

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ  
ESCOLA DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E MEDICINA VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

LAISA SINCERO RABELO DE OLIVEIRA

POTENCIAL DA DESLORELINA COMO AGENTE INDUTOR  
DA OVULAÇÃO EM VACAS PRIMÍPARAS *Bos taurus*  
*indicus* NA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO

(Impact of deslorelin as inductor of ovulation for timed-artificial insemination in  
primiparous *Bos taurus indicus* cows)

SÃO JOSÉ DOS PINHAIS

2015

**LAISA SINCERO RABELO DE OLIVEIRA**

**POTENCIAL DA DESLORELINA COMO AGENTE INDUTOR  
DA OLUVAÇÃO EM VACAS PRIMÍPARAS *Bos taurus*  
*indicus* NA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO**

**(Impact of deslorelin as inductor of ovulation for timed-artificial insemination in  
primiparous *Bos taurus indicus* cows)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, área de concentração Saúde, Tecnologia e Produção Animal, da Escola de Ciências Agrárias e Medicina Veterinária da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Orientador(a): Luiz Ernandes Kozicki

**SÃO JOSÉ DOS PINHAIS**

**2015**

**TERMO DE APROVAÇÃO**  
**(Responsabilidade da Secretaria do PPGCA)**

**(Entregue pela secretaria)**

## SUMÁRIO

	Página
<b>DEDICATÓRIA</b> .....	<b>v</b>
<b>AGRADECIMENTOS</b> .....	<b>vi</b>
<b>FORMATO DA DISSERTAÇÃO</b> .....	<b>vii</b>
<b>RESUMO GERAL</b> .....	<b>viii</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>ix</b>
<b>CAPÍTULO 1</b> .....	<b>1</b>
INTRODUÇÃO E CONTEXTUALIZAÇÃO.....	1
<b>CAPÍTULO 2</b> .....	<b>4</b>
ARTIGO (IMPACTO DA DESLORELINA COMO AGENTE INDUTOR DA OVULAÇÃO EM VACAS PRIMÍPARAS <i>Bos taurus indicus</i> NA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO).....	4
<b>CAPÍTULO 3</b> .....	<b>18</b>
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	18
<b>ANEXO</b> .....	<b>19</b>

## Dedicatória

Aos meus amados pais, Irineu Rabelo de Oliveira Filho e Marly Sincero Rabelo de Oliveira.

A Ghiovani Zanzotti Raniero e Benício Sincero Rabelo Oliveira Raniero, esposo e filho  
amados.

Sem eles nada disso seria possível.

## AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Prof. Dr. Luiz Ernandes Kozicki, que além de suas atribuições, pode oferecer atenção e entusiasmo no desenvolvimento deste estudo.

Aos que estiveram ao meu lado e compreenderam meus momentos de ausência em especial aos sobrinhos Maysa e Irineu Augusto, meus irmãos Rodrigo e Rafael, cunhadas Daiane e Simone.

Aos tios Osmar e Marilda, que tão gentilmente me acolheram durante este período em Curitiba.

A irmã do coração Laynara, e o primo Diego, pela amizade e aconselhamentos.

Ao tio Kika, primo Alex, prima Nilsimara, pelas caronas e conversas agradáveis, a querida Neri, pelos patinhos de bolo de chuva.

Aos meus queridos sogros Nilson e Elizete e cunhado Renan.

Aos novos amigos que caminharam comigo nesta jornada, Giovanna Polo, Luis Freitag, João Filipi Pereira, Kassy Gomes, Maycon Amaral, Diego Brandão, Geovane Oliveira, desejo muito sucesso a vocês.

Aos veterinários, André Luis Bastos e Francisco Gaievski por compartilhar seu conhecimento teórico e prático comigo.

A todos os colaboradores da PUCPR, em especial a Carolina Nocera, que conduz muito bem o funcionamento da secretaria com muita competência.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), por conceder a bolsa de estudos.

## **FORMATO DA DISSERTAÇÃO**

A presente dissertação é composta por capítulos. O capítulo 1 apresenta uma introdução geral, a contextualização do tema, o estado da arte e os objetivos de estudo desta dissertação. O capítulo 2 trata do manuscrito (artigo) científico completo, contendo referências, e formatado nas normas do periódico a ser submetido. O capítulo 3 finaliza esta dissertação com conclusões gerais e considerações finais deste trabalho e sugestões para estudos futuros.

## RESUMO GERAL

Os protocolos para a IATF nos bovinos estão sendo desenvolvidos há mais de 30 anos. Os protocolos básicos foram sendo progressivamente aperfeiçoados (emprego de luteolíticos, recrutadores foliculares dentre outros), atingindo um ponto da utilização de indutores da ovulação. O uso dos indutores proporcionaram maior eficiência aos protocolos visando obter uma reprodução de maior precisão. No presente estudo objetivou-se abordar alguns aspectos do estado da arte da IATF, dos protocolos mais tradicionais, aos mais utilizados atualmente com inclusão dos indutores da ovulação, os quais revestiram-se de maior importância, face às limitações e complexidades de variação do período peri-ovulatório. Deste modo, atualmente busca-se trabalhar com protocolos de IATF, que conduzam a uma reprodução de precisão, exatamente para a obtenção de maior eficiência reprodutiva. Concluiu-se que os hormônios indutores da ovulação tornaram-se imprescindíveis para a melhoria da eficiência reprodutiva na IATF, impactando significativamente sobre as taxas de fertilidade dos rebanhos. Sua utilização tornou-se praticamente obrigatória em programas de IATF.

Palavras chaves: IATF. Vacas. Protocolos. Indutor. Ovulação



## **ABSTRACT**

Protocols for TAI in cattle are being developed more than 30 years. The basic protocols were gradually enhanced (use of luteolytic hormones, follicular stimulators and others), reaching a point to use the inductors of ovulation. The use of inductors provided greater efficiency in protocols to obtain a reproduction of greater precision. The present study aimed to address some aspects of the TAI status art, running from the traditional protocols, until the most widely used including ovulation inductors, which become most important, before the limitations of the variation complexities around the periovulatory period. Thus, currently we look for work with TAI protocols, leading to a reproduction of precision, exactly to achieve greater reproductive efficiency. In conclusion, hormones for induction of ovulation became essential for improving reproductive efficiency in the TAI, significantly impacting on fertility rates of the herds. Their use has become mandatory in TAI programs.

