante fator que influencia a taxa de concepção e a eficiência reprodutiva de vacas usadas nos programas de sincronização para IATF é o tamanho do folículo ovulatório no final do programa de sincronização (SÁ

FILHO *et al.*, 2009; SÁ FILHO *et al.*, 2010). Sá Filho *et al.* (2010) afirmaram que o diâmetro do folículo ovulatório está relacionado com os níveis de estradiol, e estes, relacionam-se com a maior probabilidade de ovulação e taxa de concepção. Folículos pré-ovulatórios de maior diâmetro promovem um aumento na concentração de estradiol e promovem mudanças no ambiente uterino que melhoram o transporte espermático, estes efeitos favorecem a concepção (SÁ FILHO *et al.*, 2011).

Por outro lado, Lonergan *et al.* (2013) afirmaram que o maior diâmetro do folículo ovulatório também se relaciona com o diâmetro do corpo lúteo formado, ou seja, a ovulação de folículos de menor diâmetro leva à formação de corpo lúteo de menor volume e, conseqüentemente, baixa capacidade de produção de progesterona (P4) e insuficiente desenvolvimento embrionário, promovendo assim, uma redução na fertilidade.

O presente estudo teve como objetivo avaliar a relação entre o diâmetro do folículo no momento da inseminação artificial e a taxa de concepção em vacas Nelore, submetidas a um protocolo de sincronização do crescimento folicular e inseminação artificial em tempo fixo.

MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi conduzida na Fazenda Experimental da UniCesumar - BIOTEC, localizada no município de Maringá, região noroeste do Paraná, entre os meses de janeiro a abril de 2014. Foram utilizadas 120 vacas multíparas da raça Nelore (*Bos taurus indicus*), com idade média de cinco anos, índice de escore corporal de 2,75 (IEC – escala de 1 a 5) (HOUGHTON *et al.*, 1990) e intervalo pós-parto de (66,2 dias). As vacas foram manejadas, extensivamente, em piquetes com pastagem predominante de *Brachiaria*

brizantha (cv. *Marandu*), com suplementação mineral e água a vontade. A fazenda obedece ao calendário sanitário oficial e todas as fêmeas foram imunizadas contra as doenças da esfera reprodutiva.

Todas as vacas, previamente ao início do protocolo de IATF, foram submetidas a exame clínico-ginecológico e ultrassonografia transretal, utilizando-se um transdutor linear com frequência de 6,5MHz (Mindray, DP-2200Vet). Foram selecionadas para a pesquisa as vacas sem histórico de aborto e que não apresentaram, no momento da avaliação, anormalidades do trato reprodutivo.

As fêmeas foram submetidas ao protocolo de sincronização baseado em Ribeiro Filho et al. (2013), descrito a seguir. Em um dia aleatório do ciclo estral, os animais receberam um dispositivo intravaginal de liberação de progesterona (P4) (Sincrogest®, Ouro Fino, 1,0 g de progesterona) associado a 2,0 mg de benzoato de estradiol (Estrogin®, Biofarm, 1 mg/mL) por via intramuscular (IM), às 8h00, denominado dia zero(D0). No dia oito (D8), às 08h00, retirou-se o dispositivo de P4 e foram administrados 2,0 mL de cloprostenol sódico (Sincrocio®, Ouro Fino, 0,25 mg/mL) (IM), 0,6 mg de cipionato de estradiol (ECP®, Pfizer, 2 mg /mL) (IM) e 300 UI de gonadotrofina coriônica equina (Folligon®, MSD Saúde Animal, 200 UI/mL) (IM). No dia dez (D10), às 08h00, antes da inseminação artificial, todos os animais foram examinados por ultrassonografia transretal com transdutor linear, com frequência de 6,5 MHz (Mindray, DP-2200Vet), para mensuração do DF presente no momento da inseminação artificial.

Com base nestas mensurações, as vacas foram divididas em cinco grupos a partir da variável DF, descritos no quadro abaixo:

Grupo	Número de animais	DF (mm)	Média do DF (mm)
1	20 (16,66%)	07,0 a 10,0	09,11
2	42 (35,00%)	10,1 a 13,0	11,83
3	23 (19,17%)	13,1 a 16,0	14,49
4	08 (06,67%)	> 16,0	18,25
5	27 (22,50%)	Sem FD	-

Seguindo as determinações de Ribeiro Filho et al. (2013), as inseminações foram realizadas por um mesmo técnico, com a finalidade de se evitar o efeito do inseminador. Para a realização das inseminações, utilizou-se sêmen criopreservado, de um único touro da raça Aberdeen Angus, descongelado a 37°C por 30 segundos, com o uso de um descongelador eletrônico (BioGenetic, BIO-DS3).

