

O USO DE GnRH PARA FORMAÇÃO DE UM CORPO LÚTEO ACESSÓRIO EM VACAS NELORE

Luiz Augusto Ribeiro

Graduando do curso de Medicina Veterinária – Faculdade de Ciências e Tecnologia de Viçosa- Faviçosa/
Univiçosa
e-mail: uizaugustocr@yahoo.com.br

Luciano Ferreira Chaves Júnior

Graduando do curso de Medicina Veterinária – Faculdade de Ciências e Tecnologia de Viçosa- Faviçosa/
Univiçosa
e-mail: lucianochavesj@gmail.com

Marcelo Dias da Silva

Professor do curso de Medicina Veterinária - Faculdade de Ciências e Tecnologia de Viçosa- Faviçosa/
Univiçosa
e-mail: marcelodias@univicosacom.br

Guilherme Costa Fausto

Professor do curso de Medicina Veterinária - Faculdade de Ciências e Tecnologia de Viçosa- Faviçosa/
Univiçosa
e-mail: guilhermefausto@hotmail.com

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo avaliar a eficácia do uso de GnRH na formação de corpo lúteo acessório em vacas da raça nelore. O projeto foi realizado em uma fazenda de produção de gado de corte na região de Leopoldina em Minas Gerais. Primeiramente os animais foram divididos em 2 grupos: Animais que receberam embriões congelados e os que receberam embriões a fresco. Esses grupos foram subdivididos em os que tiveram presença de folículo dominante e outro com animais sem presença de folículo dominante. Os animais que tinham a presença de folículo dominante, receberam uma dose de GnRH, no dia da inovulação dos embriões. O diagnóstico de gestação para confirmação de prenhez, foi feito após 53 dias da inovulação. Com isso no grupo que recebeu embriões a fresco houve uma resposta de 44%, com a formação do corpo lúteo acessório devido a aplicação do análogo de GnRH acetato de buserelina, contribuindo para que a taxa de prenhez fosse 53%. Os animais que receberam os embriões congelados, não responderam a aplicação do hormônio. Sendo assim não houve diferença estatística entre os grupos que receberam o acetato de buserelina e o grupo controle que não recebeu, em relação a formação de corpo lúteo acessório.

Palavras-chave: Reprodução, Bovinos de corte, Acetato de buserelina, embriões, folículo dominante.

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the efficacy of GnRH in the formation of accessory corpus luteum in Nelore cows. The project was carried out in a farm of cattle production of cut in the region of Leopoldina in Minas Gerais. First the animals were divided into 2 groups: Animals that received frozen embryos and those that received fresh embryos. These groups were subdivided into those with dominant follicle presence and the other with animals with no dominant follicle presence. Animals that had the presence of dominant follicle received a dose of GnRH on the day of embryo innovation. The gestation diagnosis for confirmation of pregnancy was made after 53 days of the innovation. Thus, in the group that received fresh embryos, there was a 44% response, with the formation of the accessory corpus luteum due to the application of the GnRH analogue of buserelin, contributing to the pregnancy rate being 53%. Animals that received the frozen embryos did not respond to the hormone application. Thus, there was no statistical difference between the groups that received buserelin acetate and the control group that did not receive, in relation to the formation of accessory corpus luteum.

Keywords: *Reproduction, Cattle cut, Buserelin acetate, embryos, dominant follicle.*

1- INTRODUÇÃO

Os primeiros relatos sobre fertilização in vitro (FIV) que tiveram um marco histórico, foram realizados da década de 50, onde ocorreu o nascimento de um coelho gerado a partir dessa biotecnologia. Na espécie bovina, a primeira fertilização in vitro ocorreu no Japão da década de 70. No Brasil a primeira produção de embriões comercial in vitro, teve início no ano de 1998, onde ocorreu em parceria de um projeto de inovação tecnológica financiado, pela Fundação de apoio à pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) e pela Empresa Beabisa Agricultura Ltda. O Brasil tem sido fundamental no processo de expansão dessa biotecnologia (BUENO, 2008).