Keywords: TAI. Cows. Protocols. Inductor. Ovulation. Deslorelin.

# CAPITULO 1

## INTRODUÇÃO

Os primeiros protocolos para a inseminação artificial em tempo fixo (IATF) foram desenvolvidos por Ulberg e Lindley (1960). Alguns anos após Hansel et al. (1975) utilizaram a progesterona (P4) com benzoato de estradiol (BE) em novilhas de corte ou a P4 mais PGF2 alfa em vacas de corte (Welsch et al., 1975). Nesta época, os índices da taxa de prenhez ainda eram baixos, não ultrapassando os 40,0 % (Ulberg e Lindley, 1960).

Um novo e inovador protocolo para a IATF foi proposto por Pursley et al. (1995), os quais o testaram em bovinos de leite. O novo protocolo foi denominado de Ovsynch, utilizando uma aplicação de Fator Liberador de Gonadotrofinas (GnRH) no dia(d) zero do protocolo (dia do início), seguido de Prostaglandina F2 alfa (PGF2alfa) no d7 e uma segunda aplicação de GnRH no d9 (dia da IATF). O Ovsynch foi posteriormente testado em bovinos de corte, nos Estados Unidos e também no Brasil (Baruselli et al., 2004). Sua aplicação em vacas *Bos taurus indicus* no Brasil, não obteve o mesmo sucesso, pois a atuação dos hormônios não se comportou do mesmo modo que ocorreu em vacas leiteiras. Fatores como falta de suplementação (minerais, concentrados) dos animais de corte produzidos a pasto, principalmente as primíparas de animais mestiços redundaram em baixos índices de eficiência reprodutiva (Bó et al., 2003). Porém, a partir disso, várias outras investigações para melhorar a eficiência dos protocolos de IATF foram efetuadas.

Na década dos anos 90 pesquisadores como Galina et al. (1996), Pinheiro et al. (1998) e produtores estavam cientes, das limitações que incidiam, sobre a inseminação artificial convencional (IA) (visualização do estro e IA 12 horas após), em função da necessidade de pessoas com conhecimentos para a correta observação do estro, anotações de dados reprodutivos, monitoramento dos animais a campo (manhãs e tardes) existentes dentre outros entraves. Além disso, observou-se que vacas *Bos*

*taurus indicus* manifestavam elevado percentual de estros durante a noite, dificultando ainda mais a prática da IA convencional (Pinheiro et al., 1998).

Frente a estas dificuldades buscou-se aprimorar os protocolos de IATF com objetivo de aumentar a eficiência reprodutiva, visando justificar o uso da técnica. A IATF alavancou e também fortaleceu a técnica da IA propriamente dita como um todo, ao possibilitar a concentração das inseminações artificiais em milhares de animais, estabelecendo assim uma significativa otimização dos trabalhos de IA em curtíssimo período de tempo (questão de dias), além das vantagens de se fixar épocas mais favoráveis para os nascimentos dos bezerros (DeJarnette et al., 2001). Igualmente houve ganhos no aproveitamento da mão-de-obra, na eficiência do processo, na padronização dos bezerros nascidos, na uniformidade de plantéis, nos testes genéticos de progênie e em outras vantagens que a metodologia proporciona, justificando o crescimento de 30% do uso da IATF ( Rocha, 2011). Atualmente o Brasil constitui o maior País empregador de IATF no mundo ( Morgan, 2011), pois a IATF proporciona maior taxa de vacas prenhes inseminadas já nos primeiros dias da estação de monta (EM) assim como após 45 dias (Baruselli et al., 2002; Padula e Macmillan 2002; Kozicki et al. 2013), auxiliada pela prévia exposição dos animais à P4.

## Referências

Baruselli PS, Marques, MO, Carvalho NAT, Madureira EH, Campos Filho EP. Efeito de diferentes protocolos de inseminação artificial em tempo fixo na eficiência reprodutiva de vacas de corte lactantes. Rev Bras Reprod Anim. 2002; 26: 218-221.

Baruselli PS, Reis EL, Marques MO, Nasser LF, Bó GA. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrous beef cattle in tropical climates. Anim. Reprod. Sci. 2004; 83: 479-486.

Bó GA, Baruselli PS, Martínez MF. Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. Anim. Reprod. Sci. 2003; 78: 307-326.

DeJarnette JM, Salverson RR, Marshall CE. Incidence of premature estrus in lactating dairy cows and conception rates to standing estrus or fixed-time inseminations after synchronization using GnRH and PGF2 $\alpha$ . Anim. Reprod. Sci. 2001; 67:27–35.

Galina GS, Orihuela A, Bubio I. Behavioral trends affecting estrous detection in Zebu cattle. Anim. Reprod. Sci. 1996; 42: 465–470.

Hansel W, Schechter RJ, Malven PV, Simmons KR, Black DL, Hackett AJ. Plasma hormone levels in 6-methyl-17-acetoxyprogesterone and estradiol benzoate treated heifers. *J Anim Sci.* 1975; 40: 671–681.

Kozicki LE, Lopes HB, Feroldi TM, Cordeiro CG, Foltran GB, Segui MS, Marcuz APW, Weiss RR, Gaievski FR, Abreu RA. Deslorelin as inductor of ovulation in *bos taurus* x *bos indicus* after previous exposure to intravaginal progesterone. *Acad J Agr Res.* 2013; 1: 036-038.

Morgan A. IATF nos rebanhos bovinos tem inúmeras vantagens. 2011. Disponível em: <<http://www.cpt.com.br/noticias/iatf-rebanhos-bovinos-vantagens-gado-corte-leite>>. Acessado em: 20 out. 2015.