O diagnóstico de gestação foi realizado 30 dias após a IATF, com auxílio de ultrassonografia transretal, utilizando-se transdutor linear com frequência de 6,5 MHz (Mindray, DP-2200Vet). O critério de diagnóstico de gestação positivo foi a presença da vesícula embrionária com um embrião viável, apresentando batimentos cardíacos. A taxa de concepção foi calculada dividindo-se o total de vacas gestantes pelo total de vacas inseminadas.

Os animais de cada categoria foram divididos em gestantes e vazias. A taxa de concepção de cada grupo foi calculada dividindo-se o total de animais de cada grupo pelo número de vacas gestantes do grupo.

Os dados foram analisados pelo programa estatístico SAS (Statistical Analysis System) (2000), utilizando o procedimento Proc Genmod.

O trabalho foi realizado após aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Centro Universitário CESUMAR / UNICESUMAR, Maringá /PR, sob protocolo de número 002/2015.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores das taxas de gestação (%) de acordo com o diâmetro dos folículos são mostrados na Tabela 1, abaixo.

Tabela 1- Taxa de gestação de vacas nelore submetidas ao protocolo de inseminação artificial em tempo fixo, de acordo com o diâmetro dos folículos.

Grupo	Diâmetro dos folículos (mm)	Taxa de gestação (%)
1	07,0 a 10,0	25,00 a
2	10,1 a 13,0	47,60 b
3	13,1 a 16,0	56,50 b
4	Maiores que 16	62,50 b
5	Sem folículo dominante	48,10 b

^{a,b} Letras diferentes na mesma coluna, diferem entre si estatisticamente (P<0,10).

Os resultados evidenciaram que à medida que o diâmetro do folículo ovulatório aumentou, a taxa de gestação no 30º dia após a IATF também aumentou e as vacas que apresentaram um diâmetro folicular acima de 10,0 mm, no momento da inseminação artificial, apresentaram as melhores taxas de gestação. Contudo, cabe ressaltar que a taxa de gestação dos animais que não apresentaram folículo no momento da inseminação foi semelhante àqueles com folículos maiores que 10,0 mm. Este achado pode ser explicado pelo fato do folículo dominante ter ovulado recentemente e houve tempo suficiente para que ocorresse a fertilização do oócito.

Os efeitos positivos relacionados ao maior diâmetro do folículo ovulatório no momento da inseminação artificial e a taxa de prenhez evidenciados neste estudo concordam com SÁ FILHO *et al.* (2010), que associaram a presença de folículos com maior diâmetro com a alta ocorrência de estro, maior capacidade ovulatória e maior taxa de gestação em vacas *Bos indicus*. Os autores afirmaram que vacas que apresentaram diâmetro folicular acima de 11,1 mm tiveram maior probabilidade de gestação 30 dias após a inseminação,

Colaborando com os achados deste estudo PERRY *et al.* (2007) observaram que novilhas de corte (*Bos taurus*) que ovularam folículos menores que 10,7 mm de diâmetro, tiveram uma menor taxa de concepção comparada com novilhas que ovularam folículos maiores ou iguais a 12,8 mm, concluindo que novilhas que ovularam maiores folículos tinham maior probabilidade de engravidar. Outro trabalho similar aos nossos resultados, foram citados por SÁ FILHO *et al.* (2009), em uma pesquisa com vacas *Bos indicus*, e verificaram que o diâmetro do folículo afetou positivamente a taxa de gestação, mostrando que as vacas que apresentaram um maior folículo dominante no momento da inseminação artificial eram mais propensas a se tornarem gestantes.