A transferência de embrião é uma das técnicas que juntamente com a fertilização in vitro, contribuem para o melhoramento genético do rebanho brasileiro. Em todo mundo são transferidos mais de 500 mil embriões por ano (SCANAVEZ et al, 2013). Sendo 80% das transferências realizadas no mundo em fêmeas da raça Nelore (VIANA, 2008)

A fecundação in vitro é uma boa opção para produção de embriões bovinos, quando se tem vacas com problemas reprodutivos, ou quando se quer aumentar o número de descendentes (DAYAN, 2001). A alternativa de congelar o embrião é uma forma de ter melhor aproveitamento da fertilização in vitro, principalmente quando o número de receptoras é reduzido (ARAÚJO et al, 2005).

Segundo Andrade e colaboradores

(2001) o crescimento folicular pode ser induzido com o emprego de diferentes hormônios tais como a progesterona, o estradiol e a combinação destes, e também com o GnRH e seus análogos.

O GnRH é sintetizado no hipotálamo e no centro controlador da onda pré-ovulatória, que libera uma grande quantidade hormonal de uma só vez através do sistema porta hipotalâmico-hipofisário estimulando a liberação de Hormônio folículo estimulante (FSH) e Hormônio luteinizante (LH), que chega aos ovários através do sangue, tendo o FSH atuando no desenvolvimento folicular (BURATINI, 2007).

No cenário atual da pecuária no Brasil, muitas fazendas adotam o sistema de estação de monta, ou seja, somente em um período do ano e dada a oportunidade da fêmea ser coberta ou inseminada, geralmente com o intuito de sincronização de partos, para novilha o quanto mais cedo ela atingir a puberdade é mais vantajoso, pois aumentam a performance reprodutivas, e aumentam as chances de reconcepção. Mas para que ela consiga engravidar em sua primeira estação de monta ela deve atingir a puberdade antes da estação de monta (FUNSTON et al, 2012).

No Brasil, a puberdade de fêmeas zebu acontece naturalmente entre a 22-36 meses, assim o primeiro parto das novilhas acontece em torno de 32 a 48 meses de vida (NOGUEIRA, 2015).

Outro fator que é primordial para que as novilhas consigam entrar no período púber, é a alimentação: animais que são bem nutridos nas fases

de cria, e após a desmama, tendem a entrar na puberdade precocemente (GRUNERT & GREGORY, 1984).

O aumento da concentração de P4 sérica tem sido conseguido tanto por indução do aumento da secreção endógena como pela administração exógena de P4. SILVA MOURA (2008) observou que a administração de hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) natural ou de seus agonistas após a inseminação artificial (IA) pode estimular o corpo lúteo e induzir a formação de corpo lúteo acessório, aumentando a concentração de P4 sérica, com consequente efeito positivo na sobrevivência embrionária.

Assim sendo este trabalho teve como objetivo verificar a resposta do uso do análogo do GnRH, no intuito de formar um corpo lúteo acessório, em animais que foram inovulados com embriões congelados e a fresco.

2- MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 - Local do experimento

O experimento foi realizado na fazenda São Pedro, situada no município de Leopoldina, na região da zona da mata de Minas Gerais. No período entre os meses de julho e outubro.

2.2 – Animais utilizados

Foram disponibilizadas 35 vacas e novilhas da raça Nelore, com bom escore corporal variando de 3 a 4 na escala de 1 a 9 segundo Dias (1991) e mantidas a pasto de forrageiras das espécies *Brachiaria decumbens* e *Megathyrsus maximus* (capim Mombaça), com suplementação de sal

mineral proteinado ad libidum. Os animais variaram entre nulíparas, primíparas, pluríparas e todas apresentaram o controle sanitário (vermifugação e vacinas obrigatórias) em dia.

