

## O DIÂMETRO DO FOLÍCULO DOMINANTE ESTÁ POSITIVAMENTE CORRELACIONADO COM A TAXA DE PREENHEZ EM PROTOCOLOS DE IATF

IURI WRAGUE MOTA<sup>1</sup>; ALINNE MACHADO PETRARCA LÉO<sup>2</sup>; SAMIRA ALVES DE SOUZA SILVA<sup>3</sup>; BERNARDO GARZIERA GASPERIN<sup>4</sup>; RAFAEL GIANELLA MONDADORI<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – [iuri.wmota@hotmail.com](mailto:iuri.wmota@hotmail.com)

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – [alinnempetrarca@gmail.com](mailto:alinnempetrarca@gmail.com)

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas- [samirasouzazooteecnista@gmail.com](mailto:samirasouzazooteecnista@gmail.com)

<sup>4</sup>Universidade Federal de Pelotas- [bgasperin@gmail.com](mailto:bgasperin@gmail.com)

<sup>5</sup>Universidade Federal de Pelotas – [rgmondadori@gmail.com](mailto:rgmondadori@gmail.com)

### 1. INTRODUÇÃO

Com o advento de biotecnologias destinadas a reprodução animal, está sendo possível aumentar a eficiência do processo de produção com biotécnicas como a inseminação artificial em tempo fixo (IATF), que sincroniza a ovulação através da administração exógena de fármacos que interagem com o sistema nervoso central e o trato reprodutivo, dispensando a necessidade de observação de estro (BÓ et al., 2003). Dentre os benefícios que a IATF promove, estão o avanço no melhoramento genético dos rebanhos, a diminuição da mão de obra, concentração dos nascimentos, redução manejos, e a formação de fenótipos e genótipos mais uniformes e padronizados (NOGUEIRA, 2017). Protocolos que utilizam dispositivos intravaginais de progesterona (P4) e ésteres de estradiol, como benzoato de estradiol (BE) e cipionato de estradiol (CE), são amplamente utilizados na América do Sul para sincronizar a emergência da onda folicular e a ovulação, para inseminação artificial em tempo fixo (Sá Filho et al., 2009; Sá Filho et al., 2011), tanto em bovinos taurinos quanto em zebuínos, sendo que os taurinos predominam na região sul do Brasil.

Entretanto, países como Uruguai, Estados Unidos e a União Europeia, impõem oposições ao uso de estrógenos em protocolos de IATF (BÓ E MENCHACA, 2023). Esses hormônios são análogos aos produzidos pela fêmea e não há estudos que comprovem, nas doses utilizadas, efeitos deletérios a saúde humana. Entretanto, devido às restrições já citadas anteriormente, a pecuária brasileira sofre impacto na exportação da carne e animais vivos, tendo em vista o uso desses fármacos para o controle do ciclo estral.

Diante do exposto, para contornar esse problema, é possível utilizar hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), como substituto do estrógeno, visto que esse neuro-hormônio é responsável pela secreção do hormônio folículo estimulante (FSH) e do hormônio luteinizante (LH) que atuam principalmente/diretamente no trato reprodutivo da fêmea (COELHO DE OLIVEIRA et al., 2010). Desse modo, objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito de um protocolo livre de estrógeno, a partir da substituição de ésteres de estradiol (BE e CE) por GnRH, no desenvolvimento folicular e probabilidade de prenhez em vacas taurinas submetidas a protocolos de IATF.

### 2. METODOLOGIA

O experimento foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Pelotas, documento 160/2020/CEEA. O

presente estudo foi realizado no município de São Gabriel-RS (30° 20' 09" S 54° 19' 12" O), em duas propriedades com um total de 251 vacas, das raças taurinas: Hereford e Aberdeen Angus, não gestantes, com 45 dias pós parto e com escore de condição corporal (ECC) ao redor de 3,5 (escala de 1-5), mantidas no sistema extensivo na condição de campo nativo. Dez dias antes do início do protocolo (D-10) foram administradas via intramuscular (IM) 150 mg de progesterona longa ação (Sincrogest<sup>®</sup>, Ourofino) em todas as vacas.