Neste contexto ATKINS *et al.* (2010) verificaram uma correlação positiva e significativa entre a concentração de estradiol e o diâmetro do folículo ovulatório. Assim também (SÁ FILHO *et al.*, 2011) reportaram que as concentrações de estradiol, no momento da inseminação, influenciam a fertilização, pois modificam o ambiente do útero, favorecendo o transporte dos espermatozoides, a ovulação e a fertilização

Vacas que não exibem estro, devido a uma redução do diâmetro do folículo dominante durante o proestro sincronizado, podem ter concentrações sub-ótimas de estradiol, resultando em luteólise prematura no ciclo estral subsequente, diminuindo as taxas de sobrevivência dos embriões, por deficiência nas concentrações de P4 (SÁ FILHO *et al.*, 2011).

Para (LONERGAN *et al.*, 2013) o maior diâmetro do folículo ovulatório promove a formação de um corpo lúteo de maior diâmetro com elevada habilidade em manter a gestação por produzir elevados níveis de

progesterona. Por outro lado, de acordo com (VASCONCELOS et al., 2001), a ovulação de folículos de menor diâmetro resulta na formação de corpo lúteo de menor volume, com baixa produção de progesterona e, conseqüente, prejuízo ao desenvolvimento embrionário e à fertilidade.

De fato, em pesquisa realizada por Perry et al. (2005), foram observados em vacas no pós-parto, que ovularam folículos menores que 11,3 mm de diâmetro, depois de indução a ovulação com GnRH em protocolo de IATF, diminuição das taxas de gestação e aumento da mortalidade embrionária.

Ribeiro Filho et al. (2013), também observaram que, do total de 348 fêmeas, 200 ficaram gestantes perfazendo uma taxa de concepção de 57,47%. Os autores relataram que a média geral do DF foi de 12,43±2,84 mm e que as vacas que ficaram gestantes apresentaram folículos com diâmetro de 13,33±2,40 mm, valores significativamente superiores aos encontrados nas fêmeas não gestantes (11,27±2,75 mm).

No presente trabalho, com relação à taxa de gestação no grupo das vacas que não apresentaram folículo dominante no momento da inseminação artificial (grupo 5), acredita-se que o resultado obtido (48,10%) seja em função do folículo dominante ter ovulado recentemente. O oócito bovino tem uma viabilidade média de, aproximadamente, 6 a 8 horas na tuba uterina para que haja a fertilização (MIES FILHO, 1987). Talvez este tempo de permanência do oócito na tuba tenha sido suficiente para que houvesse a chegada e fertilização pelos espermatozoides. Portanto, esta pesquisa mostra que, mesmo após a ovulação recente do folículo dominante, é possível que seja realizada a inseminação artificial, resultando em boas taxas de gestação.

O grande desafio é realizar a inseminação artificial no menor tempo

possível após a ovulação, visto que os espermatozoides necessitam de um período para que percorram o trato reprodutivo da fêmea até alcançarem o oócito e para que ocorra a capacitação espermática (MIES FILHO, 1987).

No presente estudo, as vacas que ovularam folículos entre 7,0 e 10,0 mm de diâmetro (grupo 1), apresentaram as piores taxas de gestação, Gimenes et al. (2008) afirmaram que, a capacidade ovulatória, em novilhas *Bos indicus*, ocorre quando o folículo dominante atinge entre 7,0 a 8,4 mm de diâmetro e aumenta significativamente, em folículos com 8,5mm de diâmetro.

É bem conhecido que o LH se liga aos seus receptores nas células da granulosa, desencadeando uma série de eventos que culminam com a ovulação (MIES FILHO, 1987). No entanto, um dos principais fatores que influencia este evento é a quantidade de receptores de LH presentes nestas células e é notório que o número desses receptores aumenta de acordo com o aumento do diâmetro folicular (SIMÕES et al., 2012).

Portanto, o tamanho do folículo ovulatório parece ser um forte indicador de maturidade do folículo e, talvez, um melhor indicador de fertilidade do que a concentração sérica de estradiol no momento da IA ou expressão do estro. A utilização de protocolos que controlam o desenvolvimento folicular e o aumento da probabilidade de ovular folículos de tamanho ideal pode resultar em benefícios positivos sobre as taxas de gestação em vacas.

CONCLUSÃO

Podemos concluir que diâmetro do folículo dominante no momento da IATF afeta a taxa de gestação em vacas da raça Nelore inseminadas em tempo fixo.

Observou-se que, mesmo após a ovulação recente do folículo dominante é possível que seja realizada a

inseminação artificial, podendo haver boas taxas de gestação.

O estudo de técnicas que promovam o aumento do diâmetro do folículo no momento da IATF deve ser considerado, visando melhores resultados nos protocolos de sincronização.