Todas foram pesadas e examinadas por palpação trans-retal e ultrassonografia. Foram selecionados somente animais com aparelho reprodutor íntegro e aptas à reprodução.

2.3 - Tratamentos

As Novilhas, receberam no 1º dia experimental, Do implante de Progesterona (P4) PRIMER® já utilizados por três vezes, pois segundo (COELHO *et al.*, 2012), o uso de elevadas concentrações de P4 pode diminuir a frequência de liberação de hormônios luteinizantes (LH), atrapalhando a ovulação. Os animais também receberam 2 ml de Benzoato de Estradiol RIC-BE®. Após oito dias foram retirados os implantes e foram aplicados: 1,5 ml de Gonadotrofina coriônica equina eCG NOVORMON® 5000UI mais 1 ml de Benzoato de Estradiol RIC-BE® além de 2 ml de Prostaglandina (PGF₂α) Prolise®.

Já as Vacas múltiparas e primíparas, receberam no 1º dia experimental implante de Progesterona (P4) PRIMER® novos ou de segundo uso, que é uma dose suficiente para auxiliar no crescimento folicular, mais 2 ml de Benzoato de Estradiol RIC-BE®. Após oito dias foram retirados os implantes e foram aplicados: 1,5 ml de Gonadotrofina coriônica equina eCG NOVORMON® 5000UI mais 1 ml de Benzoato de Estradiol RIC-BE® além

de 2 ml de Prostaglandina (PGF2 α) Prolise®

No 17º dia experimental, ou seja, D17, foi realizada a transferência de embriões, oriundos de fertilização in vitro de embriões bovinos (FIV), que conta com embriões congelados e embriões frescos. Como Costa (2005) as receptoras foram anestesiadas com 5 ml de lidocaína via epidural, tiveram o reto esvaziado e a vulva limpa com papel toalha. Para descongelar os embriões, cada palheta foi mantida 10 segundos no ar e 20 segundos em banho-maria a 35°C, como foi feito por Serapião e colaboradores em (2005)

2.4 - Delineamento experimental

Os animais foram divididos em 4 grupos, o critério usado foi a presença de um folículo dominante no ovário do dia da inovulação, D17 e o número de partos, sendo fêmeas nulíparas, primíparas e multíparas. Primeiramente os animais foram divididos em 2 grupos: Animais que receberam embriões congelados e os que receberam embriões a fresco. Esses grupos foram subdivididos em os que tiveram presença de folículo dominante e outro com animais sem presença de folículo dominante. Os embriões congelados foram descongelados da seguinte maneira

Os animais que apresentaram folículo dominante com tamanho superior a 11mm, na avaliação do ovário, receberam uma dose do análogo de GnRH, (Acetato de Buserelina) Sincroforte® de 2 ml. Esse processo visa formar a luteinização do folículo dominante formando um corpo lúteo acessório, com o intuito de aumentar a

concentração de progesterona, visando obter uma melhoria no ambiente uterino, evitando assim a perda embrionária, principalmente no período entre 30 a 45 dias.

O diagnóstico gestacional foi feito no D60, juntamente com sexagem fetal, foi usado o ultrassom (Mindray-2200 – DPS – Equipamentos médicos, com transdutor linear de 7.5 MHz).

Para que este estudo pudesse ser realizado, o mesmo foi submetido ao Comitê de Ética com o Uso de Animais da Faculdade de Ciências e Tecnologia de Viçosa – CEPEUA/FAVIÇOSA, sendo aprovado com o número de protocolo 200.2018.01.01.15.03

3 - RESULTADOS E DISCUSSÕES

Por opção de reduzir o número de manejos da fazenda, não foi possível realizar o diagnóstico no D30. Conforme planejado no D60 foi realizado o diagnóstico gestacional, assim observou-se que 44% dos animais que receberam o acetato de buserelina, obtiveram a formação do corpo lúteo acessório, confirmado por avaliação ultrassonográfica. Em seu experimento Harvey e colaboradores (1994) e Mann e Lamming (1995) justificam a formação de um corpo lúteo acessório, devido ao efeito luteotrópico, da buserelina, que foi administrada entre os dias 11 e 13 do ciclo estral, numa dose de 10 mg.

