

Uso do protocolo Crestar® em tratamentos utilizando benzoato de estradiol, PGF₂α, PMSG e GnRH para controle do ciclo estral e ovulação em vacas de corte

Rafael José de Carvalho MOREIRA¹
 Alexandre Vaz PIRES¹
 Décio Zuliani MALUF¹
 Ed Hoffman MADUREIRA²
 Mario BINELLI²
 José Renato GONÇALVES³
 Laisse Garcia de LIMA³
 Ivanete SUSIN¹

Correspondência para:
 RAFAEL JOSÉ DE CARVALHO MOREIRA
 Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz
 Universidade de São Paulo
 Av. Pádua Dias, 11
 Caixa-Postal: 9
 13418-900 - Piracicaba - SP
 alvpires@esalq.usp.br

Recebido para publicação: 01/10/2004
 Aprovado para publicação: 01/06/2005

1 - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz da Universidade de São Paulo, Piracicaba - SP

2 - Departamento de Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo - SP

3 - Estação Agrozootécnica Hildegard Georgina Von Pritzelwitz da Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz, Londrina - PR

Resumo

O objetivo foi avaliar a eficiência do controle da ovulação utilizando os hormônios PMSG, GnRH, Benzoato de Estradiol e PGF₂α junto ao protocolo Crestar®, para IA em tempo fixo. Foram utilizadas 348 vacas, cruzadas Nelore (*Bos taurus indicus*) X Charolês (*Bos taurus taurus*), divididas em dois grupos: 179 vacas paridas com 90 a 120 dias pós-parto e 169 vacas solteiras. Estes animais foram submetidos a cinco tratamentos: todas as vacas receberam o protocolo Crestar® como agente sincronizador do crescimento folicular. (implante subcutâneo com 3mg de norgestomet e injeção 3mg de norgestomet + 5mg de valerato de estradiol - i.m.). Após a remoção do implante (10 dias), as vacas foram submetidas aos cinco tratamentos de controle da ovulação: T1 - (n=70): injeção de solução fisiológica 48h após a retirada do implante (D 12); T2 - (n=68): 0,75mg de benzoato de estradiol 24h após a retirada do implante (D 11); T3 - (n=70): aplicação de 150µg de PGF₂α, no dia da retirada (D 10) e 0,75mg de benzoato de estradiol 24h após a retirada do implante (D 11); T4 - (n=70): 500 UI de PMSG na retirada do implante (D 10) e T5 - (n=70): 500µg de GnRH 48h após a retirada do implante (D 12). Todos os animais foram inseminados 54-56h após a retirada do implante. As taxas de prenhez foram analisadas estatisticamente por regressão logística. Não houve diferença entre os tratamentos (p>0,05) onde: 35,7, 31,4, 22,0, 37,0 e 42,8% para T1, T2, T3, T4 e T5 respectivamente.

Introdução

Fatores que limitam a utilização da inseminação artificial (IA) em fêmeas bovinas de corte no Brasil incluem falhas na detecção deaios, mão de obra pouco qualificada e grande extensão das propriedades rurais. Uma das formas para se solucionar tais problemas é desenvolver e utilizar protocolos de sincronização do ciclo estral e ovulação que permitam realizar a IA com horário pré-determinado, ou seja, sem a necessidade da detecção do cio.

O produto comercial Crestar® pode

ser utilizado para sincronizar as ovulações. O mesmo pode ser associado a diferentes homônimos (PMSG, GnRH, Benzoato de Estradiol e PGF₂α) objetivando-se aumentar a precisão do momento da ovulação, podendo tornar mais eficiente a sincronização do estro, possibilitando a IA em tempo fixo.

O Crestar® consiste de um implante auricular contendo o progestágeno norgestomet e de uma solução injetável de valerato de estradiol. O norgestomet é um progestágeno ativo biologicamente¹. O progestágeno é utilizado para inibir o

Palavras-chave:

Ciclo estral animal.
 Bovinos de corte.
 Vacas.
 Reprodução aplicada animal.
 Ovulação.

desenvolvimento de um corpo lúteo (CL) em fêmeas que ovularam recentemente (próximo a data de colocação do implante) ou inibir a ovulação de fêmeas que estiverem no final do ciclo estral².