Padula AM, Macmillan KL. Reproductive responses of early postpartum dairy cattle to continuous treatment with a GnRH agonist (deslorelin) for 28 days to delay the resumption of ovulation. *Anim Reprod Sci.* 2002; 70: 23–36.

Pinheiro OL, Barros CM, Figueredo RA, Valle ER, Encarnação RO, Padovani CR. Estrous behaviour and the estrus-to-ovulation interval in Nelore cattle (*Bos indicus*) with natural estrus or estrus induced with prostaglandin F<sub>2</sub>α or norgestomet and estradiol valerate. *Theriogenology.* 1998; 49: 667-681.

Pursley JR, Mee MO, Wiltbank MC. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF<sub>2</sub>α and GnRH. *Theriogenology.* 1995; 44:915-923.

Rocha, C. IATF, um mercado em expansão. 2011. Disponível em: <<http://boiapasto.com.br/2011/10/iatf-um-mercado-em-expansao/>>. Acessado em: 20 out. 2015.

Ulberg LC, Lindley CE. Use of progesterone and estrogen in the control of reproductive activities in beef cattle. *J Anim Sci.* 1960; 19: 1132–1142.

Welch JA, Hackett AJ, Cunningham CJ, Heishman JO, Ford SP, Nadaraja R, Hansel W, Inskeep EK. Control of estrus in lactating beef cows with prostaglandin F<sub>2</sub> alpha and estradiol benzoate. *J Anim Sci.* 1975; 41: 1686–1692.

## CAPITULO 2

**Potencial da deslorelina como agente indutor da ovulação em vacas primíparas *Bos taurus indicus* na inseminação artificial em tempo fixo.**

***(Impact of deslorelin as inductor of ovulation for timed-artificial insemination in primiparous *Bos taurus indicus* cows)***

Laisa Sincero Rabelo de Oliveira – Mestranda no Programa de Pós Graduação em Ciência Animal, Pontifícia Universidade Católica do Paraná – Curitiba – Paraná - Brasil

Resumo - O objetivo do estudo foi verificar a eficiência da deslorelina (DES) como indutora da ovulação em protocolos de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) sobre as taxas de prenhez (TP) de vacas primíparas *Bos taurus indicus*. Foram utilizados 176 animais, distribuídos em três grupos: GNDES (Grupo Não DES; n= 59), que recebeu no dia 0 (d0) um dispositivo intravaginal com 0,558 g de progesterona (P4) + 2,0 mg de benzoato de estradiol (BE) (IM); no d8 remoção da P4 + 0,5 mg de cipionato de estradiol (CE) + 150 µg de cloprostenol + 400 UI de gonadotrofina coriônica equina (eCG); em d10 foi executada a IATF; GDES (Grupo DES; n=60) o mesmo que GNDES porém 1,0 mg (IM) de DES no momento da IATF; GDES6 (Grupo Deslorelina 6 horas); n=57) o mesmo que GDES, porém com a DES aplicada 6 horas antes da IATF. Os dados foram submetidos à análise estatística mediante o Programa SAS (2014). O estudo resultou em taxa de prenhez (TP) na IATF e ao final da estação de monta respectivamente para GNDES, GDES e GDES6 em 40,6; 53,3; 43,8 % e 72,9; 81,7; 70,2 %. Concluiu-se que a DES interpôs um indicativo de melhoria na TP à IATF, nos grupos tratados frente ao controle, em números absolutos; O ECC, dias abertos e o status reprodutivo de anestro ou ciclicidade não exerceram influencias sobre a TP à IATF, aos 60 dias e ao final da estação de monta.

Palavras chaves: Deslorelina injetável. IATF. Protocolo hormonal. Vacas. Primíparas.

Abstract - The aim of the study was to verify the efficiency of deslorelin (DES) as inductor of ovulation in timed-artificial insemination (TAI) protocols on

pregnancy rate (PR) in primiparous *Bos taurus indicus* cows. Hundred seventy six animals were divided into three groups (G): GNDES (Group No Deslorelin; n = 59) which received on day 0 (d0) an intravaginal device with 0.558 g of progesterone (P4) + 2.0 mg estradiol benzoate (EB) (IM); d8 P4 removal + 0.5 mg of estradiol cypionate (EC) + 150 µg of cloprostenol + 400 IU of equine chorionic gonadotropin (eCG); in d10 TAI was proceeded; GDES (DES group; n = 60) the same as GNDES + 1.0 mg (IM) DES acetate in TAI day; GDES6 (DES applied 6 hours before TAI, n = 57) the same as GDES, but DES injected 6 hours before TAI. The pregnancy rate (PR) in TAI and at the end of the breeding season (BS) was respectively 40.6; 53.3; 43.8% and 72.9; 81.7; 70.2% in GNDES, GDES and GDES6. In conclusion, the DES brought an indicative of improvement in the PR for TAI, in the treated groups (3.2 to 12.7 % more) than control, however without significance; the BCS, open days and the reproductive status of anestrus or cyclicity, did not influenced the PR in TAI at 60 days or at the end of the BS.

Key words: Injectable Deslorelin. TAI. Protocol hormone. Cows. Primiparous.

## Introdução

As falhas na identificação do estro e do anestro pós-parto prolongado são os dois principais fatores que afetam o desempenho reprodutivo de bovinos (Lee et al. 2013). O método tradicional para a detecção de estro é a observação visual, sendo altamente dependente da intensidade de estro, da experiência do observador, e da frequência de observações (Chanvallon et al., 2014).

Visando maximizar as probabilidades das taxas de concepção (TC) e taxas de prenhez (TP), com número reduzido de inseminações artificiais (IA), vários protocolos de sincronização de estro foram desenvolvidos, sendo o objetivo da maioria a não-necessidade de detecção de estro (Lane et al. 2008), ou seja, protocolos hormonais direcionados a inseminação artificial em tempo fixo (IATF). Estreitamente relacionada aos protocolos de IATF encontra-se a sincronização da ovulação (SO), a qual poderá otimizar as TP após a IA. Esta

biotécnica constitui-se em uma ferramenta significativamente importante na eficiência reprodutiva de rebanhos comerciais (Johnson, 2005).