Nos animais que receberam os embriões congelados, não houve resposta, ou seja, não houve a formação de corpo lúteo acessório. Como Barusalli (2003) afirma que nem

Tabela 2 Resultados de animais gestantes

	Total de animais	Animais com FD no dia da inovulação	Animais gestantes com FD na inovulação	Animais gestantes sem FD na inovulação	Animais gestante do touro de repasse	Total de animais gestantes	Porcentagem de prenhez
embriões gelados	18	7	1	4	2	5	28%
embriões fresco	17	9	5	4	2	9	53%

sempre o GnRH consegue chegar ao objetivo de promover a ovulação ou a luteinização do folículo dominante em novilhas. Por volta do dia 16º do ciclo, a presença do embrião é suficiente para inibir a liberação de PGF2 α pelo endométrio, prevenindo a luteólise e a queda na produção de P4, como descreve Sartori (2008).

Pode-se inferir que algum fator externo afetou os resultados com o tratamento de embriões congelados, sendo que a qualidade dos embriões era duvidosa, com histórico de boas taxas de fertilidade e qualidade de embriões, e também por se tratar de embrião congelado e não vitrificado.

As taxas de prenhez do rebanho tiveram uma diferença significativa, como mostra na tabela 2, sendo que dos animais que receberam embriões a fresco, chegaram a uma taxa de 53% enquanto que a taxa total de prenhez em novilhas que receberam embriões congelados foi de 28% sendo que dos 18 animais que foram selecionados a receberem embriões, 7 tinha a presença de folículo dominante no ato da inovulação, sendo assim receberam a dose do hormônio análogo de GnRH. Mas em nenhum animal que recebeu embrião congelado, foi constatado o

corpo lúteo acessório, embora teve uma prenhez confirmada. Dos animais que não receberam o hormônio, 4 ficaram gestantes, sendo 2 prenhez do touro de repasse. Conforme citado por Dayan (2001) a estação do ano pode influenciar nas taxas gestacionais, sendo que alcançaram melhores taxas no verão e no outono, e no inverno o número de cios é menor e a disponibilidade de alimentos é reduzida. Com esses fatores a resposta a prostaglandina (PGF2 α) é diminuída, afetando a qualidade dos corpos lúteos.

Das 17 vacas que receberam embriões a fresco, nove possuíam a presença de um folículo dominante, sendo assim receberam uma dose do análogo de GnRH. Desses nove animais, cinco ficaram gestantes, e apenas um não teve a formação corpo lúteo acessório. Dos oito animais que receberam embriões a fresco e não receberam a dose do hormônio, quatro ficaram gestantes, sendo dois do touro de repasse. Dos 18 animais que receberam embriões congelados, sete tinham a presença de folículo dominante, e receberam uma dose do análogo de GnRH. Desses sete animais, apenas um ficou gestante,

mas nenhum deles tiveram a formação do corpo lúteo acessório. Dos onze restantes, quatro ficaram gestantes, sendo dois do touro de repasse.

Como ressalta Dayan (2001), vários fatores podem influenciar negativamente a sobrevivência e a qualidade do embrião, sendo a temperatura externa no momento da aspiração, e a manipulação dos oócitos na fazenda. Contudo ambientes frios podem causar alterações no citoesqueleto dos oócitos. Assim que os folículos são aspirados, inicia-se a maturação, podendo assim ter danos microscópicos, interferindo nas taxas gestacionais. Outra causa que pode influenciar sobrevivência embrionária antes da inovação é o transporte, podendo ter variações de temperatura, prejudicando a viabilidade dos oócitos.

