

INFLUÊNCIA DO DIÂMETRO DO FOLÍCULO PRÉ OVULATÓRIO SOBRE A TAXA DE PREENHIZ DE VACAS SUBMETIDAS À IATF

INFLUENCE OF THE PRE-OVULATORY FOLLICLE DIAMETER ON THE PREGNANCY RATE OF COWS SUBMITTED TO FTAI

Clessiane Valeria Souza **Lima**^{1*}, Thábata de Oliveira **Alves**¹, Giovana Milena **Ferrarini**¹, Felipe Balduino **Gimenes**², Eniuce Menezes de **Souza**³, Gustavo Romero **Gonçalves**¹.

¹UNINGÁ - Centro Universitário Ingá, Maringá, PR, Brasil.

²Universidade do Norte do Paraná, Maringá, PR, Brasil.

³Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR, Brasil.

*cleissianevasoli@gmail.com

Recebido em: 06/07/2020; Aceito em: 04/12/2020.

RESUMO

A inseminação artificial em tempo fixo (IATF) é uma biotecnologia reprodutiva utilizada para melhorar o desempenho dos rebanhos, através do uso de protocolos hormonais. A técnica permite induzir a ciclicidade de vacas além de eliminar a necessidade de observação de cio, um grande diferencial para o crescimento da IATF. Um ponto importante na taxa de concepção das vacas é o tamanho do folículo ovulatório. O objetivo desse trabalho foi confirmar a existência da correlação do diâmetro folicular e a taxa de gestação em vacas. Foram utilizadas 30 vacas de diferentes raças, Nelore, Purunã e cruzadas, nas quais foi realizada a medição do diâmetro folicular por ultrassonografia transretal antes da IATF. A partir disso, os animais foram divididos em dois grupos (G1= <10 mm e G2= <10 mm). Trinta dias após a IATF foi realizado o diagnóstico de gestação através de palpação retal associado a ultrassonografia transretal. A taxa de concepção foi de 53,33% (16/30), da qual 13,33% para o G1 e 40% para o G2, além de observar que não houve influência do diâmetro folicular ($p=0,056$). Este estudo sugere a necessidade de mais pesquisas a respeito do assunto.

Palavras-chave: Biotecnologia da reprodução. Inseminação artificial em tempo fixo. Reprodução em bovinos.

ABSTRACT

Fixed-time artificial insemination (FTAI) is a reproductive biotechnology used to improve the performance of herds through hormonal protocols. The use of this technique allows to induce cow cyclicity, besides eliminating the estrus observation, which has been a great differential for the growth of FTAI. An important point in the conception rate of cows is the size of the pre ovulatory follicle. The objective of this study is to confirm the existence of correlation between follicular diameter and gestation rate of cows. Thirty cows of three different breeds were used, among them Nelore, Purunã and crossbreed, and the measurement of the follicular diameter was performed by transrectal



ultrasonography before FTAI. The animals were divided into two groups (G1= <10 mm e G2= <10 mm). Thirty days after FTAI, the diagnosis of gestation was performed by rectal palpation and transrectal ultrasonography. The conception rate was 53.33% (16/30), among this 13,33% for the G1 and 40% for G2, besides that there was no influence of the follicular diameter ($p= 0,056$). This study suggests further research about the subject.

Keywords: Artificial insemination. Biotechnology. Reproduction in cattle.

INTRODUÇÃO

O Brasil é responsável pelo maior rebanho comercial bovino do mundo, com 221,8 milhões de cabeças de gado. No ano de 2017, dentro do produto interno bruto (PIB) total, 22% foi representado pelo agronegócio, sendo que, 31% desse valor foi representado pela pecuária. Isso mostra crescimento e inovação, não deixando dúvidas de que esse setor constitui um dos nossos principais pilares econômicos (ABIEC, 2018).

A genética bovina é um fator de destaque no crescimento da pecuária, que melhorou e continua evoluindo exponencialmente no decorrer dos anos (GOMES; FEIJÓ; CHIARI, 2017). A introdução de biotécnicas, como a inseminação artificial em tempo fixo (IATF), proporciona um melhoramento genético e zootécnico do rebanho, além da otimização dos reprodutores bovinos (BARUSELLI *et al.*, 2004).