Caccia e Bo³ investigaram a utilização de estrógenos junto aos programas que usam progestágenos e verificaram que a administração de estradiol induzia o crescimento de uma nova onda folicular, possibilitando o emprego da IA em fêmeas sem a necessidade de acompanhamento dos sinais do estro⁴.

A associação do progestágeno com o valerato de estradiol resulta em taxas de concepção que variam de 33 a 68%, sendo influenciadas pelo dia do ciclo estral em que o tratamento é iniciado e pela condição corporal dos animais². Diversos hormônios podem ser empregados para melhorar as taxas de prenhez associadas à utilização do Crestar.

A combinação de progestágenos e uma injeção de prostaglandina antes ou na retirada do implante podem provocar a regressão de um CL presente.

O estrógeno pode agir como um agente sincronizador da ovulação, induzindo um pico de LH. Mcmillan e Burke⁵, Madureira et al.⁶ e Barbuio et al.⁷ observaram que em vacas zebuínas tratadas com 0,75 mg ou com 1,0 mg de benzoato de estradiol 24 h após a remoção do implante do progestágeno houve liberação de um pico de LH pré-ovulatório.

A aplicação de GnRH causa ovulação do folículo dominante presente no momento do tratamento, desde que este esteja na fase após a divergência⁸.

Tratamentos com PMSG ou FSH estimulam o crescimento e induzem a ovulação dos folículos⁹.

Cavaliere et al.¹⁰ aplicaram 400 U.I. PMSG na retirada dos implantes e observaram um incremento no grau de sincronização da ovulação, redução significativa no tempo de ovulação e a liberação de um pico de LH.

Neste sentido este trabalho pretende

avaliar, pela taxa de prenhez, a eficácia do controle farmacológico da ovulação associando os hormônios acima ao protocolo Crestar[®], objetivando-se a viabilização da IA em tempo fixo.

Materiais e Métodos

O experimento foi conduzido na Estação Experimental Agrozootécnica *Hildegard Georgina Von Pritzelwiltz*, pertencente à Fundação de Estudos Agrários “Luiz de Queiroz” (FEALQ), Londrina-PR.

Foram utilizadas, trezentas e quarenta e oito (348) vacas cruzadas Nelore (*Bos taurus indicus*) X Charolês (*Bos taurus taurus*) múltíparas, sendo 179 vacas entre 90 a 120 dias pós-parto e outras 169 vacas solteiras. As vacas foram manejadas em pastagens naturais de capim colônia (*panicum maximum*), recebendo sal mineralizado à vontade e sob as demais práticas de manejo já instaladas na fazenda.

As vacas com bezerro ao pé apresentaram escore de condição corporal entre 4 e 5 (escala de 1 a 9) e as vacas solteiras entre 6 e 7.

Tratamentos

Todos os animais receberam um implante auricular de Crestar[®] (3mg de norgestomet, Akzo Nobel Ltda – Divisão Intervet) mais uma aplicação (i.m) de 3mg de norgestomet + 5mg de valerato de estradiol, no dia da colocação do implante (D1). O implante foi removido após 9 dias (D10).

Tratamento 1 (controle): os animais (70 animais - 34 vacas solteiras e 36 vacas com bezerro ao pé) receberam uma dose (i.m.) de solução fisiológica (3ml), 48 h após a remoção do implante (D12).

Tratamento 2 (benzoato): os animais (70 animais - 36 vacas solteiras e 34 vacas com bezerro ao pé) receberam uma dose (i.m.), 0,75mg de benzoato de estradiol, 24h após a remoção do implante (D11).

Tratamento 3 (benzoato + PGF2 α): os animais (68 animais - 32 vacas solteiras e

36 vacas com bezerro ao pé) receberam uma dose (i.m.) de 150µg de D-cloprostenol - no dia da remoção do implante (D10) e 24h após a remoção do implante (D11) receberam uma dose (i.m.), 0,75mg de benzoato de estradiol

Tratamento 4 (PMSG): os animais (70 animais - 33 vacas solteiras e 37 vacas com bezerro ao pé) receberam uma dose (i.m.), 500 UI de PMSG no dia da remoção do implante (D10).