Os protocolos clássicos de IATF utilizam associações de implantes (intravaginais ou subcutâneos) de P4, BE, prostaglandina F<sub>2α</sub> (PGF<sub>2α</sub>), e gonadotrofina coriônica equina (eCG) para sincronização do estro (Baruselli et al., 2004; Butler et al., 2011; Souza et al., 2015).

Se por um lado observam-se os efeitos benéficos da exposição dos animais à P4, por outro a eCG atua como estimulante do crescimento folicular (sobretudo do folículo dominante - FD) e produção de P4 pelo corpo lúteo (CL) do ciclo subsequente (Baruselli et al., 2004). Seu uso tem-se mostrado promissor em vacas com baixa taxa de ciclicidade (animais no puerpério, por exemplo) ou em animais com baixo escore da condição corporal (ECC) (Baruselli et al., 2004). Sá Filho et al. (2010), verificaram que o uso de eCG pode resultar em aumento da taxa de crescimento folicular, aumento do diâmetro do FD, além da elevação da taxa de ovulação (TO) em vacas não cíclicas.

Por sua vez, o uso de GnRH ou estradiol no início do protocolo de IATF pode alterar a dinâmica folicular do ovário visando sincronizar o surgimento de um novo FD. O uso do estradiol, GnRH ou hCG durante o proestro pode reduzir a variação do intervalo à ovulação (Macmillan e Burke, 1996). Kozicki et al. (2013) testaram a DES (potente agonista do GnRH) intramuscularmente em vacas mestiças, visando à indução da ovulação após prévio tratamento de P4 intravaginal, obtendo taxa de ovulação de 100,0% após 22,3 horas da aplicação.

Indutores da ovulação em vacas como o GnRH (Sá filho et al., 2009) e a DES (Frares et al., 2013) em búfalas, foram empregados em protocolos de IATF, visando incrementar as taxas de concepção (TC) e de prenhez (TP). Estudo com búfalas no anestro sazonal demonstrou que a DES foi significativamente mais eficiente na TO e na TP que o GnRH em protocolo de IATF (Frares et al., 2013). Relatos da DES (injetável intramuscularmente) visando à indução da ovulação em vacas são escassos. Padula e Macmillan (2002) utilizaram um implante subcutâneo com DES em vacas leiteiras

concluindo que o agonista do GnRH possui um potencial para controlar as funções reprodutivas no puerpério e manipular a fertilidade de vacas. A hipótese no presente estudo é a de que a administração de DES como indutora da ovulação em protocolos de IATF otimize a eficiência reprodutiva em vacas zebuínas primíparas, não obstante esta categoria animal constitua uma classe especial de animais. Elas detêm frequentemente, atraso do início da ciclicidade no puerpério, em função da primeira lactação, pois são recém-saídas do estado de novilhas, mas ainda, não são vacas totalmente constituídas, e que devem garantir a produção de leite para sua prole, assim como finalizar o seu próprio crescimento, ainda aquém ao de vaca adulta (Öztürk et al., 2010).

O objetivo do estudo foi verificar a eficiência do acetato de deslorelina injetável intramuscularmente, como indutor da ovulação em protocolos de IATF, sobre as taxas de prenhez em vacas *Bos taurus indicus* primíparas em reprodução em escala comercial.

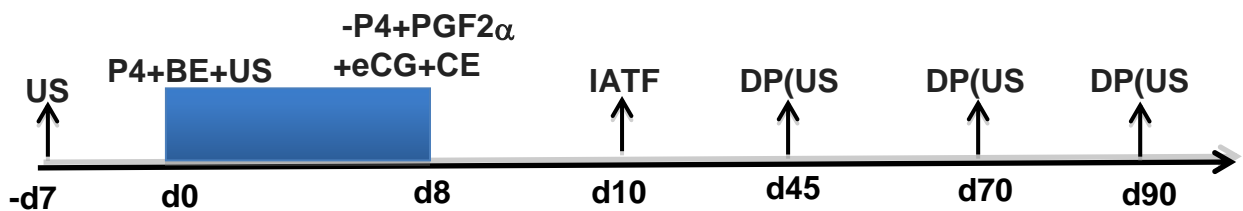
#### Material e Métodos

O presente estudo utilizou 176 vacas primíparas da raça Nelore de uma Fazenda Comercial de bovinocultura de corte, situada na Latitude -23° 53' 34", Longitude -55° 25' 52", (altitude de 429 metros) sob pastejo rotacionado de piquetes com *Brachiaria brizantha* (var. Marandú). Adicionalmente foi oferecido sal mineral e água *ad libitum*. O escore de condição corporal (ECC) variou de 2,7 a 4,0 (média=3,5 ± 0,3) (1= magra e 5= obesa de acordo com Lowman et al. (1976). O peso vivo médio foi de 340 ± 60 kg (variação de 280 a 400). Os animais encontravam-se entre 37 e 53 dias após o parto ( média de 43,5 ± 2,6 dias). As vacas foram distribuídas aleatoriamente em 3 grupos: GNDES (grupo não-deslorelina; n = 59) que recebeu um dispositivo intravaginal de progesterona (P4) longa-ação + benzoato de estradiol (BE) no dia 0 (d0); em d8 ocorreu à remoção da P4 + administração de prostaglandina F2 alfa (PGF2 $\alpha$ ) + gonadotrofina coriônica equina (eCG) + cipionato de estradiol (CE); em d10 efetuou-se a IATF; GDES (Grupo Deslorelina; n = 60) submetidas a idêntico protocolo, exceto que em d10 foi aplicado 1,0 mg de acetato de deslorelina (IM) (musculo *Longissimus dorsi*); GDES6 ( Grupo com Deslorelina aplicada 6 horas antes da IATF; n = 57), o mesmo que GDES exceto a

