



Avaliação da IATF em novilhas Girolando utilizando-se diferentes protocolos com sêmen sexado: comunicação breve

Evaluation of Timed Artificial Insemination (TAI) in Girolando heifers using different protocols with sexed semen: short communication

F.S.A. Pinheiro Neto, A.M. Batista, M.M.P. Guerra, G.F. Carneiro

Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Unidade Acadêmica de Garanhuns, Laboratório de Andrologia (Androlab), Recife, PE, Brasil.

¹Correspondência: pinheironeto.f.s.a@gmail.com

Resumo

O objetivo deste trabalho foi comparar o resultado de diferentes protocolos de inseminação artificial em tempo fixo (IATF), utilizando-se sêmen sexado, sobre a eficiência reprodutiva em novilhas Girolando. Foram utilizadas 62 novilhas clinicamente híginas e com escore corporal entre 2,5 e 3,5, divididas aleatoriamente em três grupos: controle (n = 21), FSH/LH (n = 21) e eCG (n = 20). Todos os animais receberam o mesmo tratamento hormonal para sincronização do estro, consistindo na introdução de dispositivo intravaginal com 750mg de progesterona (P4) no dia zero às 17-h, e aplicação de 2-mg de benzoato de estradiol (BE). No dia oito às 17-h, foram retirados os implantes e aplicados ml de prostaglandina (0,500-mg cloprostenol). No dia nove, todos os animais receberam 1-mg de benzoato de estradiol (BE) às 17-h. As novilhas foram inseminadas no dia 11, às cinco horas, isto é 60-h após a retirada do implante. No dia oito, as novilhas foram distribuídas aleatoriamente em três grupos: grupo controle sem FSH/LH e eCG; grupo FSH/LH 25-UI de FSH e LH aplicados na retirada do implante; grupo eCG 300-UI de eCG aplicados na retirada do implante. As novilhas foram examinadas por ultrassonografia 35 dias após a IA para diagnóstico de gestação e aos 45 dias para avaliação de perda embrionária. O percentual de prenhez para os grupos controle, FSH/LH e eCG foram respectivamente 19, 28 e 35%. Os dados foram avaliados pelo teste do qui-quadrado, com nível de significância de 5%. Não houve diferença significativa entre os grupos. Ao se avaliar a taxa de prenhez entre o grupo controle e o grupo eCG em novilhas que não estavam ciclando, houve uma diferença significativa. Conclui-se que, em animais cíclicos, a eCG e o FSH/LH não interferiram nas taxas de prenhez. Entretanto, quando comparados com os animais acíclicos ou que tinham folículos menores que 8-mm, a eCG teve um efeito favorável, melhorando substancialmente os resultados.

Palavras-chave: bovino, eCG, FSH, inseminação artificial.

Abstract

The aim of this study was to compare results of different protocols of timed artificial insemination (TAI) using sexed semen on reproductive efficiency in Girolando cattle. Sixty two heifers were used, being clinically healthy with a body score condition between 2,5 and 3,5, divided randomly into three groups: control (n = 21), FSH/LH (n = 21) and eCG (n = 20). All animals received the same hormonal treatment to synchronize estrus, consisting in inserting an intravaginal device with 750 mg of progesterone (P4) plus 2 mg of estradiol benzoate (EB) on day 0 (5:00 PM). On day 8 (5:00 PM), the device was removed, and 2 ml of prostaglandin (0,5 mg of cloprostenol) were administered. On day 9 all animals received 1 mg of estradiol benzoate (EB; 5:00 PM), and were inseminated on day 11 at 5:00 AM, 60 h after device removal. On day 8, heifers were randomly assigned into three groups. Control group without FSH/LH and eCG; group FSH/LH - 25 IU FSH and LH administered after device removal, group eCG - 300 IU eCG administered after device removal. Heifers were examined by ultrasonography 35 days after AI for pregnancy diagnosis and 45 days for evaluation of embryonic death. Pregnancy rates for control, FSH/LH, and eCG groups were, respectively, 19, 28 and 35%. Data were analyzed by chi-square, with 5% significance level. No significant difference was seen between-groups. When control and eCG groups were, compared in heifers not cycling, a difference in pregnancy rate was observed. It is concluded that in cycling animals, eCG and FSH/LH does not interfere with pregnancy rates, however in those heifers that were not cycling or had follicles smaller than 8 mm, eCG had a favorable effect thereby increasing substantially the results.