Foi feita uma análise de custo para viabilidade do trabalho onde os custos de protocolo foram de R\$17,50 por animal, custeado pelo proprietário. Os custos com hormônio foi de R\$6,50 por animal, sendo um total de R\$26,00 por prenhez confirmada. Tornando-se viável a utilização desse método que contribui para reduzir a perda embrionária, segundo a análise de custo de produção de gado de corte feita por Araújo e colaboradores (2012)

4. CONCLUSÃO

Observou-se um efeito satisfatório do hormônio sobre as receptoras que obtiveram os embriões a fresco. Pode-se perceber que o uso deste análogo de GnRH em transferência de embrião pode melhorar as taxas de prenhez em rebanhos bovinos. Seu principal

efeito é aumentar os níveis séricos de progesterona e com isso evitar a perda embrionária aumentando assim de forma significativa a taxa de prenhez em rebanhos bovinos. Sabemos que quanto melhor for a qualidade do corpo lúteo maior será a concentração de progesterona, obtendo assim uma maior concentração de progesterona terá uma melhor qualidade do ambiente uterino, aumentando assim o reconhecimento embrionário e consequentemente aumentando a taxa de prenhez. Porém em relação aos embriões congelados não tivemos resultado satisfatório na formação do corpo lúteo acessório, vários fatores podem influenciar nesse resultado, lembrando-se que pode ter ocorrido a formação do corpo lúteo acessório, porém não foi diagnosticado pois somente foi realizado o diagnóstico gestacional no D60. Fatores como utilização de embriões congelados, qualidade do análogo em resposta, qualidade e tamanho do folículo dominante podem influenciar na resposta do resultado.

5 - REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

ARAÚJO H.S. et al. Aspectos Econômicos da Produção de Bovinos de Corte Trabalho publicado em mar. 2012. Disponível em <<http://www.revistas.ufg.br/index.php/pat/article/download/13840/10449>>. Pesq. Agropec. Trop., Goiânia, jan./mar., 2012, v. 42, n. 1, p. 82-89.

ARAÚJO, M.C.C et al. Secreção de tau-interferon em embriões de bovinos fertilizados in vitro antes

- e depois da criopreservação. *Arq. Bras. Med. Veterinaria e Zootec.* Belo Horizonte, v. 57, n. 6, p. 752-756, Dezembro de 2005. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09352005000600008&lng=en&nrn=iso>. acesso em 16 de maio de 2018. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-09352005000600008>.
- BUENO, A. P. Produção in vitro de embriões bovinos. *Revista científica eletrônica de Medicina Veterinária*, Julho de 2008
- BURATINI JÚNIOR, J. Controle endócrino e local da foliculogênese em bovinos. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, Belo Horizonte, v.31, n.2, p.190-196, abr./jun. 2007.
- BARUSELLI, P.; MARQUES, M.; CARVALHO, N.; BERBER, R.; VALENTIM, R.; CARVALHO FILHO, A.; COSTA NETO, W. Dinâmica folicular e taxa de prenhez em novilhas receptoras de embrião (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*) tratadas com o protocolo “Ovsynch” para inovulação em tempo fixo. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v. 40, n. supl., p. 96-106, 1 jan. 2003.
- COELHO, W.S.; RIBEIRO, A. P.C.; RIBEIRO, G.M. Influência do reaproveitamento de implantes de progesterona nas taxas de gestação de vacas nelore submetidas a protocolo de IATF na região da Amazônia legal. In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO 46 CIENTÍFICA DA UFT, Anais... Palmas, TO: Editora Palmas, 2012
- COSTA, P. V. F da. Transferência de embriões usando a IATF. Centro Regional Universitário, Espírito Santo do Pinhal. São Paulo. P. 84-99, 2005.
- DAYAN, A. Fatores que interferem na produção de embriões bovinos mediante aspiração folicular e fecundação in vitro. Botucatu, 2001. 55p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária, área de Reprodução Animal) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.
- DIAS, F.M.G.N. Efeito da condição corporal razão peso/altura e peso vivo sobre o desenvolvimento reprodutivo pós-parto de vacas de corte zebuínas, 1991, 100f, Dissertação (Mestrado) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- FUNSTON, R. N.; MUSGRAVE, J. A.; MEYER, T. L.; LARSON, D. M. Effect of calving distribution on beef cattle progeny performance. *Journal of animal science*, v. 90, n. 13, p. 5118–21, dez. 2012.
- HARVEY, M.J.A., RENTON, J.P., SALAHEDDINE, M. et al. 1994. Ovarian and clinical response of cattle to busarelin. *Veterinary Records*, 134(2):168-171.
- G.A. Andrade, M.A. Fernandes , R.M. Knychala , M.V. Pereira Junior, A.J.