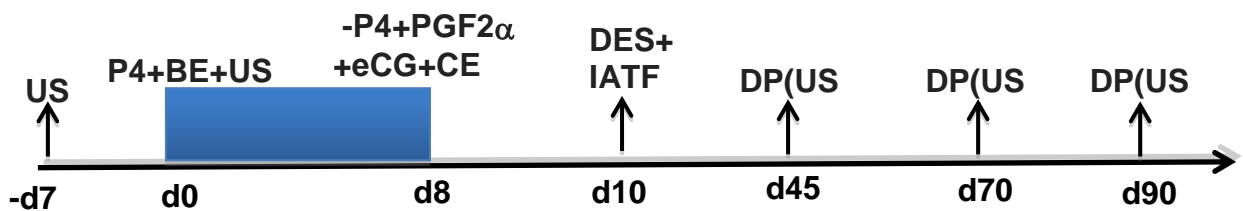


administração de acetato de deslorelina (IM) 6 horas antes da IATF (Figura 1). As inseminações artificiais foram executadas com sêmen descongelado sabidamente fértil. O diagnóstico de prenhez (DP) foi feito aos 35 dias, aos 60 pós a IATF e ao final da estação de monta (EM = 90 dias). Vacas não prenhe após a IATF, permaneceram com touros de repasse por mais 90 dias. As avaliações ovarianas foram executadas mediante aparelho portátil de ultrassom, equipado com um transdutor linear bifrequencial de 5/7,5 MHz (Concept LC, Dynamic Imaging, Scotland). As vacas foram classificadas em anestro (ausência de CI ou folículos < que 8 mm de diâmetro) ou cíclicas (presença de CI ou folículos > que 8 mm) ( Ginther et al.,1996). Os folículos ovarianos eram identificados e o diâmetro (mm) foi mensurado no dia -7, d0 e d8. A proporção de touros de repasse para as vacas foi de 1:25.

GNDES (Grupo Não-Deslorelina; n = 59);



GDES (Grupo Deslorelina; n = 60);



GDES6 (Grupo Deslorelina 6 horas antes da IATF; n = 57);

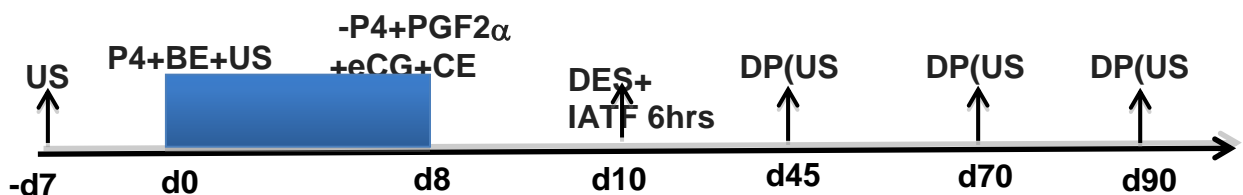


Figura 1 - Diagrama do protocolo dos três grupos

---

Legenda: P4: Dispositivo Intravaginal (0,558 g Progesterona = Cronipress, Biogenesis Bago, Curitiba, Brasil); BE: (1 mg Benzoate de estradiol IM, Cronibest, Biogenesis Bago); PGF2 $\alpha$  (0.075 mg / ml Cloprostenol = Croniben, Biogenesis Bago); eCG (400 IU Gonadotrofina coriônica equina = Novohormon, Coopers); Deslorelina ( 1 mg IM)(substancia ainda não comercializada; cedida graciosamente); CE (1,0 mg IM, cipionato de estradiol), Zoetis - Pfizer, São Paulo); DP= Diagnóstico de prenhez; US= Ultrassonografia;

#### Análise estatística

Os modelos foram ajustados utilizando o Statistical Analysis System (SAS, versão 9.1 para Windows; SAS Inst, Cary, NC, EUA, 2014). A taxa de prenhez, que é uma variável binária, tem distribuição Bernoulli e foi analisada por regressão logística mista utilizando o procedimento GLIMMIX. As variáveis independentes inicialmente consideradas no modelo estatístico foram: efeito de tratamento (Grupos GNDES; GDES; GDES6), o escore corporal (ECC) e suas interações para a taxa de prenhez. Para obtenção do modelo estatístico final, as variáveis explicativas foram sequencialmente removidas com base no critério estatístico de Wald, aplicando o valor de corte de  $P > 0,2$ . Seguindo este critério, a variável explicativa incluída no modelo final para a taxa de prenhez foi o efeito do tratamento.

Além desses aspectos, o ECC foi dividido em três categorias, a saber: ECC < 3,5; ECC = 3,5 e ECC > 3,5 e avaliada sua relação com Anestro, Prenhez x IATF, Prenhez x Touro e Prenhez x Total. Ainda, foi analisado a relação entre Anestro x Prenhez (IATF), bem como, Prenhez x Touro. Finalmente, os dados foram apresentados como valores médios e porcentagens, considerando-se um nível de significância de 5% para todos os testes estatísticos.

## Resultados e Discussão

Os resultados de ECC, Dias Abertos, anestro ou ciclicidade e taxas de prenhez encontram-se na tabela a seguir:

Tabela 1 – Escore da condição corporal (ECC), dias abertos no pós-parto, ciclicidade, taxa de prenhez oriunda de IATF e do repasse dos touros nos grupos de vacas *Bos taurus indicus* submetidas a protocolos hormonais sem deslorelina (GNDES), com DES no dia da IATF(GDES) e com DES 6 horas antes da IATF (n=176).