Tratamento 5 (GnRH): os animais (70 animais - 34 vacas solteiras e 36 vacas com bezerro ao pé) receberam uma dose (i.m.), 500µg de GnRH, 48 horas após a remoção do implante (D12).

Todos os animais foram inseminados artificialmente 54-56h após a retirada dos implantes com sêmen de touros provados da raça Red Angus (*Bos taurus taurus*).

Cinco dias após o último grupo ser inseminado, as vacas foram repassadas com touros da raça Nelore (*Bos taurus indicus*) por 60 dias (1 touro para 50 vacas). Dessa forma foi possível determinar-se se as vacas engravidaram na IA (nascimentos de animais mestiços de pelagem marrom) ou dos touros de repasse após a parição.

Os resultados foram analisados

através do programa computacional Statistical Analysis System¹¹. A taxa de nascimento por implicar em proporção (resposta binária) foi analisada por regressão logística (PROC LOGISTIC), segundo efeito de tratamento e condição (seca ou com bezerro), foi admitido o nível de 5% de significância para o teste realizado.

O modelo matemático utilizado foi $\eta = \alpha + \gamma$. Onde: α = intercepto e γ = condição.

Resultados e Discussão

Não houve efeito ($p > 0,05$) de tratamento sobre a taxa de prenhez. Porém houve efeito de condição, onde as vacas solteiras engravidaram mais que as vacas amamentando ($p < 0,05$). Na figura 1, observa-se a porcentagem de nascimentos pela IA em tempo fixo para os tratamentos em cada condição.

Os resultados são semelhantes também para a taxa de prenhez final do experimento (IA mais o repasse dos touros), ou seja, não houve efeito de tratamento ($p > 0,05$) na taxa de prenhez porém manteve-se o efeito de condição ($P < 0,05$) (Figura 2).

As taxas de prenhez do do grupo

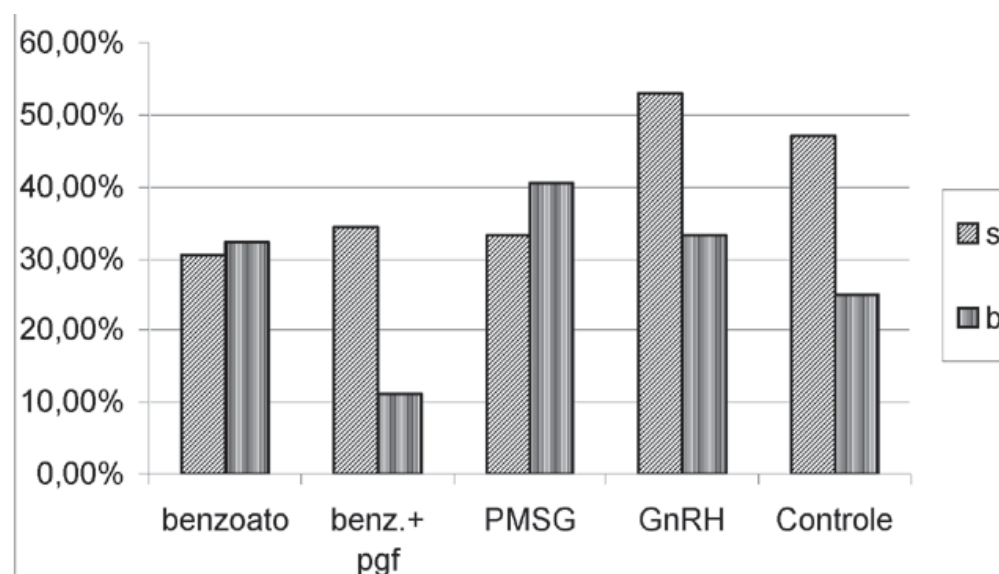


Figura 1- Porcentagem de nascimentos para vacas solteiras (s) e com bezerro (b) pela IA