- Oliveir, D.P. Nunes, G.L. Bonato , R.M. Santos. Fatores que afetam a taxa de prenhez de receptoras de embriões bovinos produzidos in vitro. *Revista Brasileira Reprodução Animal*, Belo Horizonte, v.36, n.1, p.66-69, jan./mar. 2012.
- GRUNERT, E.; GREGORY, M.R. Diagnóstico e terapêutica da infertilidade na vaca. 2 ed. Porto Alegre: Sulina, 1984. p.163
- LAMMING, G.E., MANN, G.E. 1993. Progesterone concentration affects the development of the luteolytic mechanism in the cow. *J. Reprod. Fert.*, Abstract, 11:8-17.
- MACHADO, RUI et al, Estratégias para reduzir a mortalidade embrionária em bovinos. II. Protocolo para reduzir a mortalidade embrionária em vacas de leite e em receptoras de embrião [Recurso eletrônico] / Rui Machado [et al.] __ Dados eletrônicos. __ São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, 2010. <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/871871>
- NOGUEIRA P G et al., Manejo reprodutivo de novilhas em diferentes sistemas de produção. 2015 https://www.researchgate.net/profile/Guilherme_Nogueira/publication/283017473_Manejo_Reprodutivo_de_Novilhas_em_Diferentes_Sistemas_de_Produo/links/5626a25008aeedae57dc7897.pdf
- SAEG Sistema para Análises Estatísticas, Versão 9.1: Fundação Arthur Bernardes - UFV - Viçosa, 2007.
- SARTORI, R.; DODE, M. A. N. Mortalidade embrionária na IA, TE, FIV e clonagem. In: 3º Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada, Londrina- PR, set. 2008.
- SCANAVEZ, A.L.; CAMPOS, C.C.; SANTOS, R.M.. Taxa de prenhez e de perda de gestação em receptoras de embriões bovinos produzidos in vitro. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, Belo Horizonte , v. 65, n. 3, p. 722-728, June 2013 . Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09352013000300017&lng=en&nrm=iso>. Acesso em 16 Maio 2018.
- SERAPIÃO, R.V.; SÁ, W.F.; FERREIRA, A.D. et al. Criopreservação de embriões bovinos produzidos in vitro. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, v.12, n.1/3, p.58-61, 2005
- SILVA MOURA G. Uso de análogo de GnRH após inseminação convencional e com protocolo de IATF em gado mestiço Viçosa-MG 2008 Disponível em <<http://www.locus.ufv.br/bitstream/handle/123456789/5596/texto%20completo.pdf?sequence=1>>
- VIANA JHM. Produção de embriões bovinos in vivo (transferência de embriões - TE) e in vitro (Fecundação in vitro FIV) no Brasil: histórico, cenário atual e perspectivas. In: Simpósio de Reprodução de Bovinos, 1, 2008, Pelotas, RS. Anais... Pelotas: EMBRAPA, 2008. p.48-