Keywords: artificial insemination, bovine, eCG, FSH/LH.

Introdução

Estima-se que, no Brasil, apenas 10% das fêmeas em idade reprodutiva são inseminadas (Associação Brasileira de Inseminação Artificial Asbia, 2011). Em 2013, a inseminação artificial (IA) na atividade leiteira teve um crescimento de 9,6%, enquanto na atividade de corte o crescimento foi de apenas 3% (três por cento;



Asbia, 2013). Segundo a Asbia, o número de vacas inseminadas teve crescimento médio de 5,5% em 2013 e uma estimativa de 14,3 milhões de doses vendidas. Na atividade leiteira, o bezerro é descartado poucos dias após o nascimento, devido ao alto custo de criação, gerando um prejuízo ao produtor. Na bovinocultura de leite, o sexo do bezerro é um dos fatores determinantes para o desempenho reprodutivo e econômico da atividade. Em fazendas produtoras de leite, o macho tem pouco ou nenhum valor. Com a utilização de recursos como a ultrassonografia, foi possível a observação da dinâmica folicular, da atuação dos hormônios e do desenvolvimento de protocolos hormonais para inseminação artificial em tempo fixo (IATF), o que viabilizou a associação desta técnica com a utilização de sêmen sexado. A sexagem espermática permite a separação dos espermatozoides contendo o cromossomo Y daqueles que contêm o cromossomo X (Bodmer et al., 2005). A taxa de fertilidade obtida com o uso do sêmen sexado é menor que a do sêmen convencional, devido à exposição das células espermáticas a diversos fatores estressantes, tais como o corante Hoechst e o laser, à velocidade, à desaceleração brusca, ao tempo e a centrifugação para aumentar a concentração (Schenk et al., 1999). Além disso, a dose de sêmen sexado tem baixa concentração espermática por causa do baixo rendimento da técnica de separação espermática por meio da citometria de fluxo (Baruselli et al., 2007; Dejarnete et al., 2010).

A técnica de sexagem provoca uma diminuição do tempo para capacitação espermática (Lu e Seidel, 2004). As novilhas ovulam de 70 a 72h após retirada do dispositivo intravaginal (Souza et al., 2006, Baruselli et al., 2008). A inseminação próxima à ovulação compensaria esses obstáculos proporcionados pelo sêmen sexado, aumentando a taxa de concepção. Fundamentada nesses estudos, durante o experimento foi realizada a inseminação 60-h após a retirada do implante com sêmen sexado.

A utilização do eCG trouxe melhoras tanto nos índices de concepção, incrementando o crescimento folicular, quanto na formação do corpo lúteo (Baruselli et al., 2004, Souza et al., 2009).

Baruselli et al. (2008), quando compara animais com presença ou ausência de CL no início do tratamento ao utilizarem eCG, observaram que não houve efeito do medicamento sobre a taxa de prenhez dos animais que apresentavam CL. Já o eCG influenciou significativamente naqueles animais que apresentaram foliculos. O melhor momento para se realizar a IA com sêmen sexado seria após a ovulação ou próximo desta.

Os baixos índices de prenhez e o custo da dose do sêmen sexado desestimulam a utilização desta técnica. Objetivou-se obter neste experimento resultados que justifiquem a aplicação desta tecnologia no campo.

Material e Métodos

Local, animais e manejo

O experimento foi realizado na Fazenda Chaparral, localizada no município de Ielmo Marinho, Agreste do Rio Grande do Norte (latitude 05°49'26''S e longitude 35°33'10''O, com altitude de 400m). A precipitação e a temperatura média anual são da ordem de 890mm e 27,5°C, respectivamente.

Foram utilizadas 62 novilhas da raça Girolando, com idade entre 16 e 31 meses (média de 20 meses, peso médio de 360kg, escore de condição corporal (ECC) entre 2,5 e 3,5. As novilhas foram selecionadas após exame ultrassonográfico para avaliar a presença de corpo lúteo e de foliculos de tamanhos médio e grande. As novilhas foram criadas em sistema de confinamento, recebendo como volumoso a sobra dos pés de abacaxi e concentrado contendo milho, soja, bicarbonato de sódio, sal mineral e água *ad libitum*. Os animais foram vacinados contra IBR, BVD e leptospirose no início do experimento. Todos os procedimentos envolvendo animais foram conduzidos mediante aprovação pela Comissão de Bioética da Faculdade Pio Décimo, sob protocolo nº 28/2012.