A IATF é uma biotecnologia reprodutiva que exerce forte impacto econômico na bovinocultura. Essa técnica consiste em induzir a sincronização da ovulação nas fêmeas, através de protocolos hormonais, dispensando a necessidade de observação do cio (LARSON *et al.*, 2006).

Estudos apontam uma melhora na eficiência reprodutiva do rebanho a partir do uso da IATF em vacas em anestro, adiantando a ovulação pós-parto. Tal processo está ligado ao fato de que naturalmente, as fêmeas bovinas tendem a apresentar uma falha na liberação hormonal durante este período (LARSON *et al.*, 2006; BARUSELLI *et al.*, 2008; SÁ FILHO *et al.*, 2009).

As vantagens da IATF são inúmeras, destacando-se a eliminação da necessidade de detecção do cio, visto a impossibilidade de observação do comportamento dos animais em tempo integral; a possibilidade de realizar a inseminação artificial com dia e hora marcados; redução nos intervalos entre partos; indução ciclicidade de vacas em anestro; o nascimento de um bezerro por ano; padronização de lotes; facilitação de mão de obra; otimização de touros através do uso do sêmen congelado e melhoramento genético. Isto se deve aos protocolos hormonais utilizados e a resposta satisfatória pela maioria dos animais (MESQUITA, 2009).

A eficiência da IATF pode sofrer influência de alguns fatores como sanidade, manejo, estresse térmico, escolha de fármacos, tipo de protocolo utilizado e a administração dos fármacos (RODRIGUES *et al.*, 2008).

Além disso, alguns estudos demonstram que a taxa de concepção das vacas submetidas a protocolos de IATF e a sua efetividade reprodutiva, pode estar relacionada com o diâmetro do folículo pré-ovulatório (SÁ FILHO *et al.*, 2009; SÁ FILHO *et al.*, 2010). Desta maneira, folículos pré-ovulatórios de maior

tamanho irão permitir uma concentração superior de hormônios que irão contribuir para alterações no trato reprodutivo da fêmea, favorecendo a concepção e o transporte espermático (BARUSELLI *et al.*, 2012).

Ademais Lonergan, Ohara e Forde (2013), demonstraram que o folículo de maior tamanho está relacionado com o tamanho do corpo lúteo que se forma, havendo uma maior produção de progesterona (P4), o que melhora o desenvolvimento embrionário e um aumento da fertilidade.

Esse estudo teve como objetivo confirmar ou não dados presentes na literatura que relacionam o diâmetro do folículo pré-ovulatório com a taxa de prenhez de vacas submetidas ao protocolo de IATF.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais

O experimento foi realizado na propriedade Estância Belvedere, localizada no município de Astorga, região noroeste do Paraná (Latitude 23°13'57''; Longitude 51°39'56''), durante a época de estação de monta, entre os meses de setembro a outubro de 2017.

Para tal, foi utilizado um lote com 30 fêmeas das raças Nelore, Purunã e cruzadas provenientes da mesma propriedade.

Todos os animais foram primeiramente avaliados por exame físico, clínico e ultrassonografias do trato reprodutivo.

Informações como a identificação do animal, idade, raça, escore de condição corporal (ECC), quantidade de parição, abortamento, tipo de pastagens, manejo e nutrição, sanidade e avaliação dos ovários, foram examinados e somente as vacas que não apresentavam anormalidades sistêmicas e no trato reprodutivo foram selecionadas para o protocolo. As vacas foram manejadas em piquetes com pastagem predominante de *Brachiaria brizantha* (cv. Xaraes), com suplementação mineral e água *ad libitum*.

O trabalho foi realizado após aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Centro Universitário Ingá, Maringá/PR, sob o protocolo de número PM28/2017.

IATF

O protocolo de sincronização utilizado foi realizado em 3 manejos. No D0 denominado como sendo o primeiro dia do protocolo, às 9:00h, foi colocado o dispositivo intravaginal de progesterona P4 (Sincrogest®) e administrado 2 ml de benzoato de estradiol (Sincrodiol®) por via intramuscular (IM). Oito dias após, considerado o D8, às 9:00h, foi retirado o dispositivo de P4 e administrado 2 ml de cloprostenol sódico (Sincrocio®), 1ml de cipionato de estradiol (SincroCP®) e 1,5 ml de gonadotrofina coriônica equina (Sincroecg®), todos pela via IM. No D10, sendo o último dia de protocolo de IATF, às 9:00h, antes da inseminação artificial todos os animais foram examinados por ultrassonografia transretal para a mensuração do diâmetro folicular (DF). Após isto, foram administrados 2,5 ml de acetato de buserelina (Sincroforte®) em sete vacas que não apresentaram cio.