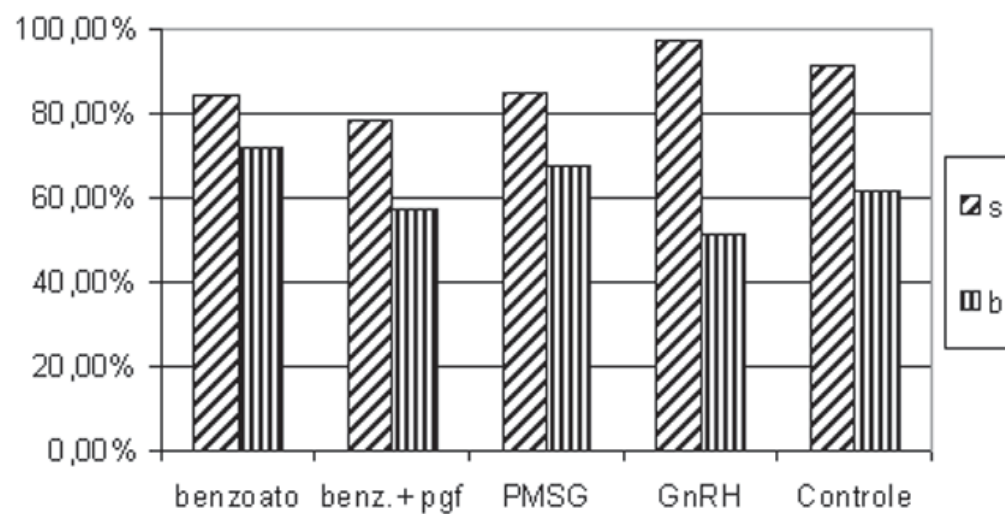


Figura 2 - Porcentagem de prenhez entre vacas solteiras (s) e com bezerro (b) no final do experimento (IA + Touro)

Tabela 1 - Efeito dos tratamentos sobre a porcentagem de nascimentos pela IA nas vacas utilizadas no experimento

	Tratamentos					TOTAL
	Benzoato	Benz. + PGF	PMSG	GnRH	Controle	
<i>Vacas com bezerro</i>						
Total de animais	34	36	37	36	36	179
Nº nascimentos. IA	11	4	15	12	9	51
% de nascimentos	32,3	11,0	40,5	33,3	25,0	28,4 ^x
<i>Vacas solteiras</i>						
Total de animais	36	32	33	34	34	169
Nº nascimentos. IA	11	11	11	18	16	67
% de nascimentos	30,5	34,3	33,3	53,0	47,0	39,6 ^y
<i>Total de vacas</i>						
Total de animais	70	68	70	70	70	348
Nº nascimentos. IA	22	15	26	30	25	118
% de nascimentos	31,4	22,0	37,0	42,8	35,7	33,9

Letras x e y, representam diferença estatística ($p < 0,05$).

controle (35,7%, entre vacas solteiras e vacas com bezerros; 47% só para as vacas solteiras e 25% para as vacas com bezerro ao pé) foram numericamente inferiores às reportadas por Geary et al.¹², que obteve 42% de prenhez usando Syncro-Mate B[®] em vacas com bezerro e também ao trabalho de Murta, et al.⁴ com 61% de prenhez que utilizaram Crestar[®] em vacas solteiras sem nenhuma aplicação de hormônio para sincronizar a ovulação.

Os tratamentos com benzoato de estradiol e benzoato de estradiol + PGF₂α, não proporcionaram taxas de nascimentos diferentes na análise estatística também, o que indica que a aplicação de PGF₂α na remoção do implante pode ser desnecessária quando se utiliza o protocolo de norgestomet junto ao valerato de estradiol.

A administração de benzoato de estradiol em situações onde os níveis de P₄ estão abaixo de 1,0 ng/ml, induz o aparecimento do pico ovulatório de LH 16 a 24 horas após¹⁵. No presente experimento obteve-se resultados numericamente superiores aos de Vilela et al.¹⁴ (32,3% X 18,7%) com o benzoato com sincronizador da ovulação e sem a remoção de bezerros.

