

## SINCRONIZAÇÃO DE RECEPTORAS PARA INOVULAÇÃO EM TEMPO FIXO

Márcio de Oliveira Marques<sup>1,2</sup>, Everton Luiz Reis<sup>1</sup> e Pietro Sampaio Baruselli<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Reprodução Animal, FMVZ-USP-SP

<sup>2</sup> Geraembryo, Cornélio Procópio – PR (marquesm@usp.br)

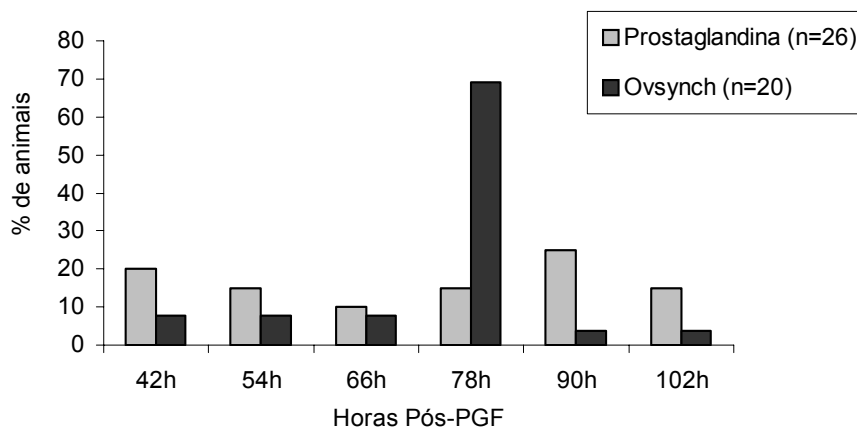
### 1 INTRODUÇÃO

Cerca de 110.000 embriões bovinos foram transferidos no Brasil durante o ano de 2002, quantidade superior aos cerca de 95.000 embriões inovulados no Canadá no mesmo período (IETS, 2003). Este dado demonstra a importância da Transferência de Embriões (TE) no cenário das biotecnologias aplicadas à pecuária nacional. Inúmeros fatores interferem na eficiência de programas de TE, com destaque especial às receptoras (Spell, 2001; Hasler, 2001). Isto porque os programas de TE comerciais apresentam, em geral, baixas taxas de aproveitamento (% de receptoras aptas à inovulação/total de receptoras tratadas). Normalmente, em um lote de receptoras tratadas com protocolos tradicionais (uso de prostaglandina associado à detecção de estro), somente 40 a 50% dos animais são aproveitados para a inovulação. Considerando-se uma taxa de concepção de 50% do total de animais aproveitados, obtém-se apenas 20 a 25% de gestações ao final do tratamento (Bó et al., 2002).

Desta forma, o incremento das taxas de aproveitamento e de concepção das receptoras é fundamental para maximizar a taxa de prenhez e, com isso, elevar o retorno zootécnico e econômico da TE, determinando, além de maior número de bezerros/ano, redução dos gastos com fêmeas não prenhes no rebanho.

### 2 INOVULAÇÃO DE EMBRIÕES UTILIZANDO PROSTAGLANDINA E DETECÇÃO DE CIO

Alguns dos principais problemas da sincronização de receptoras com análogos da prostaglandina (PGF<sub>2</sub> $\alpha$ ) são: a) mão-de-obra capacitada para detectar o cio; b) variação no tempo da administração da PGF<sub>2</sub> $\alpha$  à ocorrência do estro (2 a 7 dias); c) presença de corpo lúteo (ciclicidade) para responder ao tratamento e; d) limitada quantidade de receptoras detectadas em cio (em torno de 50%). Visando minimizar tais problemas, nosso grupo de pesquisa (Baruselli et al., 2000a) obteve, pela monitoração ultra-sonográfica do desenvolvimento folicular, maior número de ovulações sincronizadas e menor variação do momento da ovulação em novilhas cruzadas submetidas ao protocolo "Ovsynch" (Dia 0=GnRH; Dia 7= PGF<sub>2</sub> $\alpha$ ; Dia 9=GnRH), que naquelas submetidas à administração única de PGF<sub>2</sub> $\alpha$  (Figura 1).



**Figura 1.** Distribuição das ovulações (horas) após a administração de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  em novilhas receptoras de embrião tratadas com “Ovsynch” ou dose única de  $\text{PGF}_{2\alpha}$ . Baruselli et al., 2000a.

Esse protocolo inicial levou ao desenvolvimento de novas condutas voltadas ao aumento da eficiência de receptoras mantidas a campo.

### 3 PROGRAMAS DE INOVULAÇÃO DE EMBRIÕES EM TEMPO FIXO

Alguns investigadores (Tribulo et al., 2000; Baruselli et al., 2000b, 2000c e 2001; Bó et al., 2002) demonstraram que as taxas de aproveitamento<sup>1</sup> são maiores em receptoras submetidas a protocolos de TE em tempo fixo do que naquelas tratadas com uma ou duas administrações de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  e posterior detecção de cio. Como as taxas de concepção<sup>2</sup> de tais protocolos são similares àquelas obtidas em receptoras tratadas exclusivamente com  $\text{PGF}_{2\alpha}$ , o resultado final é o aumento das taxas de prenhez<sup>3</sup> dos programas de TE em tempo fixo, além da vantagem de possibilitarem a programação do dia da inovulação e de evitarem o trabalho com a detecção de cio.

Nosso grupo (Baruselli et al., 2000b) também verificou que o tratamento Ovsynch para inovulação de embriões a fresco em tempo fixo determinou taxa de concepção semelhante ( $P > 0,05$ ) àquela observada em novilhas inovuladas após a administração única de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  e detecção de cio por 5 dias (Tabela 1). Entretanto, como a taxa de aproveitamento (receptoras portadoras de corpo lúteo  $\geq 10$  mm) foi maior ( $P < 0,0001$ ) no grupo Ovsynch, a taxa de prenhez desse grupo foi estatisticamente mais elevada ( $P < 0,05$ ; Tabela 1).