Tratamentos e inseminação artificial

As novilhas foram distribuídas aleatoriamente em três grupos experimentais: grupo controle (n = 21), grupo FSH (n = 21), e grupo eCG (n = 20). A sincronização do estro foi realizada utilizando-se um dispositivo intravaginal contendo 750-mg de progesterona (Proclinar®, Hertape Calier) e uma injeção intramuscular de 2mg de benzoato de estradiol (Benzoato de Estradiol®, Hertape Calier), no dia zero, às 17-h.

No dia oito, às 17-h, foram retirados os dispositivos, administrados 150-µg de D-cloprostenol (Veteglan Luteolítico®, Hertape Calier), e foi colado um adesivo (EstroTECT®, Rockway, Inc) na região sacral para auxiliar na identificação dos estros.

As novilhas do grupo FSH foram tratadas com 25-UI de FSH (Pluset injetável®, Hertape Calier) i.m., no momento da retirada dos dispositivos. No grupo eCG foram administradas 300UI de eCG (Folligon®, MSD) i.m. O grupo controle não recebeu nem eCG nem FSH.

No dia nove, às 17-h, os três grupos receberam uma dose de 1mg de benzoato de estradiol (Benzoato de Estradiol®, Hertape Calier) e, por fim, no dia 11, às cinco horas da manhã, as novilhas foram inseminadas com sêmen sexado (Alta Genetics do Brasil Ltda.)(Fig. 1).

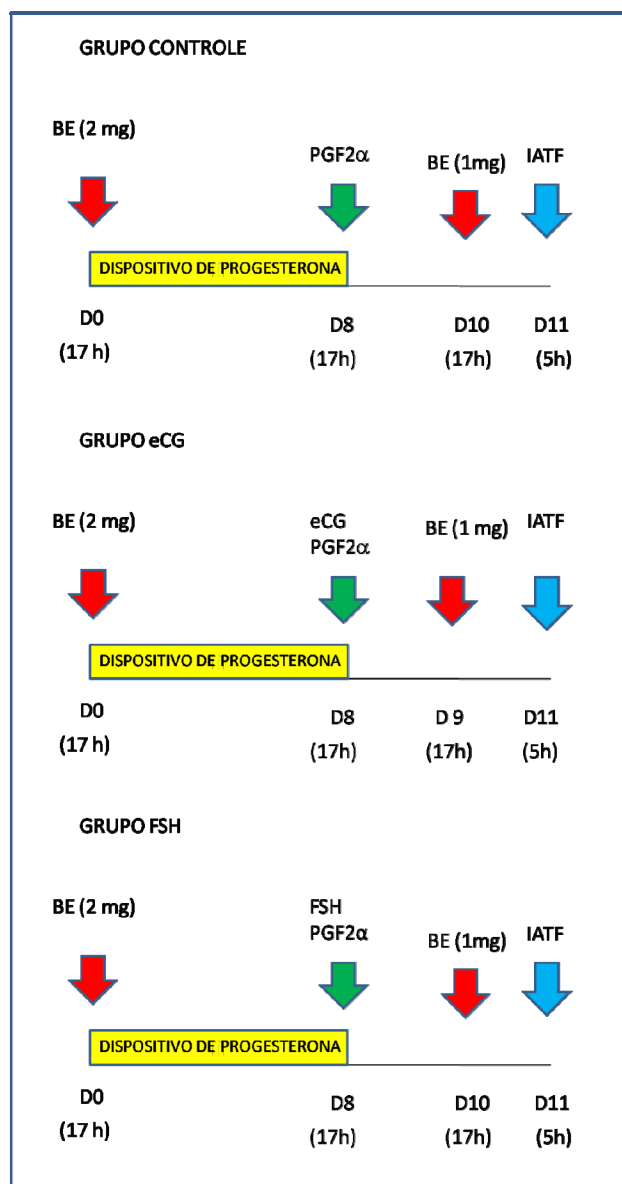


Figura 1. Protocolos de IATF. Fonte: autor.