A taxa de prenhez de vacas que receberam aplicação do PMSG, não foi diferente (p>0,05) da dos demais tratamentos. Soto Beloso et al.¹⁵ encontraram uma taxa de prenhez em vacas cruzadas zebu com bezerro ao pé, com um protocolo utilizando o PMSG semelhante ao deste experimento, de 61% no primeiro serviço com a observação de estro.

O grupo das vacas solteiras que receberam GnRH como sincronizador da ovulação mostrou numericamente a maior porcentagem de nascimentos entre todos os tratamentos (≅53%).

Yavas e Walton¹⁶, relatam que tanto para vacas ciclando quanto para as acíclicas o GnRH

administrado 48 horas após a retirada do implante de norgestomet, aumenta o mecanismo indutor de LH e liberação de 17β estradiol proporcionando maiores taxas de prenhez e menor incidência de ciclos curtos; no entanto, tal situação não pode ser constatada neste trabalho. Possivelmente, o número de animais foi insuficiente para essa observação.

Houve diferença estatística (p<0,05) na taxa de nascimentos entre os grupos de vacas solteiras e vacas com bezerro ao pé (Tabela 1), provavelmente explicada por uma diferença de ciclicidade, ou seja, o grupo de vacas solteiras por estarem numa condição corporal melhor e não estarem amamentando poderiam ter uma condição ovariana mais adequada em relação às vacas que tinham bezerro ao pé. O efeito de opióides hipotalâmicos ativados pelo mecanismo de percepção inguinal na hora da mamada, podem inibir a onda de LH (alteração da pulsatilidade)^{16,17}.

Uma única aplicação de GnRH pode induzir e alterar o padrão secretório de LH em vacas, no entanto o aparecimento de estro e ovulação só ocorrerá se o folículo estiver após a divergência (mais de 9 mm)⁹. Neste experimento, talvez algum outro fator como uma falha na sincronização do crescimento folicular em alguns animais ou momento da aplicação podem não ter permitido expressar o mecanismo anteriormente citado, tendo sido obtidas então taxas de nascimentos significativamente inferiores em comparação ao resultado das vacas solteiras.

Conclusões

Modificações do protocolo Crestar para sincronização da ovulação incluindo o uso estratégico de PGF₂α, GnRH, PMSG ou BE não afetam a taxa de prenhez de vacas de corte. No entanto, a amamentação diminui a taxa de prenhez das vacas no presente experimento.

Sincronization of ovulation utilizing the crestar[®] protocol associated with estradiol benzoate, PGF₂α, PMSG and GnRH in beef cows

Abstract

The objective of this study was to evaluate the effects of ovulation

Key-words:
Estrous cycle.
Beef cows.
Cows.

using PMSG, GnRH, Estradiol Benzoate and PGF2 α in combination with Crestar[®] protocol and AI at fixed time. Three hundred forty eight multiparous cows, crossbreed Nelore (*Bos taurus indicus*) X Charolais (*Bos taurus taurus*) were divided in two groups: 179 suckling cows and 169 non-suckling cows. Those cows received a Crestar[®] protocol for follicular growth synchronization consisting of a subcutaneous implant with 3mg of norgestomet and 3mg of norgestomet plus 5mg of estradiol valerate injection (day of implant insert). The implant was removed after nine days. Cows were submitted to five treatments for pharmacological control of ovulation and were artificially inseminated at fixed time: T1 - (n=70): injection of physiological solution 48h after implant removal (D 12); T2 - (n=68): 0.75mg of estradiol benzoate 24h after implant removal (D 11); T3 - (n=70): 150 μ g of PGF2 α at same day of implant removal (D 9) and 0.75mg of estradiol benzoate 24h after implant removal (D 11); T4 - (n=70): the cows received 500 UI of PMSG at implant removal (D 10) and T5 - (n=70): cows received 500 μ g of GnRH 48h after implant removal (D 12). Those cows were artificially inseminated 54-56h after implant removal. Pregnancy rate was analyzed by logistical regression program. There were no differences among treatments (P>0.05) 35.7, 31.4, 22.0, 37.0 and 42.8% for T1, T2, T3, T4 and T5, respectively.

Applied
reproduction
animal.
Ovulation.