NOTAS INFORMATIVAS

O Projeto de Pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Centro Universitário CESUMAR/UNICESUMAR, Maringá /PR, sob protocolo de número 002/2015.

REFERÊNCIAS

- ATKINS, J. A.; SMITH, M. F.; WELLS, K. J. et al. Factors affecting preovulatory follicle diameter and ovulation rate after gonadotrophin-releasing hormone in postpartum beef cows. Part I: cycling cows. **Journal of Animal Science**, v.88, p. 2300-2310, 2010.
- BARUSELLI, P. S.; REIS, E. L.; MARQUES, M. O. et al. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrus beef cattle in tropical climates. **Animal Reproduction Science**, v. 82-83, p. 479-486, 2004.
- GIMENES, L. U; SÁ FILHO, M. F.; CARVALHO, N. A. T. et al. Follicle deviation and ovulatory capacity in *Bos indicus* heifers. **Theriogenology**, v. 69, p. 852-858, 2008.
- HOUGHTON, P.L.; LEMENAGER, R.P.; MOSS, G.E. et al. Prediction of postpartum beef cow body composition using weight to height ratio and visual body condition score. **Journal of Animal Science**, v.68, p.1428–1437, 1990.
- LARSON, J. E.; LAMB, G. C.; STEVENSON, J. S. et al. Synchronization of estrus in suckled beef cows for detected estrus and artificial insemination and timed artificial insemination using gonadotropin-releasing hormone, prostaglandin F_{2α}, and progesterone. **Journal of Animal Science**, v. 84, p.332-342, 2006.
- LONERGAN, P.; O'HARA, L.; FORDE, N. Papel da progesterona do diestro na função endometrial e desenvolvimento do concepto em bovinos. **Animal Reproduction**, v.10 , n. 3, p. 119-123, 2013.
- LUCY, M.C.. Reproductive loss in high-producing dairy cattle: where will it end? **Journal of Dairy Science**, v.84, p.1277-1293, 2001.
- MIES FILHO, A. 1987. Reprodução dos Animais Domésticos. 6º ed. Sulina, Porto Alegre. 519p.
- PERRY, G. A.; SMITH, M. F.; LUCY, M. C. et al. Relationship between follicle size at insemination and pregnancy success. **The National Academy of Sciences of the USA**, v. 102, p. 5268-5273, 2005.
- PERRY, G. A.; SMITH, M. F.; ROBERTS, A. J. et al. Relationship between size of the ovulatory follicle and pregnancy success in beef heifers. **Journal of Animal Science**, v. 85, p.684-689, 2007.
- RIBEIRO FILHO, A.L.; FERRZ, P. A.; RODRIGUES, A.S et al.. Diâmetro do folículo no momento da inseminação artificial em tempo fixo e taxa de concepção em vacas nelore. **Ciência Animal Brasileira**, v. 14, n. 4, 2013.
- SÁ FILHO, M. F.; CRESPILO, A. M.; SANTOS, J. E. P. et al. Ovarian follicle diameter at timed insemination and estrous response influence likelihood of ovulation and pregnancy after estrous synchronization with progesterone or progestinbased protocols in suckled *Bos indicus* cows. **Animal Reproduction Science**, v. 120, p. 23-30, 2010.
- SÁ FILHO, M. F.; SANTOS, J. E. P.; FERREIRA, R. M. et al. Importance of

estrus on pregnancy submitted to estradiol/progesterone- based timed insemination protocols. **Theriogenology**, v. 76, p.455-463, 2011.

SÁ FILHO, O. G.; MENEGHETTI, M.; PERES, R. F. G. et al. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows II: Strategies and factors affecting fertility. **Theriogenology**, v. 72, p. 210-218, 2009.

SAS INTITUTE INC., **Statistical Analysis System**, Versão 8.0. Cary, NC: 2000. (Manual On-line).

SIMÕES, R. A. L.; SATRAPA, R. A.; ROSA, F. S. et al. Ovulation rate and its relationship with follicle diameter and gene expression of the LH receptor (LHR) in Nelore cows. **Theriogenology**, v. 77, p.139-147, 2012.

VASCONCELOS, J. L. M.; SARTORI, R.; OLIVEIRA, H. N. et al. Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rate. **Theriogenology**, v. 56, p. 307-314, 2001.