Para a inseminação artificial, foi utilizado sêmen criopreservado de dois touros da raça Aberdeen Angus, descongelados a 37°C por 30 segundos com uso de um descongelador eletrônico. Após descongelamento e montagem do aplicador procedeu-se a inseminação artificial. A biotécnica foi realizada pelo mesmo profissional a fim de evitar o efeito do inseminador.

Avaliação do diâmetro do folículo pré-ovulatório

A mensuração do folículo pré-ovulatório foi realizada a partir de pausas nas imagens e medição do diâmetro folicular, de acordo com a distância entre os bordos lateral e dorsoventral do mesmo (OLIVEIRA *et al.*, 2016). Foi utilizado um transdutor linear com frequência de 6,5 MHz (SonoScape® A5 Vet). As anotações foram inseridas em planilhas para controle.

Diagnóstico gestacional

Trinta dias após a inseminação artificial, foi realizada uma nova visita à propriedade para o diagnóstico de gestação. Exames de palpação e ultrassonografia transretal foram realizados em todas as vacas.

À palpação transretal pode-se perceber um aumento do volume no corno gestante e presença de corpo lúteo em um dos ovários; já na ultrassonografia foi observada a vesícula embrionária caracterizada por uma área não ecogênica e esférica no lúmen uterino, geralmente ipsilateral ao corpo lúteo, próximo à junção útero-tubária, e um embrião viável, caracterizado como uma estrutura de ecogenicidade média, no interior da vesícula embrionária.

A presença do corpo lúteo no ovário, concluiu o diagnóstico de prenhez de acordo com o trabalho de Gonçalves, Figueiredo e Freitas (2008).

Análise estatística

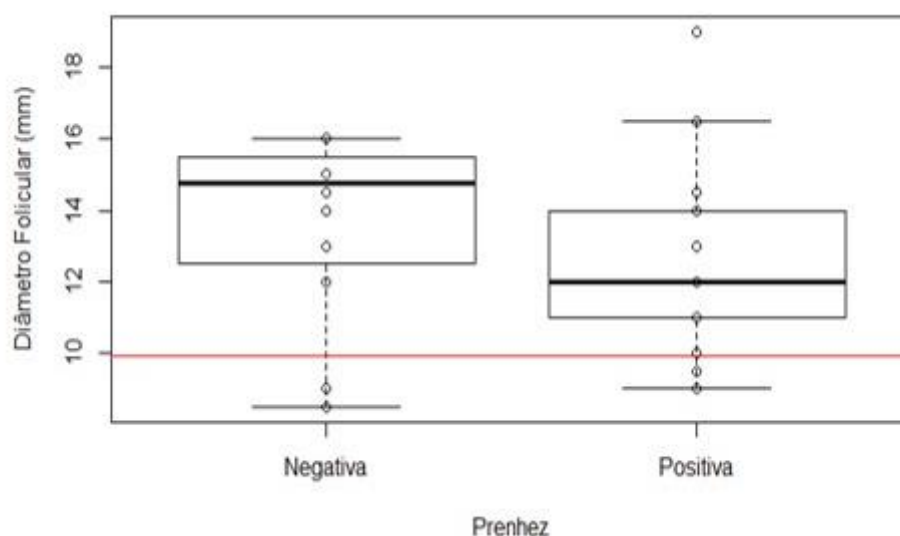
Para verificação da existência de associação entre o diâmetro folicular e a taxa de gestação das vacas foram realizadas duas análises. Considerando que a variável de interesse é dicotômica, gestante ou não, segue distribuição binomial com parâmetros $\pi = 30$ vacas e probabilidade de sucesso (observar a prenhez) igual a π . A covariável diâmetro folicular é quantitativa, e para tal construiu-se primeiramente um modelo de regressão logística. Assim foi possível relacionar a taxa de concepção em função do diâmetro folicular. Na segunda análise realizada, o diâmetro folicular foi classificado em dois grupos, pertencendo ao G1 os animais que apresentaram folículos com diâmetro de até 10 mm e ao G2 aqueles com diâmetro folicular maior que 10 mm. Assim, foi construída uma tabela 2x2 e aplicado o teste exato de Fisher, o qual é adequado quando as frequências esperadas são pequenas (FISHER, 1992; UPTON, 1992). O nível de significância para rejeitar H0 (hipótese nula) foi de 5%, ou seja, um P valor $\leq 0,05$ é indicativo de associação entre a taxa de gestação e o diâmetro folicular. Todas as análises foram realizadas em linguagem R.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com a análise realizada, não foi observada diferença estatística entre os grupos avaliados (Figura 1).