<sup>1</sup> Taxa de aproveitamento = (número de receptoras aptas à inovulação x 100) ÷ número de receptoras tratadas

<sup>2</sup> Taxa de concepção = (número de receptoras prenhes x 100) ÷ número de receptoras inovuladas

<sup>3</sup> Taxa de prenhez = (número de receptoras prenhes x 100) ÷ número de receptoras tratadas

**Tabela 1.** Taxas de aproveitamento, de concepção e de prenhez de novilhas receptoras de embrião (*Bos taurus* x *Bos indicus*) detectadas em cio após dose única de PGF<sub>2α</sub> ou inovuladas em tempo fixo após o protocolo Ovsynch. Baruselli et al., 2000b.

	Taxa de Aproveitamento	Taxa de Concepção	Taxa de Prenhez
Ovsynch	72,6% (122/168) <sup>a</sup>	49,2% (60/122)	35,7% (60/168) <sup>c</sup>
PGF <sub>2α</sub>	45,2% (80/177) <sup>b</sup>	56,3% (45/80)	25,4% (45/177) <sup>d</sup>
P	<0,0001	0,20	0,03

(a ≠ b; c ≠ d na mesma coluna; P<0,05)

Tríbulo et al. (2000) compararam a eficiência de receptoras tratadas com 2 administrações de PGF<sub>2α</sub> (intervalo de 14 dias) com a de fêmeas submetidas ao protocolo descrito a seguir: no Dia 0, inseriu-se um CIDR (Pfizer<sup>®</sup>) juntamente à administração IM de 2mg de Benzoato de Estradiol e 50 mg de Progesterona; no Dia 7 os dispositivos foram retirados, e administrou-se 0,150 mg de d-cloprostenol (PGF<sub>2α</sub>); no Dia 8 - cerca de 24 horas após a retirada dos implantes, foi administrado 1mg de Benzoato de Estradiol IM; o Dia 9 foi considerado o momento do cio; assim, no Dia 16 procedeu-se à inovulação "one-step" em tempo fixo pelo método não-cirúrgico. A inovulação das receptoras tratadas apenas com PGF<sub>2α</sub> foi realizada 7 dias após a detecção do estro. Somente as vacas portadoras de corpos lúteos (CL) ≥ 15mm à avaliação ultra-sonográfica foram inovuladas. Os resultados desse estudo encontram-se na Tabela 2.

**Tabela 2.** Taxas de aproveitamento, de concepção e de prenhez em vacas solteiras detectadas em estro após 2 administrações de PGF<sub>2α</sub> ou transferidas em tempo fixo após tratamento com CIDR-B e Benzoato de Estradiol. Córdoba, Argentina, 2000.

Grupo	N	Transferidas/tratadas (%)	Prenhes/transferidas (%)	Prenhes/tratadas (%)
PGF/ detecção de estro	100	60/100 (60,0 %)	32/60 (53,3 %)	32/100 (32,0 %)
CIDR-B	100	59/100 (59,0 %)	37/59 (62,7 %)	37/100 (37,0 %)

As porcentagens não diferem (P>0,05).  
al., 2000

Tríbulo et

Como pode ser observado na tabela 2, nas condições ótimas de resposta ao tratamento com PGF<sub>2α</sub>, os protocolos que utilizam progesterona para TE em tempo fixo apresentaram resultados semelhantes ao tratamento com PGF<sub>2α</sub>, com a vantagem de dispensar a detecção do cio. Entretanto, esse experimento foi realizado nas condições de manejo e pastagem argentinas, havendo seleção prévia apenas de receptoras cíclicas, de maneira que a taxa de aproveitamento do grupo PGF<sub>2α</sub> está acima da média brasileira.

#### 4 EFEITO DA ÁREA DO CL E DA CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DE PROGESTERONA NA TAXA DE CONCEPÇÃO DE RECEPTORAS *BOS TAURUS* X *BOS INDICUS*

A relação entre a taxa de concepção, a concentração plasmática de progesterona e o tamanho do CL em receptoras de embrião bovino é objeto de controvérsias entre os estudiosos. Vários pesquisadores têm verificado correlação positiva entre tais variáveis. De acordo com Vasconcelos et al. (2001), quanto maior o volume do corpo lúteo, maior será a concentração de progesterona, e, conseqüentemente, maior taxa de concepção será obtida em vacas inseminadas em tempo fixo. Esses achados concordam com experimento realizado por nosso grupo (Baruselli et al., 2000b), no qual verificou-se que a área do CL está associada à concentração plasmática de progesterona e à taxa de concepção de receptoras *Bos indicus* x *Bos taurus*, conforme demonstrado na Tabela 3.

**Tabela 3.** Concentração de progesterona e taxa de concepção conforme a área do corpo lúteo no dia 6 do ciclo estral em receptoras de embrião bovino (*Bos indicus* x *Bos taurus*).

Área do CL (ultra-sonografia)	Número de receptoras	Concentração de P4 (ng/ml)	Área média (cm <sup>2</sup> )	Taxa de concepção (%)
CL1 (> 2,0 cm <sup>2</sup> )	77	2,44 ± 0,86 <sup>a</sup>	2,66 ± 0,51	58,4 (47/77) <sup>d</sup>
CL2 (1,5 a 2,0 cm <sup>2</sup> )	41	1,75 ± 0,69 <sup>b</sup>	1,74 ± 0,10	41,5 (17/41) <sup>e</sup>
CL3 (< 1,5 cm <sup>2</sup> )	22	0,96 ± 0,56 <sup>c</sup>	1,19 ± 0,20	31,8 (7/22) <sup>f</sup>

(a ≠ b ≠ c; P < 0,01 e d ≠ e ≠ f; P < 0,05).

Estudos demonstram a relação entre a concentração plasmática de progesterona e a taxa de concepção (Binelli et al., 2001; Tatcher et al., 2002; 2001; Reis et al., 2004). O aumento das concentrações plasmáticas de progesterona no diestro foi correlacionado com o desenvolvimento embrionário, pelo maior aporte de nutrientes para o lúmen uterino (Geisert et al., 1992), e com sua capacidade de secretar interferon- $\tau$  (Mann et al., 1999; Kerbler et al., 1997; Mann; Lamming, 2001), provocando diminuição da secreção de PGF<sub>2 $\alpha$</sub>  pelo endométrio uterino e bloqueio da luteólise (Mann et al., 1995, 1999; Wathes et al., 1998). Esse fenômeno foi associado ao aumento das taxas de concepção (MacMillan et al., 1994, Fuentes & De La Fuentes, 1997; Baruselli et al., 2000; Santos, 2001). No entanto, alguns pesquisadores não observaram esse efeito (Nogueira et al., 2004; Spell, et al., 2001; Hasler, et al., 1980; Tríbulo et al., 1997).