Referências

- 1 KESLER, D. J.; FAVERO, R. J.; TROXEL, T. R. A. Comparison of hidron and silicone implants in the bovine norgestomet and estradiol valerate estrus synchronization procedure. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 21, p. 475-485, 1995.
- 2 ODDE, K. G. A review of synchronization of estrus in post partum cattle. **Journal of Animal Science**, v. 68, p. 817-830, 1990.
- 3 CACCIA, M.; BO, G. A. Follicular wave emergence following treatment CIDR-B implanted beef cows with estradiol benzoate and progesterone. **Theriogenology**, v.49, p. 341, 1998.
- 4 MURTA, J. E. J. et al. Taxas de prenhez em vacas nelore com utilização do protocolo Crestar[®] para a sincronização do cio. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 25, p. 30-34, 2001.
- 5 MACMILLAN, K. L.; BURKE, C. R. Effect of oestrus cycle control on reproductive efficiency. **Animal Reproduction Science**, v. 42, p. 307-320, 1996.
- 6 MADUREIRA, E. H. et al. Sincronização do estro em fêmeas bovinas usando acetato de melengestrol (MGA) associado com PGF2 α e 17 β estradiol. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 21, p. 94-97, 1997.
- 7 BARBUIO, J. P. et al. Sincronização da ovulação com benzoato de estradiol após o tratamento com MGA/PG/ 17 β estradiol + progesterona em novilhas nelore. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 23, p. 312-314, 1999.
- 8 PURSLEY, J. R.; KOSOROK, M. R.; WILTBANK, M. C. Reproductive management of lactating dairy cows using synchronization of ovulation. **Journal of Dairy Science**, v. 80, p. 301-306, 1997.
- 9 YAVAS, Y.; WALTON, J. S. Induction of ovulation in postpartum suckled beef cows: a review. **Theriogenology**, v. 54, p. 01-23, 2000.
- 10 CAVALIERI, J. et al. Synchronization of estrus and ovulation and associated endocrines changes in *Bos taurus indicus* cows. **Theriogenology**, v. 47, p. 801-814, 1997.
- 11 SAS INSTITUTE. **SAS user's guide: statistics**. Cary, 1999. p. 202-238.
- 12 GEARY, T. W. et al. Pregnancy rates of postpartum beef cows that were synchronized using Syncro-Mate B[®] or Ovsynch protocol. **Journal of Animal Science**, v. 76, p. 1523-1527, 1998.
- 13 LANE, E. A. et al. The effect of estradiol benzoate on synchrony of estrus and fertility in cattle after removal of a progesterone releasing intravaginal device. **Theriogenology**, v. 55, p. 1807-1818, 2001.
- 14 VILELA, E. R. et al. Efeito da remoção dos bezerras na taxa de prenhez á IA com tempo fixo e á monta natural nos primeiros 30 dias da estação de monta das

vacas Nelore. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 25, p. 288-289, 2001.

15 SOTO BELLOSO, E. et al. Improvement of reproductive performance in cross breed zebu anestrous primiparous cows by treatment with norgestomet implants or 96h calf removal. **Theriogenology**, v. 57, p. 1503-1510, 2002.

16 YAVAS, Y.; WALTON, J. S. Postpartum acyclicity in suckled beef cows: A review. **Theriogenology**, v. 54, p. 25-55, 2000.

17 DRIANCOURT, M. A. Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals. Implications for manipulation of reproduction. **Theriogenology**, v. 55, p. 1211-1239, 2001.

18 RAJAMAHENDRAM, R.; TAYLOR, C. Follicular dynamics and temporal relationships among body temperature, oestrus, the surge of luteinizing hormone and ovulation in holstein heifers treated with norgestome. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 92, p. 461-467, 1991.

19 THOMPSON, J. S. et al. Follicular, hormonal and pregnancy responses of early postpartum suckled beef cows to GnRH, norgestomet and prostaglandin F₂α. **Journal of Animal Science**, v. 77, p.1823-1822, 1999.

20 WILTBANK, M. C.; GÜMEN, A.; SARTORI, R. Physiological classification in anovulatory condition in cattle. **Theriogenology**, v. 57, p. 21-53, 2002.