Ultrassonografia

Foram realizados exames ultrassonográficos por via transretal para mensuração dos ovários por aparelho DP-2200Vet Digital Ultrasonic Diagnostic Imaging System (Mindray®) com sonda linear transretal de 7,5-MHZ. Realizaram-se os exames no dia da aplicação do implante (dia zero). O diagnóstico de gestação foi feito com 35 dias e 45 dias após a inseminação.

Avaliação do sêmen

Como a criopreservação e o processo de sexagem do sêmen pela citometria de fluxo podem resultar em danos na membrana, nas características da motilidade e na morfologia espermática, as avaliações das amostras seminais representam um componente indispensável para os programas de reprodução animal.

Portanto, amostras do sêmen utilizado para a IA foram submetidas às análises da cinética por meio do sistema computadorizado de análise espermática (CASA, SCA, Microptics, S.L., versão 5.1, Barcelona, Espanha) e da integridade da membrana plasmática (Carl Zeiss, Gottingen, Alemanha). As análises foram realizadas no Laboratório de Andrologia (Androlab), do Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE.



Análise estatística

Os resultados foram analisados pelo teste do qui-quadrado, com nível de significância de 5%.

Resultados e Discussão

As taxas de concepção dos grupos controle, FSH e eCG foram de 19% (4/21), 28% (6/21), 35% (7/20), respectivamente, não havendo diferenças significativas entre os grupos ($P > 0,05$). Animais que foram tratados com eCG tiveram um incremento de 16 pontos percentuais na taxa de concepção em relação ao grupo controle (Tab. 1).

Baruselli et al. (2007) observaram que a realização da IA de vacas Nelore paridas com sêmen sexado 60h depois da retirada do dispositivo vaginal aumentou em até 9% a taxa de concepção, justificando-se a aplicação da técnica de IATF e com atraso do horário da IA, para compensar a menor viabilidade do sêmen sexado.

Tabela 1. Taxa de prenhez de novilhas Girolando de acordo com o tratamento utilizado na IATF com sêmen sexado.

Grupo	Prenhez			Concepção (%)
	Positiva	Negativa	Total	
Controle	4	17	21	19
FSH	6	15	21	28
eCG	7	13	20	35

$\chi^2 = 1,3301$ ($P > 0,05$).

Verificou-se que o sêmen sexado utilizado no experimento apresentou-se dentro dos padrões recomendados.

Das 45 novilhas que não estavam prenhes no final do experimento, 36 já tinham repetido o estro e foram inseminadas com sêmen convencional. Em março de 2015, 29 novilhas estavam com prenhez confirmada e 16 estavam inseminadas e aguardando exame. O experimento provocou um aumento da taxa de serviço.

A utilização do eCG (Folligon®) aumenta em R\$10,36 o protocolo, justificando a utilização da droga quando observado o aumento da taxa de concepção.

Ao serem avaliados os custos entre o sêmen sexado e o convencional num lote de 100 novilhas com uma taxa de prenhez de 35% para o sexado e de 50% para o convencional, a diferença final é de R\$27.500,00 de vantagem para o sêmen sexado (Tab. 2).

Tabela 2. Comparação dos custos e receitas entre sêmen sexado e convencional.

	Sexado	Convencional
Custo do sêmen	R\$56,00	R\$25,00
Custo do protocolo	R\$14,94	R\$14,94
Custo de 100 IATF	R\$7.094,00	R\$3.940,00
Custo da prenhez	R\$202,00	R\$78,80
Taxa de concepção	35%	50%
Valor das novilhas	R\$105.000,00	R\$75.000,00
Valor dos bezerras	-	R\$2.500,00
Receita	R\$97.960,00	R\$73.560,00
Diferença		R\$24.346,00

Os resultados apresentados neste experimento são indicativos de que taxas de concepção em novilhas de leite inseminadas com sêmen sexado são viáveis.

Em trabalho realizado por Barbosa et al. (2011), com atraso da IA na IATF, quando se utilizou sêmen sexado em novilhas leiteiras, foi obtida taxa de prenhez de 25%, enquanto neste experimento foram obtidos 35% no grupo eCG.

Das 45 novilhas que não estavam prenhes no final do experimento, 36 já tinham repetido o estro e foram inseminadas com sêmen convencional. Em março de 2015, 29 novilhas estavam com prenhez confirmada e 16 estavam inseminadas e aguardando exame. O experimento provocou um aumento da taxa de serviço.