A figura 1 mostra que a distribuição do diâmetro folicular para a prenhez negativa e positiva são bastante sobrepostas. Além disto, apenas 26,66% (8/30) das vacas apresentaram diâmetro folicular de até 10 mm, dentre as quais, metade se tornaram gestantes.

Figura 1 - Box-plot do diâmetro folicular pré-ovulatório em relação a prenhez negativa e positiva



Fonte: os autores.

Na tabela 1 é possível observar algumas estatísticas descritivas considerando as vacas com prenhez negativa e positiva, além da amplitude do diâmetro dos folículos pré-ovulatórios que foi maior para prenhez constatada do que para prenhez negativa. A taxa de concepção na amostra foi de 53,33% (16/30), através do cálculo dividindo o total de vacas gestantes (16) pelo total de vacas inseminadas (30).

Tabela 1 - Estatísticas descritivas do diâmetro folicular em relação à prenhez

Prenhez	Diâmetro Folicular (mm)				
	Mínimo	Máximo	Mediana	Média	Desvio Padrão
Negativa	8,50	16,00	14,75	13,67	2,60
Positiva	9,00	19,00	12,00	14,00	2,68

Fonte: os autores.

Foi possível observar a partir da análise descritiva realizada que, a taxa de prenhez no grupo G1 (<10 mm) foi menor em comparação ao grupo G2 (tabela 2).

Tabela 2 - Comparação entre a taxa de prenhez dos grupos de animais com diâmetro do folículo pré-ovulatório menos 10 mm e maior de 10 mm

Grupos	Não gestantes	Gestantes	Taxa de prenhez
G1 (<10 mm)	4	4	13,33%
G2 (>10 mm)	10	12	40%

Fonte: os autores.

Considerando os animais avaliados, tanto pelo modelo de regressão logístico, quanto pelo teste exato de Fisher não houve diferença estatística significativa entre o diâmetro folicular pré-ovulatório e taxa de prenhez (valor $p=0,056$). Porém na análise descritiva realizada foi observada uma prevalência de 40 % em animais do grupo G2.

Outro fato que pode ser evidenciado a partir deste trabalho, foi o de que todas as vacas que receberam a aplicação de 2,5 ml de GnRH apresentaram prenhez positiva.

De acordo com os resultados encontrados nesse estudo foi possível observar que não houve influência da taxa de prenhez em relação ao diâmetro do folículo pré-ovulatório, contradizendo os achados de Cavalieri *et al.* (2016) e Ribeiro Filho *et al.* (2013). O primeiro estudo demonstrou que fêmeas com folículos pré-ovulatórios de diâmetros maiores que 10 mm apresentaram um aumento na taxa de gestação; enquanto que no segundo estudo os autores mostraram uma média do diâmetro folicular pré-ovulatório de 11,27 mm para as fêmeas não gestantes e 13,33 mm nas gestantes ($p= 0,0001$).

Em ambos os estudos o número de animais foi maior ($n=120$ e $n=348$, respectivamente), além de fazer comparação apenas entre animais da raça nelore e regiões geográficas distintas. E também, os grupos referentes ao diâmetro do folículo pré-ovulatório foram diferentes.

Os resultados desse estudo evidenciaram que o uso de GnRH em 23,33% das fêmeas que não demonstraram cio (7/30) no dia da IATF (D10), favoreceu a prenhez. Esses dados corroboram com os achados por Moreira *et al.* (2007) e Sá Filho *et al.* (2010) que constataram um aumento da taxa de prenhez a partir do uso de GnRH no dia da IATF.