Grupos	ECC ( $\bar{x}\pm s$ )	Dias abertos ( $\bar{x}\pm s$ )	Anestro n (%)	Cíclica s n (%)	TP IATF n (%)	TP Touros aos 60 dias n (%)	TP ao Final da EM n (%)
GNDES (n=59)	3,4 $\pm$ 0,2	45,5 $\pm$ 8,1	31/59 (52,5)	28/59 (47,5)	24/59 (40,6)	19/35 (54,2)	43/59 (72,9)
CV (%)	5,8	17,8					
GDES (n=60)	3,5 $\pm$ 0,3	43,7 $\pm$ 8,4	28/60 (46,6)	32/60 (53,3)	32/60 (53,3)	17/28 (60,7)	49/60 (81,7)
CV (%)	8,5	19,2					
GDES6 (n=57)	3,5 $\pm$ 0,3	41,5 $\pm$ 7,0	31/57 (54,3)	26/57 (45,6)	25/57 (43,8)	15/32 (46,9)	40/57 (70,2)
CV (%)	8,5	16,8					
Valor de <i>P</i>	-	-	0,34		0,35	0,58	0,33

Não houve diferença significativa entre os grupos para nenhuma das variáveis estudadas, tendo como os valores de *P*: Categorias de ECC x Anestro ( $P=0,80$ ), Categorias de ECC x Prenhez IATF ( $P=0,56$ ); Categorias de ECC x Prenhez Touro ( $P=0,93$ ); Categorias de ECC x Prenhez Total ( $P=0,80$ ).

Ainda, foram realizadas análises entre Anestro x Prenhez IATF ( $P=0,70$ ) e Anestro x Prenhez Touro ( $P=0,97$ ).

Desde o desenvolvimento do protocolo Ovsynch (um dos primeiros para a IATF em bovinos) (Pursley et al.,1995), inúmeros outros foram testados. Muitos dos protocolos foram associados aos hormônios indutores da ovulação administrados no dia da IATF (Pursley et al., 1995) ou 24 horas (Gaievski et al., 2015) ou 48 horas antes da IATF (Sá Filho e Vasconcelos, 2011). O uso de indutores da ovulação, tornou-se fundamental para a melhoria das taxas de prenhez em bovinos (Wiltbank e Pursley, 2014), sendo o GnRH (Demeterco et al., 2014), o BE (Barreiros et al., 2014) e o CE (Sá Filho et al., 2009), os mais utilizados.

Em nosso estudo utilizou-se o acetato de deslorelina injetável via intramuscular profunda (IM), substância empregada anteriormente por Ambrose et al. (1998), Rajamahendran et al.(1998) e Bartolome et al. (2004) sob a forma de implantes subcutâneos. Contudo, os relatos destes autores não esclareceram suficientemente os potenciais efeitos da DES, principalmente como indutora da ovulação e os resultados não alcançaram a repercussão necessária para a continuidade de outros estudos na sequência. Os resultados mostraram-se pouco consistentes, principalmente em relação à indução da ovulação em vacas de leite em programas de IATF (Ambrose et al.,1998).

No presente experimento o GDES recebeu a DES no dia da IATF e o GDES6 seis horas antes, e os dados foram confrontados com o grupo não recebedor da DES (GNDES). Nossa hipótese era de que a DES atuaria como potente indutora da ovulação em bovinos, de acordo com relatos de Kozicki et al.( 2013), os quais conduziram estudo em vacas mestiças de corte e de Frares et al. (2013) em búfalas de leite, no anestro sazonal. Basicamente o protocolo aplicado no presente estudo já contemplava o uso de CE no d8 do protocolo (=dia da retirada da P4), com a função de indutor da ovulação. Por conseguinte, a DES injetada no dia da IATF, poderia segundo nossa hipótese, proporcionar ainda maior precisão nas horas e no percentual de animais com ovulações. De fato, no presente estudo os grupos tratados com DES (GDES e GDES6) evidenciaram maior eficiência na TP na IATF em números absolutos, quando confrontados com o GNDES, não se mostrando, contudo significativa ( $P>0,05$ ) (Tab. 1). O GDES foi superior aos demais grupos na TP na IATF, mantendo a superioridade aos 60 dias e ao final da EM. As TP dos grupos na

IATF resultaram em 40,6; 53,3 e 43,8 % respectivamente para GNDES, GDES e GDES6, com TP ao final da EM de 72,9; 81,7 e 70,2 %. Isto posto, observa-se um indicativo para o uso da DES como indutora da ovulação, em protocolos de IATF.

Numa análise comparativa entre os grupos que receberam a DES, não detectou-se diferença nas TP entre o GDES (53,3%) e o GDES6 (43,8%) à IATF, ( $P > 0,05$ ). A *a priori* o GDES6 poderia resultar em melhor TP que o GDES, pois a DES foi aplicada 6 horas antes, consistente com os relatos de Kozicki et al.(2013). A DES injetável foi utilizada por Kozicki et al.(2013), os quais obtiveram 100,0 % de TO em vacas mestiças, dentro de 22,3 horas após a aplicação, significativamente mais precoce que o grupo não recebedor da DES (ovulação após 33,6 horas) naquele estudo. Baseado em relatos, a administração da DES, seis horas antes da IATF poderia resultar em maior TP que a aplicação no dia da IATF. Contudo julgamos ser relevante, que Kozicki et al.(2013) executaram estudos em vacas mestiças (*Bos taurus/Bos indicus*) e múltiparas, diferentemente das utilizadas no presente estudo que foram somente *Bos indicus* além de primíparas, redundando por conseguinte em diferenças na TP entre os estudos. Na análise dos dados da variável dias abertos entre os grupos, observou-se moderado valor para o coeficiente de variação; porém não acreditamos que isso tenha influenciado os resultados.

Frares et al. (2013) trabalhando com protocolo para IATF em búfalas de leite no anestro sazonal, compararam dois indutores da ovulação, a buserelina (GnRH) e a DES, aplicada intramuscularmente 24 horas antes da IATF, visando otimizar a TP. Os autores verificaram respectivamente para DES e buserelina, melhores TO (37,0 e 16,6%) e melhores TP (41,0 e 20,0%), em favor da DES. Bartolome et al. (2004), utilizaram DES sob a forma de implante subcutâneo em vacas leiteiras no puerpério, e verificaram indução da ovulação, ao estimular o desenvolvimento de CL fisiológico. Ambrose et al. (1998), verificaram que o implante de DES proporcionou 40,0% de TO (próxima da obtida no presente estudo) e 60,0% das vacas leiteiras falharam em ovular, aumentando contudo as TP em vacas com baixo ECC. Um implante subcutâneo com 700 mcg de DES aumentou a concentração de LH e de P4,

prolongando porém a emergência do terceiro FD após sua retirada (Rajamahendran et al., 1998).