Outra investigação por nós realizada com o objetivo de superovular receptoras para a inovação de embriões em tempo fixo (Baruselli et al., 2000c e 2001) demonstrou relação positiva entre o número de corpos lúteos, a concentração plasmática de progesterona e a taxa de concepção após a transferência de embriões congelados em etileno-glicol. Nesse estudo, foram utilizadas 100 novilhas mestiças *Bos taurus* x *Bos indicus* mantidas a pasto no município de Botelhos (MG). No grupo Controle (n=50), inseriu-se um implante intravaginal contendo 1,9g de Progesterona (CIDR-B, Pfizer), juntamente à administração de 2,0mg de Benzoato de Estradiol (BE), IM (Estrogin, Farmavet) e de 50mg de Progesterona, IM (dia 0). No dia 7 pela manhã foram aplicados 500 $\mu$ g de PGF<sub>2 $\alpha$</sub>  (Cloprostenol sódico IM, Ciosin, Coopers), e à tarde os implantes foram retirados. No dia 8 pela manhã administrou-se 0,5 mg de BE, IM. O grupo superestimulado com eCG (n=50) recebeu o mesmo protocolo, acrescido da administração de 800 UI de e.C.G., IM (Novormon, Tecnopec) na manhã do dia 5. Para

a contagem do número de folículos  $\geq 0,8\text{cm}$  (FG), a avaliação ultra-sonográfica ovariana foi realizada no dia 8 (Controle,  $n=25$ ; eCG,  $n=24$ ). No dia 15 foram colhidas amostras de sangue para dosagem da concentração plasmática de progesterona (48 animais por grupo), bem como realizadas avaliações ultra-sonográficas (todos animais), para contagem do número de corpos lúteos e classificação das receptoras para inovulação. Os corpos lúteos únicos foram classificados em: CL 1 (área  $\geq 2,2\text{ cm}^2$ ), CL 2 (área  $\leq 2,19\text{ cm}^2$  e  $\geq 1,4\text{ cm}^2$ ) ou CL 3 (área  $\leq 1,39\text{ cm}^2$  e  $\geq 1,30\text{ cm}^2$ ). No dia 16, todas as receptoras classificadas como aptas (Controle:  $n=17$  e eCG:  $n=40$ ) foram inovuladas em tempo fixo com um embrião descongelado "one step" (etileno-glicol), pelo método não-cirúrgico e pelo mesmo veterinário. Os resultados estão apresentados nas Tabelas 4 e 5.

**Tabela 4.** Número médio de CL ( $\pm$  desvio padrão), concentração plasmática de progesterona (P4) (1 dia prévio à TE) e taxas de prenhez em receptoras *Bos taurus* x *Bos indicus* tratadas com dispositivos CIDR-B + Estradiol/progesterona no Dia 0, com ou sem 800 UI de eCG no Dia 5 e inovuladas em tempo fixo.

Grupo	n	Número de CLs	P4 (ng/ml)	Taxa de aproveitamento (%)	Taxa de Concepção (%)	Taxa de Prenhez (%)
Controle	50	0,5 $\pm$ 0,5 <sup>a</sup>	1,3 $\pm$ 0,8 <sup>a</sup>	17/50 (34,0) <sup>a</sup>	5/17 (29,4) <sup>c</sup>	5/50 (10,0) <sup>a</sup>
eCG	50	2,6 $\pm$ 2,9 <sup>b</sup>	4,2 $\pm$ 3,7 <sup>b</sup>	42/50 (84,0) <sup>b</sup>	21/38 (55,3) <sup>d</sup>	21/50 (42,0) <sup>b</sup>

<sup>ab</sup>Médias ou porcentagens nas colunas com diferentes sobrescritos diferem significativamente ( $P < 0,05$ ).

<sup>cd</sup>Médias ou porcentagens nas colunas com diferentes sobrescritos diferem ( $P = 0,07$ ).

**Tabela 5.** Área do CL, concentração de progesterona e taxa de concepção de receptoras de embrião portadoras de corpo lúteo único conforme o tratamento.

CL Único	n	Área (cm <sup>2</sup> )	Concentração de P4 (ng/mL)	Taxa de Concepção (%)
Controle	17	2,15 $\pm$ 0,46 <sup>a</sup>	1,35 $\pm$ 0,78	29,4 (5/17)
eCG	8	2,86 $\pm$ 0,63 <sup>b</sup>	2,30 $\pm$ 1,60	50,0 (4/8)

(a  $\neq$  b na mesma coluna;  $P < 0,05$ )

Assim, o tratamento com eCG no momento esperado da emergência da nova onda de crescimento folicular foi eficaz na superovulação ou desenvolvimento de um folículo dominante único de maior diâmetro e determinou, além de maior número de corpos lúteos (ou corpo lúteo único maior), maior concentração plasmática de progesterona e maiores taxas de aproveitamento, concepção e prenhez que o tratamento utilizado no grupo controle.