Conclusão

Os resultados apresentados neste experimento são indicativos de que taxas de concepção em novilhas de leite inseminadas com sêmen sexado são viáveis.

A taxa de concepção atingida neste experimento com sêmen sexado no grupo eCG por meio da inseminação artificial em tempo fixo foi semelhante à média obtida com sêmen convencional em novilhas em outros experimentos.

Mediante sincronização do estro e da ovulação, podem ser definidos protocolos que proporcionem melhores resultados nos programas de IATF com sêmen sexado.

Agradecimentos

Ao Senhor Gilson Andrade Pessoa, por ceder os animais para o experimento, à UFRPE, à Clínica de Bovinos de Garanhuns, ao Androlab, à Facepe e à Capes.

Referências

- Associação Brasileira de Inseminação Artificial.** Relatório estatístico de produção, importação e comercialização de sêmen. 2011. Disponível em: <http://www.asbia.org.br/novo/upload/mercado/relatorio2011.pdf>. Acesso em: 26 nov. 2014.
- Associação Brasileira de Inseminação Artificial.** Relatório estatístico de produção, importação e comercialização de sêmen. 2013. Disponível em: <http://www.asbia.org.br/novo/upload/mercado/index2013.pdf>. Acesso em: 02 fev 2015
- Barbosa LP, Menezes DS, Faria EFS, Wicke AA, Oliveira RL, Bagaldo AR, Neto BMC, Dutra PA.** Inseminação artificial em tempo fixo utilizando sêmen sexado em novilhas leiteiras. *Magistra, Bahia*, v.23, p.75-153, 2011.
- Baruselli PS, Martins CM, Reis PO, Ayres H, Ferreira RM, Sales JNS, Crepaldi GA.** Produção de embriões de vacas Nelore (*Bos indicus*) inseminadas em tempo fixo com sêmen sexado. *Acta Sci Vet*, v.36, p.443-448, 2008.
- 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*, v.82, p.479-486, 2004.
- Baruselli PS, Souza AH, Martins CM, Gimenes LU, Sales JNS, Ayres H, Andrade AFC, Raphael CF, Arruda RP.** Sêmen sexado: inseminação artificial e transferência de embriões. *Rev Bras Reprod Anim*, v.31, p.374-381, 2007.
- Bodmer M, Janett F, Hässig M, Des Daas N, Reichert P, Thun R.** Fertility in heifers and cows after low dose insemination with sex-sorted and non-sorted sperm under field conditions. *Theriogenology*, v. 64, p.1647-1655, 2005.
- Dejarnette JM, McCleary CR, Leach MA, Moreno JF, Nebel RL, Marshall CE.** Effects of 2.1 and 3.5 × 10⁶ sex-sorted sperm dosages on conception rates of Holstein cows and heifers. *J Dairy Sci*, v.93, p.4079-4085, 2010.
- Garner DL.** Flow cytometric sexing of mammalian sperm. *Theriogenology*, v.65, p.943-957, 2006.
- Górecka A, Jezierski T ZAJ, Sloniewski K.** Relationships between sexual behaviour, dominant follicle area, uterus ultrasonic image and pregnancy rate in mares of two breeds differing in reproductive efficiency. *Anim Reprod Sci*, v.87, p.283-293, 2005.
- Lu Kh, Seidel GE Jr.** Effects of heparin and sperm concentration on cleavage rates of bovine oocytes inseminate with flow-cytometrically-sorted bovine sperm. *Theriogenology*, v.62, p.819-830, 2004.
- Schenk JL, Suh TK, Cran DG, Seidel Jr GE.** Cryopreservation of flow-sorted bovine spermatozoa. *Theriogenology*, v.52, p.1375-1393, 1999.
- Souza AH, Martins CM, Torres JR, Ayres H, Baruselli PS.** Efeito do eCG e do cipionato de estradiol em protocolos para inseminação artificial em tempo fixo em vacas Holandesas de alta produção. *Acta Sci Vet*, v.34, p.404, 2006. Resumo.
- Souza AH, Viechnieski S, Lima FA, Silva FF, Araújo R, Bó GA, Wiltbank MC, Baruselli PS.** Effects of equine chorionic gonadotropin and type of ovulatory stimulus in a timed-AI protocol on reproductive responses in dairy cows. *Theriogenology*, v.72, p.10-21, 2009.
-