Aspecto ainda a ser considerado, refere-se à dose ideal a ser administrada em vacas de corte. No presente estudo foi injetado 1,0 mg de DES (IM) por vaca, 6 horas antes ou no dia da IATF. Bartolome et al. (2004), administraram doses de 750 e 1000 mg de DES (sob a forma de implante subcutâneo) em vacas, concluindo que houve redução das dimensões do maior folículo e até falhas nas ovulações dos folículos dominantes no dia 28 após o início do estudo. Estes autores afirmaram que a DES, induziu à ovulação, estimulou o desenvolvimento de um CL normal e prolongou o crescimento folicular no diestro subsequente. Face aos efeitos, tipo pulverizados (esparcos), é oportuno comentar que as doses utilizadas no implante subcutâneo foram elevadas, abrindo a possibilidade de influenciar as ações da DES no eixo hipotálamo-hipófise-gônadas. Consideramos oportuna a sugestão de que em futuros estudos, a DES possa ser utilizada, ajustando-se porém a dose nos protocolos de IATF (Bartolome et al., 2004).

Visando impactar os melhores efeitos sobre a ovulação e aumento consequente da TP, parece-nos portanto, que a DES deva ser administrada 24 horas da IATF em vacas primíparas *Bos indicus*, mesmo nos protocolos empregando-se o BE ou o CE. Recomenda-se outras pesquisas a respeito da DES injetável em protocolos de IATF, uma vez que ainda não há dados que significativamente concedam suporte aos efeitos da DES em bovinos de corte. O presente estudo reveste-se de caráter inovatório e inédito, uma vez que a DES foi administrada intramuscularmente, revelando-se uma substância indutora da ovulação nos protocolos de IATF.

Outro ponto relevante ainda a ser considerado, refere-se ao uso da DES em vacas primíparas, as quais destacam-se por apresentarem maiores dificuldades à ciclicidade fisiológica no puerpério (Mossman e Hanly, 1977). Muito embora o uso da DES no GDES e GDES6 não tenha resultado em significância sobre o GNDES, observou-se uma TP superior em 3,2 e 12,7 % respectivamente a do grupo controle.

Adicionalmente, foram executadas análises sobre a possível influência do ECC com anestro sobre as TP na IATF, da TP dos touros, assim como a TP total, não se verificando diferenças, resultados estes não-consistentes com os de Ferreira et al.(2013). As não-diferenças na TP no presente estudo poderiam ser atribuídas a que os animais encontravam-se com ECC de 2,7 a 4,0, diferentemente do ECC verificado nos animais estudados por Ferreira et al.(2013). Finalmente confrontou-se a condição de anestría nos animais versus TP na IATF, e TP dos touros, não se constatando diferenças. Concluiu-se que o uso da DES como indutora da ovulação no dia da IATF ou 6 horas antes, mostrou um indicativo de melhoria na TP (de 3,2 a 12,7 %) ( $P>0,05$ ), nos grupos recebedores da DES frente ao controle; as variáveis ECC, dias abertos e as condições de anestro ou ciclicidade verificadas neste estudo não influenciaram as TP à IATF, aos 60 dias e ao final da EM.

#### Referencias

Ambrose JD, Pires MFA, Moreira F, Diaz T, Binelli M, Thatcher WW. Influence of deslorelin (GnRH-Agonist) implant on plasma progesterone, first wave dominant follicle and pregnancy in dairy cattle. *Theriogenology*. 1998; 50: 1157-1170.

Barreiros TRR, Blaschi W, Santos GMG, Morotti F, Andrade ER, Baruselli PS, Seneda MM. Dynamics of follicular growth and progesterone concentrations in cyclic and anestrous suckling Nelore cows (*Bos indicus*) treated with progesterone, equine chorionic gonadotropin, or temporary calf removal. *Theriogenology*. 2014; 81(5):651-656.

Bartolome JA, Santos JEP, Pancarci SM, Melendez P, Arteché ACM, Hernandez O, Archbald LF, Trigg T, Thatcher WW. Induction of ovulation in nonlactating dairy cows and heifers using different doses of a deslorelin implant. *Theriogenology*. 2004; 61:407-419.

Baruselli PS, Reis EL, Marques MO, Nasser LF, Bo GA. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrous beef cattle in tropical climates *Anim. Reprod. Sci.* 2004 82–83: 479–486.

Butler SAA, Phillips NJ, Boe-Hansen G.B. Bo G.A. Burns B.M. K. Dawson K. McGowan M.R. Ovarian responses in *Bos indicus* heifers treated to synchronise ovulation with intravaginal progesterone releasing devices, estradiol benzoate, prostaglandin F2 $\alpha$  and equine chorionic gonadotrophin *Anim. Reprod. Sci.* 2011 129: 18-126.

Chanvallon A, Coyral-Castel S, Gatién J, Lamy JM, Ribaud D, Allain C, Clément P, Salvetti P. Comparison of three devices for the automated detection of estrus in dairy cows. *Theriogenology*. 2014; 82: 734–741.

Demeterco D, Henry DD, Mercadante VRG, Lamb GC, Gaievski FR, Weiss B, Turbay GN, Segui MS, Weiss RR, Melina, Betiol MAF, Kozicki LE. The effects of intramuscular or intravenous injections of gonadotropin releasing hormone at fixed-time artificial insemination on pregnancy rates of *Bos indicus* beef cows. *Braz Arch Biol Technol*. 2014; 57: 361-366.

Ferreira MCN, Miranda R, Figueiredo MA, Costa OM, Palhano HB. Impacto da condição corporal sobre a taxa de prenhez de vacas da raça nelore sob regime de pasto em programa de inseminação artificial em tempo fixo (iatf). *Semina: Ciências Agrárias*. 2013; 34 (4):1861-1868

Frares LF, Weiss RR; Kozicki LE, Santangelo RP, Abreu RA, Santos IW, Dell'aqua Junior JA, Breda JC. Estrus synchronization and Fixed Time Artificial Insemination (FTAI) in dairy buffaloes during seasonal anestrus. *Braz Arch Biol Tech*. 2013; 56: 575-580.