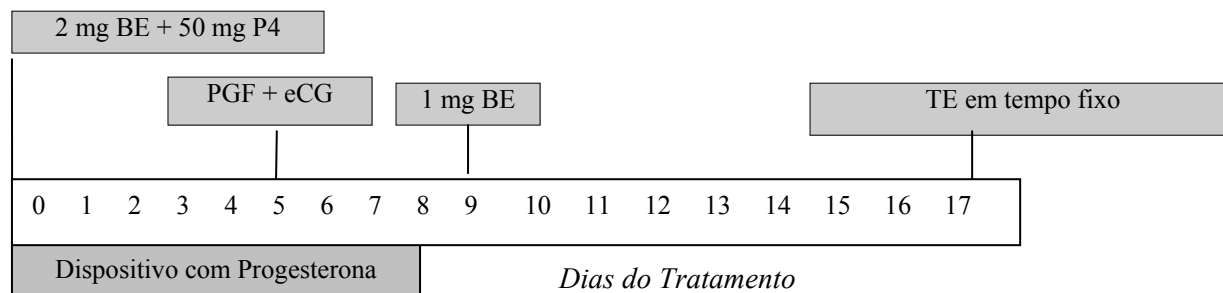
Bó et al. (2002) propuseram um protocolo semelhante (Figura 2), e verificaram que a utilização de 400UI de eCG no momento da emergência da onda de crescimento folicular determinou apenas 2% de dupla ovulação em receptoras cruzadas. No entanto, esse tratamento formou corpos lúteos únicos maiores e incrementou a taxa de concepção e de prenhez em receptoras inovuladas com embriões congelados em etileno-glicol que aquele empregado no grupo controle, que não recebeu eCG (Tabela 6).

**Tabela 6.** Diâmetro do CL (média  $\pm$  desvio padrão; dia prévio à TE) e taxa de prenhez em receptoras tratadas com dispositivos DIV-B + estradiol/progesterona no Dia 0, com ou sem 400UI de eCG administrados no Dia 5 e involuadas em tempo fixo.

Grupo	n	CL <sup>a</sup> (mm)	Transferidas/ Tratadas (%)	Prenhes/ Transferidas (%)	Prenhes/tratadas (%)
Controle	156	17,7 $\pm$ 0,4 <sup>b</sup>	127/156 (81,4%) <sup>b</sup>	53/127 (41,7%) <sup>b</sup>	53/156 (33,9%) <sup>b</sup>
eCG	156	18,5 $\pm$ 0,4 <sup>c</sup>	132/156 (84,6%) <sup>b</sup>	76/132 (57,6%) <sup>c</sup>	76/156 (48,7%) <sup>c</sup>

<sup>a</sup> Diâmetro do CL aferido por ultra-sonografia em receptoras transferidas (CL  $\geq$  10 mm).

<sup>bc</sup> Médias ou percentagens nas colunas com diferentes sobrescritos diferem significativamente (P < 0,02).



**Figura 2.** Protocolo para TE em tempo fixo em bovinos. O tratamento consiste na inserção de um dispositivo liberador de progesterona juntamente à administração de Benzoato de estradiol (BE) e progesterona (P4) no Dia 0, PGF e 400 UI de eCG no Dia 5, remoção do dispositivo no Dia 8, e BE no Dia 9. O estro não é observado e a TE é realizada no Dia 17 em receptoras com CL >10 mm. (Bó et al., 2002).

Trabalho recente foi realizado pelo nosso grupo de pesquisa (Marques et al., 2003) para verificar os efeitos do eCG (administrado no momento da retirada de implantes intravaginais de progesterona) e do Benzoato de Estradiol (24 h após a retirada do implante) em vacas lactantes (60 dias pós-parto) meio sangue Nelore x Angus. Os animais foram tratados com BE (2mg) no dia 0 e com implante intravaginal de progesterona (CIDR) por 8 dias, sendo aplicado D-cloprostenol (150 $\mu$ g) no momento da retirada do implante (dia 8). Após a retirada dos implantes, os animais foram divididos em 4 grupos experimentais: Grupo 1 – não receberam eCG nem BE; Grupo 2 – receberam eCG no dia 8 (retirada do implante) e não receberam BE; Grupo 3 – não receberam eCG e receberam o BE no dia 9 (24h após retirada do implante); Grupo 4 – receberam eCG no dia 8 e receberam BE no dia 9.

Na tabela 7 pode-se evidenciar o efeito do eCG no aumento das concentrações plasmáticas de progesterona 12 dias após o tratamento. Observou-se que os animais que receberam eCG apresentaram maiores concentrações plasmáticas de P4 (8,6  $\pm$  0,9 vs 4,5  $\pm$  0,7 ng/ml; P < 0,05). O tratamento com BE não influenciou as concentrações plasmáticas de P4. No entanto, verificou-se aumento na taxa de ovulação com o uso de BE (54,2 vs 80,8%; P < 0,05). O eCG aumentou a taxa de ovulação (60,0 vs 76,0%), entretanto não se verificou diferença significativa (P > 0,05). O BE mostrou-se eficaz na sincronização da ovulação (Teste de Bartlett, P=0,01) e na antecipação do momento da ovulação (com BE = 69,4  $\pm$  2,0 vs sem BE = 86,3  $\pm$  4,8 h; P < 0,05). Já, o tratamento com eCG foi menos eficiente que BE na sincronização da ovulação (Teste de Bartlett, P=0,59). Com a antecipação da ovulação no grupo BE, verificou-se que os folículos pré-ovulatórios apresentaram menor diâmetro em relação ao grupo que não recebeu o BE (11,72  $\pm$  0,25 vs 13,83  $\pm$  0,41 mm; P < 0,05).

**Tabela 7** – Efeitos do uso de eCG em vacas Brangus lactantes tratadas com implante vaginal de progesterona. São Manuel – SP. 2002

N=50	P4 total (ng/mL)	P4 ovul (ng/mL)	Taxa ovul	Momento ovul (hs)	Fol pré ovul (mm)	CL (mm <sup>2</sup> )
eCG (25)	8,6 ± 0,9 <sup>a</sup>	8,6 ± 0,4 <sup>a</sup>	76% (19/25)	74,2 ± 4,0	12,55 ± 0,36	1,93 ± 0,05
s/ eCG (25)	4,5 ± 0,7 <sup>b</sup>	6,4 ± 0,5 <sup>b</sup>	60 % (15/25)	78,0 ± 3,1	12,50 ± 0,46	1,82 ± 0,06
BE (26)	7,2 ± 0,9	7,3 ± 0,5	80,8% (21/26) <sup>a</sup>	69,4 ± 2,0 <sup>a</sup>	11,72 ± 0,25 <sup>a</sup>	1,84 ± 0,05
s/ BE (24)	5,8 ± 0,8	8,0 ± 0,5	54,2% (13/24) <sup>b</sup>	86,3 ± 4,8 <sup>b</sup>	13,83 ± 0,41 <sup>b</sup>	1,93 ± 0,06

a≠b na mesma coluna, P<0,05

Na seqüência dos experimentos, Reis (2004) comparou diferentes doses de eCG (400 vs 500 vs 600 UI) administradas no Dia 5 ou no Dia 8 do tratamento com dispositivo intravaginal de progesterona (DIB<sup>®</sup>). Foram utilizadas 600 receptoras nulíparas *Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus* mantidas a pasto no Brasil Central. Os resultados estão demonstrados na tabela 8.