Os animais foram alocados aleatoriamente em três grupos: controle (n=85), GnRH/GnRH (n=84), e GnRH/EC (n=82). No início do protocolo (D0), todas as fêmeas receberam um dispositivo intravaginal de progesterona (DIV, 1 g P4), no grupo controle foi aplicado IM 2 mg de Benzoato de estradiol (BE) (Sincrodiol<sup>®</sup>,Ourofino) , e nos grupos GnRH/CE e GnRH/GnRH 20 mcg de acetato de buserelina (Sincroforte<sup>®</sup>,Ourofino, análogo do GnRH) via IM. Após sete dias (D7), os DIVs foram removidos, e todas as fêmeas receberam, via IM, 0,52 mg de cloprostenol sódico (Sincrocio<sup>®</sup>, Ourofino) e 300 UI de gonadotrofina coriônica equina (Sincro eCG<sup>®</sup>,Ourofino). Foram marcadas com tinta específica na base da cauda para posterior avaliação da manifestação de estro. Ainda no D7, somente fêmeas dos grupos controle e GnRH/CE receberam, via IM, 1 mg de CE (SincroCP<sup>®</sup>,Ourofino). Decorridas 48 horas (D9), foi aplicado 10 mcg de acetato de buserelina nos animais do grupo GnRH/GnRH. O diâmetro folicular do maior folículo ovariano foi avaliado no D7 (momento da remoção do DIV) por ultrassonografia transretal (Ultramedic i3V). Todas as fêmeas foram inseminadas 48 h após a remoção do DIV com sêmen de touro certificado. O procedimento foi realizado por três inseminadores experientes, com distribuição equitativa entre os grupos. O diagnóstico de gestação foi realizado 30 dias após a IA.

As análises foram realizadas com o software estatístico JMP (JMP Statistical Discovery LLC.). O diâmetro folicular D7, o grupo e sua interação foram avaliados por regressão logística para avaliar os efeitos na prenhez. As razões de probabilidade foram geradas para avaliar o efeito de cada aumento milimétrico no diâmetro do folículo dominante no dia 7 na probabilidade da prenhez. O nível de significância foi estabelecido em 5% para todas as análises.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste estudo, não foram observadas diferenças significativas na taxa de prenhez ( $P = 0,77$ ) entre os grupos controle (56,9 %), GnRH/GnRH (53,6 %) e GnRH/EC (53,1 %). Esses resultados estão em consonância com estudos anteriores sobre a eficácia de protocolos com GnRH (GOTTSCHALL, 2012). A prenhez total observada no estudo foi satisfatória (54,5%) conforme ALMEIDA et al. (2016), o que sugere que os diferentes protocolos foram igualmente eficazes. Não houve efeito do inseminador ( $P = 0,88$ ) ou sêmen de touro ( $P = 0,80$ ) na taxa de prenhez nos diferentes grupos experimentais.

O aumento do diâmetro do folículo dominante no momento da retirada do DIV (D7) foi associado com aumento da P/IA ( $P < 0,00001$ ), sem efeito significativo de grupo ( $P > 0,05$ ), e foi observada interação entre grupo e folículo ( $P < 0,01$ ). O tamanho do folículo está diretamente relacionado com a taxa ovulatória (SÁ FILHO et al., 2010), fertilização e transporte espermático pelo aumento dos níveis de estradiol e, após a ovulação, pela manutenção da gestação devido ao tamanho do corpo lúteo. Quanto maior o diâmetro, melhor será responsividade na fase de dominância folicular ao LH (GINTHER et al., 2000) e mais acentuado será o *feedback* negativo que suprime a liberação de FSH da hipófise anterior, devido ao

aumento do estradiol, causando a regressão de folículos menores. Concomitante as baixas concentrações de P4 na circulação sistêmica, pela ausência de um corpo lúteo funcional, ocorre a indução de uma onda acentuada de GnRH e o pico de LH, essencial para a ocorrência da ovulação, contratilidade do trato reprodutivo e demonstração do comportamento estral durante a receptividade sexual (FORDE et al., 2011), que está associado diretamente com a probabilidade de prenhez (RICHARDSON et al., 2016).

A formação do corpo lúteo se dá pela diferenciação de células da granulosa em células lúteas, após o pico de LH (MEIDAN,1990). Desse modo, quanto maior o folículo, mais efetivo será o CL visto que quanto maior volume e do fluxo sanguíneo, melhor será sua capacidade de produzir progesterona, hormônio responsável pela manutenção da gestação (PFEIFER et al., 2009).