CONCLUSÃO

A partir do presente estudo foi possível concluir que o diâmetro do folículo pré-ovulatório não exerce influência sobre a taxa de concepção e que o uso do GnRH pode ser benéfico em animais que não apresentam cio no dia da inseminação. Apesar disso, tais achados apontam a necessidade de mais estudos em relação a IATF, uma vez que em se tratando de biotecnologias reprodutivas os dados ainda são controversos, visto a grande variedade de protocolos hormonais, categorias animais e raças.

REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS EXPORTADORAS DE CARNE. **Perfil da pecuária no Brasil - Relatório Anual 2018**. 2018. Disponível em: <<http://abiec.com.br/Sumario.aspx>>. Acesso em 29 de julho de 2018.

BARUSELLI, P. S. *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.

BARUSELLI, P. S. *et al.* Importância do emprego da eCG em protocolos de sincronização para IA, TE e SOV em tempo fixo. **Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada**, v. 3, p. 146-167, 2008.

BARUSELLI, P. S. *et al.* History, evolution and perspectives of timed artificial insemination programs in Brazil. **Animal Reproduction**, v. 9, n. 3, p. 139-152, 2012.

CAVALIERI, F. L. B. *et al.* Relação entre o diâmetro do folículo no momento da inseminação artificial em tempo fixo e a taxa de gestação em vacas nelore. **Archives of Veterinary Science**, v. 21, n. 1, p. 25-31, 2016.

GOMES, R. C.; FEIJÓ, G. L. D.; CHIARI, L. Evolução e Qualidade da Pecuária Brasileira. **Nota técnica Embrapa Gado de Corte**. Campo Grande, 4p. 2017.

FISHER, R. A. Statistical methods for research workers. In: **Breakthroughs in statistics**. New York: Springer, 1992. p. 66-70.

GONÇALVES, P. B. D.; FIGUEIREDO, J. R.; FREITAS, V. J. F. **Biotécnicas aplicadas à Reprodução Animal**. 2. ed. São Paulo: Editora Roca, 2008. 408p.

LARSON, J. E. *et al.* Synchronization of estrus in suckled beef cows for detected estrus and artificial insemination and timed artificial insemination using gonadotropin-releasing hormone, prostaglandin F₂ α , and progesterone. **Journal of Animal Science**, v. 84, n. 2, p. 332-342, 2006.

LONERGAN, P.; OHARA, 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.

MESQUITA, S. B. **A importância da IATF para a Pecuária Brasileira**. Eficiência Reprodutiva, São Paulo, n. 7, ano. 2, p. 4-8. 2009.

MOREIRA, R. *et al.* Uso do protocolo Crestar® em tratamentos utilizando benzoato de estradiol, PGF₂ \pm , PMSG e GnRH para controle do ciclo estral e ovulação em vacas de corte. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 44, n. 1, p. 56-62. 2007.

OLIVEIRA, D. A. M. *et al.* Correlação entre o diâmetro do folículo pré-ovulatório e a eficiência reprodutiva em vacas *Bos taurus indicus* submetidas à inseminação artificial em tempo fixo. **Archives of Veterinary Science**, v. 21, n. 3, p. 61-67, 2016.

RIBEIRO FILHO, A. D. *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, p. 501-507, 2013.

RODRIGUES, C. A. *et al.* Fatores que influenciam o sucesso de programas de IATF em gado de leite. **3º Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada**, p. 133-145, 2008.

SÁ FILHO, O. G. *et al.* Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows II: Strategies and factors affecting fertility. **Theriogenology**, v. 72, n. 2, p. 210-218, 2009.

SÁ FILHO, M. F. D. *et al.* Ovarian follicle diameter at timed insemination and estrous response influence likelihood of ovulation and pregnancy after estrous synchronization with progesterone or progestin-based protocols in suckled *Bos indicus* cows. **Animal Reproduction Science**, v. 120, n. 1-4, p. 23-30, 2010.

UPTON, G. J. G. Fisher's Exact Test. **Journal of the Royal Statistical Society, Series A**. v. 192, n. 3, p. 395-402, 1992.