**Tabela 8.** Número de CL, taxas de aproveitamento, de concepção, de prenhez de embriões PIV em receptoras tratadas com dispositivos intravaginais de progesterona (DIB<sup>®</sup>) no Dia 0 e com diferentes doses de eCG (Novormon<sup>®</sup>) no Dia 5 ou no Dia 8 do tratamento. Fazenda Sonho Real, Campo Grande – MS, 2004.

Dose	Dia	N	Taxa de aproveitamento (%)	Taxa de concepção (%)	Taxa de prenhez (%)	Número de corpos lúteos
400	5	101	81,2 (82/101) <sup>b</sup>	58,0 (47/81) <sup>a</sup>	46,5 (47/101) <sup>a</sup>	1,24 ± 0,05 <sup>bc</sup>
	8	100	83,0 (83/100) <sup>b</sup>	45,8 (38/83) <sup>ab</sup>	38,0 (38/100) <sup>ab</sup>	1,10 ± 0,04 <sup>c</sup>
500	5	98	86,7 (85/98) <sup>ab</sup>	48,8 (40/82) <sup>ab</sup>	40,8 (40/98) <sup>ab</sup>	1,54 ± 0,11 <sup>b</sup>
	8	99	80,8 (80/99) <sup>b</sup>	39,2 (31/79) <sup>b</sup>	31,3 (31/99) <sup>b</sup>	1,11 ± 0,05 <sup>c</sup>
600	5	100	93,0 (93/100) <sup>a</sup>	48,9 (45/92) <sup>ab</sup>	45,0 (45/100) <sup>ab</sup>	2,37 ± 0,21 <sup>a</sup>
	8	96	81,3 (78/96) <sup>b</sup>	50,0 (39/78) <sup>ab</sup>	40,6 (39/96) <sup>ab</sup>	1,17 ± 0,06 <sup>c</sup>
<b>Efeitos principais</b>						
	5	299	87,0 (260/299) <sup>a</sup>	51,8 (132/255) <sup>x</sup>	44,1 (132/299) <sup>a</sup>	1,74 ± 0,09 <sup>a</sup>
	8	295	81,7 (241/295) <sup>b</sup>	45,0 (108/240) <sup>y</sup>	36,6 (108/295) <sup>b</sup>	1,13 ± 0,03 <sup>b</sup>
400		201	82,1(165/201)	51,8 (85/164)	42,3 (85/201)	1,17 ± 0,03 <sup>b</sup>
500		197	83,8 (165/197)	44,1 (71/161)	36,0 (71/197)	1,33 ± 0,06 <sup>b</sup>
600		196	87,2 (171/196)	49,4 (84/170)	42,9 (84/196)	1,82 ± 0,12 <sup>a</sup>

As médias ou proporções nas colunas com letras sobreescritas diferentes apresentam diferença estatística (a,b P<0,05; x,y P<0,1)

Não foi verificado efeito da dose de eCG sobre a eficiência dos protocolos empregados. No entanto, quando se analisou o efeito do dia da aplicação do eCG (D5 vs D8), observou-se diferença estatisticamente significativa (Tabela 8). Receptoras

tratadas com eCG no Dia 5 apresentaram maiores taxas de aproveitamento, de concepção e de prenhez. O número de CL e a concentração plasmática de progesterona conforme o grupo experimental estão descritos na Tabela 9.

**Tabela 9.** Número de CL e concentração plasmática de progesterona em receptoras tratadas com dispositivos intravaginais de progesterona (DIB<sup>®</sup>) no Dia 0 e com eCG (Novormon<sup>®</sup>) no Dia 5 ou no Dia 8 do tratamento. Campo Grande – MS, 2004.

Dose	Dia	N	Taxa de concepção (%)	Número de corpos lúteos	Concentração plasmática de P4 (ng/ml)
400	5	36	75,0 (24/36) <sup>a</sup>	1,26 ± 0,09 <sup>bc</sup>	3,53 ± 0,34 <sup>bc</sup>
	8	39	48,7 (19/39) <sup>ab</sup>	1,05 ± 0,04 <sup>c</sup>	2,45 ± 0,26 <sup>c</sup>
500	5	37	43,2 (16/37) <sup>b</sup>	1,58 ± 0,15 <sup>b</sup>	4,33 ± 0,69 <sup>b</sup>
	8	36	38,9 (14/36) <sup>b</sup>	1,06 ± 0,04 <sup>c</sup>	2,56 ± 0,29 <sup>c</sup>
600	5	38	50,0 (19/38) <sup>ab</sup>	2,18 ± 0,27 <sup>a</sup>	6,10 ± 0,98 <sup>a</sup>
	8	36	44,4 (16/36) <sup>b</sup>	1,06 ± 0,04 <sup>c</sup>	3,20 ± 0,34 <sup>bc</sup>
<b>Efeitos principais</b>					
	5	111	55,9 (62/111) <sup>a</sup>	1,69 ± 0,12 <sup>a</sup>	4,68 ± 0,43 <sup>a</sup>
	8	111	44,1 (49/111) <sup>b</sup>	1,06 ± 0,02 <sup>b</sup>	2,73 ± 0,17 <sup>b</sup>
400		75	61,3 (46/75) <sup>c</sup>	1,15 ± 0,05 <sup>b</sup>	2,96 ± 0,22 <sup>b</sup>
500		73	41,1 (30/73) <sup>cd</sup>	1,33 ± 0,08 <sup>b</sup>	3,45 ± 0,38 <sup>b</sup>
600		74	47,3 (35/74) <sup>d</sup>	1,65 ± 0,16 <sup>a</sup>	4,69 ± 0,55 <sup>a</sup>

As médias ou proporções nas colunas com letras sobrescritas diferentes apresentam diferença estatística (a,b P<0,05)