Gaievski FR, Lamb GC, Weiss RR, Bertol MAF, Segui MS, Abreu ACMR, Kozicki LE. Gonadotropin releasing hormone (GnRH) and equine chorionic gonadotropin (ECG) improve the pregnancy rate on protocol 1s for timed-artificial insemination in beef cattle. *Vet e Zootec*. 2015; 22(3): 471-480.

Ginther OJ, Wiltbank MC, Fricke PM, Gibbison JR, Kot K. Selection of the dominant follicle in cattle. *Biol Reprod*. 1996; 55: 1187-1194.

Johnson SK. Possibilities with today's reproductive technologies. *Theriogenology* 2005; 64: 639-656.

Kozicki LE, Lopes HB, Feroldi TM, Cordeiro CG, Foltran GB, Segui MS, Marcuz APW, Weiss RR, Gaievski FR, Abreu RA. Deslorelin as inductor of ovulation in *bos taurus* x *bos indicus* after previous exposure to intravaginal progesterone. *Acad J Agr Res*. 2013; 1: 036-038.

Lane EA, Austin EJ, Crowe M.A. Oestrous synchronization in cattle – Current options following the EU regulations restricting use of oestrogenic compounds in food-producing animals: A review. *Anim Reprod Sci*. 2008; 109: 1-16.

Lee MS, Rahman MS, Kwon WS, Chung HJ, Yang BS, Pang MG. Efficacy of four synchronization protocols on the estrus behavior and conception in native Korean cattle (Hanwoo). *Theriogenology*. 2013; 80:855–861.



Lowman BG, Scott N; Somerville S, Condition scoring beef cattle. Edingburgh: East of Scotland College of Agriculture (Bulletin 6) 1976 8.

Macmillan KL, Burke CR. Effects of estrus cycle control on reproductive efficiency Anim. Reprod. Sci. 1996; 42: 307–320.

Mossman DH, Hanly GJ. A theory of beef production. New Zeal Vet J. 1977; 25: 96-100.

Öztürk OA, Cirit Ü, Baran AK. Is Doublesynch protocol a new alternative for timed artificial insemination in anestrous dairy cows. Theriogenology. 2010; 73: 568–576.

Padula AM, Macmillan KL. Reproductive responses of early postpartum dairy cattle to continuous treatment with a GnRH agonist (deslorelin) for 28 days to delay the resumption of ovulation. Anim Reprod Sci. 2002; 70: 23–36.

Pursley JR, Mee MO, Wiltbank MC. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF2alpha and GnRH. Theriogenology, 1995; 44(7): 915-923.

Rajamahendran R, Ambrose JD, Schmitt EJP, Thatcher MJ, Thatcher WW. Effects of buserelin injection and deslorelin (GnRH-Agonist) implants on plasma progesterone, LH, accessory CL formation, Follicle and corpus luteum dynamics in Holstein cows. Theriogenology. 1998; 50:1141-1155.

Sá Filho MF, Ayres H, Ferreira RM, Marques MO, Reis EL, Silva ECP, Rodrigues CA, Madureira EH, Bo GA, Baruselli PS. Equine chorionic gonadotropin and gonadotropin-releasing hormone enhance fertility in a norgestomet-based, timed artificial insemination protocol in suckled Nelore (*Bos indicus*). Cows. Theriogenology. 2010; 73: 651–658.

Sá Filho OG, Vasconcelos JLM. Treatments to Optimize the Use of Artificial Insemination and Reproductive Efficiency in Beef Cattle under Tropical Environments. Vet Med International. 2011; : 1-10

Sá Filho OG, Meneghetti M, Peres R, Lamb GC, Vasconcelos JLM. 2009. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows II: strategies and factors affecting fertility. Theriogenology. 2009; 72(2): 179-189.

Souza ALB, Kozicki LE, Pereira JFS, Segui MS, Weiss RR, Bertol MAF. Eficiência da gonadotrofina coriônica equina (eCG) e do desmame temporário (DT) em protocolos para a inseminação artificial em tempo fixo (IATF) em vacas Nelore, previamente tratadas com progesterona (P4) e Benzoato de Estradiol (BE). Arch Vet Sci. 2015; 20: 22-29.

Wiltbank MC, Pursley JR. The cow as an induced ovulator: Timed AI after synchronization of ovulation. *Theriogenology*. 2014; 81:170-185.

## CAPITULO 3

### CONSIDERAÇÕES FINAIS

O uso de indutores da ovulação tem evidenciado uma forte aderência aos protocolos para a IATF em bovinos ou até mesmo em outras espécies animais. A IATF consolida-se progressivamente como uma biotécnica reprodutiva bastante eficiente perante os modernos tempos da pecuária comercial. A inovação dos protocolos para a IATF deve seguir os passos visando o aumento da eficiência reprodutiva. Consideramos a utilização dos indutores da ovulação acoplados à otimização do sêmen, da mão de obra e do menor período de serviço. As pesquisas de protocolos passam necessariamente pelos indutores da ovulação visando otimizar a eficiência reprodutiva. Conhecimentos da dinâmica folicular ovariana e dos indutores ovulatórios devem caminhar lado a lado e seguir juntos, pois um dos maiores desafios à IATF configura-se ainda nos conhecimentos em torno das horas em que a ovulação ocorre, tendo em mente o tempo de sobrevivência do sêmen, que normalmente é de elevada qualidade e importância, como por exemplo o sêmen sexado. Assim cremos que o uso da DES em futuras pesquisas venha a merecer mais atenção de pesquisadores, uma vez que possui potencial como indutora da ovulação.

## **ANEXO (S)**

Normas do período escolhido para a submissão dos artigos apresentados disponível em: <<http://www.reproduction-online.org/site/misc/For-Authors.xhtml#submission>> Acesso em: 03/12/15.