#### 4. CONCLUSÕES

Baseado nesses resultados, não houve diferença significativa no diâmetro do maior folículo ovariano entre os grupos que receberam protocolos com ésteres de estradiol ou GnRH no dia 7. Além disso, observou-se que o tamanho do folículo teve um impacto significativo na probabilidade de prenhez. Assim, devem ser estudadas alternativas que visem a obtenção de um folículo dominante de maior diâmetro no momento da remoção do DIV.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA,Í.C.;GOMES,T.B.;PINHO,M.M.;SIQUEIRA,J.G.;SENA,L.M.;FONTES,C. A.A. Pregnancy rates in dairy cows after the use of hormonal protocols of timed artificial insemination. **Revista Brasileira de Ciências Veterinárias**, 23: 99-103, 2016<sup>a</sup>

BÓ, G. A.; MENCHACA, A. Prohibition of hormones in animal reproduction: what to expect and what to do?. **Animal Reproduction**, v. 20, p. e20230067, 2023.

BÓ, G.A.; BARUSELLI, P.S.; MARTINEZ, M.F. Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. **Anim Reprod Sci**, v.78, p.307-326, 2003.

COELHO DE OLIVEIRA, J F; BAYARD DIAS GONÇALVES, P; FERREIRA, R; GASPERIN, B; CARVALHO SIQUEIRA, Lucas. Controle sobre GnRH durante o anestro pós-parto em bovinos, **Ciência Rural**, vol. 40, núm. 12, 2010, pp. 2623-2631.

FORDE, N.; BELTMAN, M. E.; LONERGAN, P.; DISKIN, M.; ROCHE, J. F.; CROWE, M. A. Oestrus cycles in *Bos taurus* cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 124, p. 163-169, 2011.

GINTHER, O. J.; BERGFELT, D. R.; KULICK, L. J.; KOT, K. Selection of the dominant follicle in cattle: role of estradiol. **Biology of Reproduction**, v. 63, p. 383-389, 2000.

GOTTSCHALL,C.S.;DE ALMEIDA,M.R.;TOLOTTI,F.;MAGERO,J; BITTENCOURT, H.R.;MATTOS, R.C.;GREGORY,R.M. Avaliação do desempenho reprodutivo de vacas de corte lactantes submetidas à IATF a partir da aplicação do GnRH, da manifestação estral, da reutilização de dispositivos. **Acta Scientiae Veterinariae**, 40: 1-10, 2012.

MEIDAN, Rina et al. In vitro differentiation of bovine theca and granulosa cells into small and large luteal-like cells: morphological and functional characteristics. **Biology of reproduction**, v. 43, n. 6, p. 913-921, 1990.

NOGUEIRA, C. S. **Impacto da IATF (inseminação artificial em tempo fixo) sobre características de importância econômica em bovinos nelore**. 2017, 44 p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista.

PFEIFER, L. F.M., MAPLETOFT, R. J., KASTELIC, J. P., SMALL, J. A., ADAMS, G. P., DIONELLO, N. J., SINGH, J. Effects of low versus physiologic plasma progesterone concentrations on ovarian follicular development and fertility in beef cattle. **Theriogenology**, Saskatoon, v. 72, p. 1237-1250, 2009.

RICHARDSON, B. N., HILL, S. L. STEVENSON, J. S., DJIRA, G. D., PERRY, G. A. Expression of estrus before fixed-time AI affects conception rates and factors that impact expression of estrus and the repeatability of expression of estrus in sequential breeding seasons. **Animal Reproduction Science**, Brookings, v. 166, p. 133-140, 2016.

SA FILHO, F., M., SANTOS, J.E., FERREIRA, R.M., SALES, J.N., BARUSELLI, P.S. Importance of estrus on pregnancy per insemination in suckled BOS indicus cows submitted to estradiol/progesterone-based timed insemination protocols. **Theriogenology** 76, 455–463, 2011.

SÁ FILHO, M. F., CRESPILO, A. M., SANTOS, J. E. P., PERRY, G. A., BARUSELLI, P. S. 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**, São Paulo, v. 120, p. 23-30, 2010.

SA FILHO, O.G., MENEGHETTI, M., PERES, R.F., LAMB, G.C., VASCONCELOS, J.L.. Fixedtime artificial insemination with estradiol and progesterone for BOS indicus cows II: strategies and factors affecting fertility. **Theriogenology** v.72, p.210–218, 2009.