Com o objetivo de analisar o efeito da administração de Progesterona (IM) e de Benzoato de Estradiol (IM) no momento da inserção dos dispositivo intravaginal de progesterona (DIB<sup>®</sup>), nosso grupo de pesquisa (Nasser et al., 2004) comparou receptoras tratadas com 50mg de Progesterona + 2mg de Benzoato de Estradiol com receptoras que receberam apenas 2mg de Benzoato de Estradiol no Dia 0. Também, comparou-se o efeito da administração de 400 UI de eCG no Dia 5 ou no Dia 8. Nesse experimento utilizou-se 300 receptoras nulíparas *Bos taurus taurus* x *Bos taurus indicus*. Verificou-se que a administração de Progesterona (IM) no momento da inserção do dispositivo intravaginal não apresentou efeito positivo na eficiência dos protocolos. No entanto, o dia de aplicação do eCG (D5 vs D8) influenciou na eficiência dos protocolos (Tabela 10). Receptoras tratadas no Dia 5 apresentaram tendência de melhores taxas de prenhez (P=0,1).



**Tabela 10.** Taxas de aproveitamento, de concepção e de prenhez de embriões PIV em receptoras tratadas com dispositivos intravaginais de progesterona (DIB®) e Benzoato de Estradiol (BE; IM) associado ou não à Progesterona (IM) no dia 0 e com a administração de eCG no dia 5 ou no dia 8. Campo Grande – MS, 2003.

Dia 0	ECG	n	Número de CL	Inovuladas/ Tratadas (%)	Prenhas/ inovuladas (%)	Prenhas/ tratadas (%)
BE	Dia 5	75	1,32 ± 0,12 <sup>a</sup>	68/75 (90,7)	38/68 (55,9)	38/75 (50,7)
	Dia 8	75	1,03 ± 0,02 <sup>b</sup>	62/75 (82,7)	30/62 (48,4)	30/75 (40,0)
BE + P4	Dia 5	76	1,37 ± 0,12 <sup>a</sup>	67/76 (88,2)	33/67 (49,3)	33/76 (43,4)
	Dia 8	75	1,22 ± 0,07 <sup>ab</sup>	65/75 (86,6)	31/65 (47,7)	31/75 (41,3)
Efeitos principais						
	Dia 5	151	1,35 ± 0,08 <sup>e</sup>	135/151 (89,4)	71/135 (52,6)	71/151 (47,0) <sup>c</sup>
	Dia 8	150	1,13 ± 0,04 <sup>f</sup>	127/150 (84,7)	61/127 (48,0)	61/150 (40,7) <sup>d</sup>
BE		150	1,19 ± 0,06	130/150 (86,7)	68/130 (52,3)	68/150 (45,3)
BE + P4		151	1,30 ± 0,07	132/151 (87,4)	64/132 (48,5)	64/151 (42,4)

ab, ef Médias nas colunas com letras sobrescritas diferentes diferem estatisticamente (P < 0,05).

cd Médias nas colunas com letras sobrescritas diferentes diferem estatisticamente (P = 0,1)

Seguindo esta mesma linha, num experimento recente (Rodrigues et al., 2004) se comparou a eficácia do tratamento com progesterona (P4) ou Norgestomet (NOR) associado à Valerato de Estradiol (VE) ou a Benzoato de Estradiol (BE) no protocolo para inovulação em tempo fixo. Foram utilizadas 326 novilhas *Bos taurus* x *Bos indicus* inovuladas com embriões PIV. No Dia 0, o Grupo VE+NOR (n=99) recebeu um implante auricular contendo 3mg de NOR juntamente com 5mg de VE e 3mg de NOR IM (Crestar®, Intervet). No Dia 6 administrou-se 500UI de eCG IM (Folligon®, Intervet) e no Dia 9 se removeu os implantes. No Grupo BE+NOR (n=111) se administrou 2mg de BE e 50mg de P4 (Index Farmacêutica) no Dia 0, associado à inserção dos implantes contendo NOR. No Dia 5, injetou-se 500UI de eCG e 150 mg de d-cloprostenol (Preloban®, Intervet). A remoção do implante foi procedida no Dia 8 e no Dia 9 aplicou-se 1mg de BE IM. O Grupo BE+P4 (n=116) recebeu o mesmo tratamento do Grupo BE+NOR exceto pela substituição do implante de NOR por um dispositivo intra-vaginal contendo 1,9g de P4 (CIDR®, Pfizer). O dia do estro foi considerado como Dia 11 para o grupo VE+NOR (em virtude da emergência da onda de crescimento folicular ser adiada em aproximadamente 1 dia com a utilização do VE) e Dia 10 para os demais grupos. Foi procedida a avaliação ultra-sonográfica ovariana no momento da inovulação dos embriões, 9 dias após a retirada dos implantes de P4 ou NOR. Nas receptoras consideradas aptas (CL ≥ 13mm de diâmetro) foi inovulado um embrião produzido *in vitro*. O diagnóstico de gestação foi aferido por ultra-sonografia 23 dias após a TE. Os resultados estão descritos na tabela 11.

**Tabela 11.** Taxas de aproveitamento, de concepção e de prenhez de embriões PIV involuados em receptoras tratadas com Progesterona ou Norgestomet associados à diferentes estrógenos no Dia 0 do protocolo para involução em tempo fixo. São Carlos-SP, 2004.

Grupos	N	Aproveitamento (%)	Concepção (%)	Prenhez (%)	Superovulação (%)	Número de CL	Diâmetro do CL (mm)
VE+NOR	99	72/99 (72,7) <sup>a</sup>	28/72 (38,9)	28/99 (28,3) <sup>a</sup>	36/72 (36,1)	1,7±0,1	18,2±0,4 <sup>a</sup>
BE+NOR	111	94/111 (84,7) <sup>b</sup>	44/94 (46,8)	44/111 (39,6) <sup>b</sup>	39/94 (41,4)	1,8±0,1	20,2±0,6 <sup>b</sup>
BE+P4	116	103/116 (88,8) <sup>b</sup>	41/103 (39,8)	41/116 (35,3) <sup>ab</sup>	49/103 (47,6)	2,0±0,2	19,5±0,5 <sup>ab</sup>

a ≠ b na mesma coluna P<0,05

Com base nos resultados descritos conclui-se que a substituição do VE por BE aumenta a eficiência do tratamento para ITF e que a utilização de P4 ou NOR determinam taxas de aproveitamento, de concepção e de prenhez semelhantes quando se utiliza o BE.

Uma possibilidade prática que pode ser explorada a campo é a utilização de categorias animais diferentes das novilhas nulíparas, como usualmente empregado nos programas de TE. Assim, nos trabalhos de campo da Geraembryo temos empregado o protocolo de ITF (figura 2) em vacas cruzadas paridas, geralmente com bezerros oriundos de TE ao pé, e também em vacas *Bos indicus* paridas como receptoras de embrião. Observa-se os dados de campo nas tabelas 12 e 13.

**Tabela 12.** Taxa de Aproveitamento (aptas à involução/sincronizadas) de receptoras de embriões bovinos submetidas a protocolo com eCG e PGF no dia 5, associado à dispositivos com P4 ou Norgestomet- dados de campo. Cornélio Procópio-PR, 2004.

<i>Categoria Animal</i>	<i>Sincronizadas</i>	<i>Aptas à TE</i>	<i>Taxa de Aproveitamento</i>
Novilhas Cruzadas	1647	1334	80,9%
Vacas Cruzadas Paridas	312	237	75,9%
Vacas Nelore Paridas	246	172	69,9%

**Tabela 13.** Taxa de Concepção de receptoras de embriões bovinos involuadas em tempo fixo de acordo com a categoria animal e embrião – dados de campo. Cornélio Procópio-PR, 2004.

<i>Categoria Animal</i>	<i>Embrião</i>	<i>Taxa de Concepção</i>	<i>Prenhes/ Transferidas</i>
Novilhas Cruzadas	TE	52,8%	250/473
Vacas Cruzadas Paridas	TE	64,4%	76/118
Vacas Nelore Paridas	FIV	35,8%	52/145

O objetivo destas tabelas é demonstrar a viabilidade da utilização de tais categorias animais, geralmente não empregadas como receptoras em detrimento das novilhas. Desta forma, a sincronização destes animais proporciona uma forma eficaz de incrementar os resultados dos programas de TE, sem a necessidade de aquisição de novas receptoras e otimizando a eficiência reprodutiva de todas as fêmeas do rebanho.

Uma possibilidade alternativa para incrementar a progesterona plasmática ( $P_4$ ) é a realização de tratamentos com GnRH, LH, hCG no momento da inovulação para formação de corpos lúteos acessórios (indução da ovulação do folículo dominante da primeira onda de crescimento folicular), ou a suplementação exógena de progesterona liberada por dispositivos intravaginais. O tratamento com hCG no dia 7 do ciclo estral promoveu maior aumento nas concentrações plasmáticas de  $P_4$  e maior duração do ciclo estral que aqueles realizados com GnRH, LH e progesterona em novilhas *Bos taurus* x *Bos indicus* (Marques et al., 2002). Todos esses tratamentos foram testados a campo em novilhas inovuladas com embriões previamente congelados em etileno-glicol. Os resultados seguem na Tabela 14.

**Tabela 14.** Taxa de concepção de receptoras submetidas a diferentes tratamentos (GnRH, hCG, LH e CIDR) no momento da inovulação de embriões congelados em etileno-glicol.

	<b>Controle</b>	<b>GnRH</b>	<b>hCG</b>	<b>LH</b>	<b>CIDR</b>
<b>Taxa de concepção</b>	28,6% <sup>a</sup>	53,5% <sup>b</sup>	51,0% <sup>b</sup>	45,4% <sup>b</sup>	41,1% <sup>b*</sup>
<b>Prenhes/ transferidas</b>	28/98	53/99	49/96	44/97	39/95

a=b na mesma linha (Qui-quadrado;  $P < 0,01$ ); a=b\*;  $P < 0,05$ )

Como se verifica na tabela anterior, todos os tratamentos que objetivavam formar um corpo lúteo acessório e aumentar as concentrações plasmáticas de progesterona apresentaram taxas de concepção superiores àquela do grupo controle.

Em experimento recente com embriões PIV (Rodrigues et al., 2003) foram administrados 100 $\mu$ g de gonadorelina (GnRH) no momento da inovulação em 164 receptoras de embriões *Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*. O Grupo controle (n=232) recebeu solução salina. Verificou-se aumento significativo na taxa de concepção dos animais tratados com GnRH no momento da inovulação (51,2%, 84/164<sup>a</sup> vs 42,2%, 98/232<sup>b</sup>;  $P < 0,05$ ).

Diante dos resultados até aqui expostos, fica evidente que é possível aumentar a taxa de aproveitamento, de concepção e de prenhez em receptoras de embriões com o emprego de fármacos para a sincronização da ovulação para utilização da transferência de embriões em tempo fixo.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Baruselli, P.S., Marques, M.O., Madureira, E.H., Costa Neto, W.P., Grandinetti, R.R., Bo, G.A. Increased pregnancy rates in embryo recipients treated with CIDR-B devices. *Theriogenology*, v. 55, p. 355, 2001 (abst.).

Baruselli, P.S.; Marques, M.O.; Carvalho, N.A.T.; Valentim, R.; Berber, R.C.A.; Carvalho Filho, A.F.; Madureira, E.H.; Costa Neto, W.P. Dinâmica folicular em novilhas receptoras de embrião bovino submetidas à sincronização da ovulação para inovulação em tempo fixo. *Arquivos da Faculdade de Veterinária UFRGS*, v. 28, p. 217, 2000a.

Baruselli, P.S.; Marques, M.O.; Carvalho, N.A.T.; Valentim, R.; Berber, R.C.A.; Carvalho Filho, A.F.; Madureira, E.H.; Costa Neto, W.P. Aumento da taxa de prenhez em receptoras de embrião bovino pela utilização do protocolo "ovsynch" com inovulação em tempo fixo. *Arquivos da Faculdade de Veterinária UFRGS*, v. 28, p. 216, 2000b.

Baruselli, P.S.; Marques, M.O.; Madureira, E.H.; Bó, G.A.; Costa Neto, W.P.; Grandinetti, R.R. Superestimulação ovariana de receptoras de embriões bovinos visando o aumento de corpos lúteos,

concentração de P<sub>4</sub> e taxa de prenhez. Arquivos da Faculdade de Veterinária UFRGS, v. 28, p. 218, 2000c.

Bo, G.A.; Baruselli, P.S.; Moreno, D.; Cutaita, L.; Caccia, M.; Tríbulo, R.; Tríbulo, H.; Mapletoft, R.J. The control of follicular wave development for self-pointed embryo transfer programs in cattle. *Theriogenology*, v. 57, p. 53-72, 2002

Geisert, R.D.; Morgan, G.L.; Short, E.C.; Zavy, M.T. Endocrine events associated with endometrial function and conceptus development in cattle. *Reproduction Fertility and Development*, 4:301-305, 1992.

Hasler JF. Factors affecting frozen and fresh embryo transfer pregnancy rates in cattle. *Theriogenology*, 56: 1401-1415, 2001.

Kerbler, T.L.; Buhr, M.M.; Jordan, L.T.; Leslie, K.E.; Walton, J.S. Relationship maternal plasma progesterone concentration and interferon tau synthesis by the conceptus in cattle. *Theriogenology* 47: 703-714, 1996.

Mann, G.E.; Lamming, G.E.; Fray, M.D. Plasma oestradiol and progesterone during early pregnancy in the cow and the effects of treatment with buserelin. *Animal Reproduction Science* 37: 121-131, 1995.

Mann, G.E.; Lamming, G.E.; Robinson, R.S.; Wathes, D.C. The regulatory of interferon- $\tau$  production and uterine hormone receptors during early pregnancy. *Journal Reproduction and Fertility* 54: 317-328, 1999.

Mann, G.E.; Lamming, G.E. Relationship between amternal endocrine environment early embryo development and inhibition of the luteolytic mechanism in cows. *Reproduction* 121: 175-180, 2001.

Mantovani, A.P., Baruselli, P.S., Bó, G.A., Cavalcante, A.K.S., Gacek, F. Aumento das dimensões do folículo dominante e do corpo lúteo, da concentração plasmática de progesterona e da taxa de aproveitamento de receptoras de embrião bovino sincronizadas com CIDR-B por tempo prolongado. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, 2002 (enviado para publicação).

Marques M.O., Madureira E.H., Bo G.A., Baruselli P.S. Ovarian ultrasonography and plasma progesterone concentration in *Bos taurus* x *Bos indicus* heifers administered different treatments on day 7 of the estrous cycle. *Theriogenology*, v. 57, n. 1, p. 548 (abst.), 2002.

Marques, M.O.; Reis, E.L.; Campos Filho, E P; Baruselli, P.S. Efeitos da administração de eCG e de Benzoato de estradiol para sincronização da ovulação em vacas *Bos taurus taurus* X *Bos taurus indicus* no período pós-parto. In: V SIMPOSIO INTERNACIONAL DE REPRODUCCIÓN ANIMAL, 2003, Huerta Grande. v. 1, p. 392, 2003.

Moura M.T., Marques M.O., Frare J., Madureira E.H., Bó G.A., Baruselli P.S. Sincronização da ovulação com Crestar e Cidr para inovulação de embriões bovinos em tempo fixo. Resúmenes do 4º Simposio Internacional de Reproducción Animal, p. 269, 2001. Huerta Grande, Córdoba, Argentina – 22 a 24 de Junho, 2001.

Nasser, L.F.; Reis, E.L.; Oliveira, M.A.; Bo, G.A.; Baruselli, P.S. Comparison of four synchronization protocols–for fixed time bovine embryo transfer in *Bos indicus* x *Bos taurus* recipients. *Theriogenology* (enviado para publicação).

Nogueira, M.F.G.; Melo, D.S.; Carvalho, L.M.; Fuck, E.J.; Trinca, L.A.; Barros, C.M. Do high progesterone concentrations in embryos recipients synchronized with PGF<sub>2</sub> $\alpha$  and eCG?. *Theriogenology*, 61: 1283-1290, 2004.

Reis, E.L.; Marques, M.O.; Carvalho, N.A.T., Nasser, CL.F.; Costa Neto, W.P.; Baruselli, P.S. Aumento da taxa de concepção em receptoras de embrião bovino com maiores concentrações plasmáticas de progesterona no dia da inovulação. *Acta Scientiae Veterinariae*, 32: 88, 2004.

Reis, E.L. Adequação da dose e do momento da administração de eCG no protocolo de sincronização de receptoras de embrião bovino. (Tese de Mestrado, 2004). Em vias de publicação.

Rodrigues, C.A.; Mancilha, R F; Dalalio, M.; Reis, E.L.; Nichi, M.; Madureira, E. H.; Baruselli, P. S. Aumento da taxa de concepção em receptoras de embriões FIV tratadas com GnRH no momento da inovulação. In: XVII REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE EMBRIÕES, 2003, Fortaleza. *Acta Scietiae Veterinariae*, p. 550-551, 2003.

Spell AR, Beal WE, Corah LR, Lamb GC. Evaluating recipients and embryo factors that affect pregnancy rates of embryo transfer in beef cattle. *Theriogenology*, 56: 287-297, 2001.

Thibier, M. The animal embryo transfer industry in figures: a report from the IETS data retrieval committee. *IETS Newsletter*, v.19, n.4, 2001.

Tribulo H, Bo GA, Gatti G, Tegli JC, Cutaia L, Moreno D, Brito M, Tribulo R. Pregnancy rates in embryo recipients treated with estradiol benzoate and CIDR-B vaginal devices to eliminate the need for estrus detection. 14th International Congress on Animal Reproduction, Stockholm, Sweden, 2000; 2:115 (abstr).

Vasconcelos, J.L.M; Sartori, R.; Oliveira, H.N.; Guenther, J.G.; Wiltbank, M. Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rate. *Theriogenology*; v. 56, p. 307-314, 2001.

Wathes, D.C.; Robinson, R.S.; Mann, G.E.; Lamming, G.E. The establishment of early pregnancy in cows. *Reproduction Domestic Animals* 33: 279-284, 1998.