



Avaliação de protocolos hormonais para inseminar cabras em tempo fixo³

(Evaluation of hormonal protocols for goats insemination in fixed time)

"Artigo Científico/Scientific Article"

SI Guido^A, FCL Guido^A, EV Nascimento Filho^B, LM Freitas Neto^B, JDR Alves^B,
J Evêncio Neto^C, PF Lima^B, MAL Oliveira^{B(*)}

^AInstituto Agrônomo de Pernambuco (IPA). Av. General San Martin, 1317, Bongi CEP 50.761-000, Recife - PE.

^BLaboratório de Biotécnicas Reprodutivas do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Av. Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, 52171-900, Recife-PE.

^CDepartamento de Morfologia e Fisiologia da UFRPE.

Resumo

Avaliou-se a eficiência de protocolos de sincronização do estro e ovulação de cabras ($n = 60$) tratadas, por nove dias, com dispositivos intravaginais (CIDR) contendo 0,3 mg de P4, novo (CIDR-N) ou reutilizado (CIDR-R) e esponja intravaginal impregnada com 50 mg de acetato de medroxiprogesterona (EI-MAP). As cabras do CIDR-N ($n = 20$), CIDR-R ($n = 20$) e do EI-MAP ($n = 20$) receberam, por via IM no 7º dia, 250 U.I. de eCG e 5,0 mg de dinoprost trometamina. Ainda no 7º dia de iniciado o estro, cinco fêmeas de cada tratamento foram submetidas à laparoscopia para determinar a taxa de ovulação e de todas que ovularam, os ovários foram retirados para avaliação morfológica dos corpos lúteos. A fertilidade foi verificada aos 30 dias por ultrassonografia transretal. Foram verificadas porcentagens de estro de 100% (CIDR-N), 80% (EI-MAP) e 100% (CIDR-R), registrando-se menor taxa ($P < 0,05$) no EI-MAP. A taxa ovulatória média foi de 2,67 (CIDR-N), 2,17 (EI-MAP) e 2,33 (CIDR-R), sendo menor ($P < 0,05$) no EI-MAP em relação ao CIDR-N. Os resultados de prenhez foram de 53,3% (CIDR-N), 40% (EI-MAP) e 46,7% (CIDR-R), havendo diferença ($P < 0,05$) entre CIDR-N e EI-MAP. Os resultados permitem concluir que o protocolo CIDR-N é mais eficiente do que o EI-MAP para sincronizar o estro e a ovulação, bem como para aumentar a taxa ($P < 0,05$) de prenhez de cabras, porém, não é mais eficiente do que o CIDR-R.

Palavras-chave: CIDR, MAP, estro, P4.

Abstract

The efficiency of ovulation and estrous synchronization protocols were evaluated in goats ($n = 60$) treated, during nine days, with intravaginal device (CIDR) containing 0.3 mg P4, new (CIDR-N) or reused (CIDR-R) and intravaginal implant impregnated with 50 mg of medroxiprogesterone (EI-MAP). The goats of CIDR-N ($n = 20$), CIDR-R ($n = 20$) and EI-MAP ($n = 20$) received, IM via on day 7th, 250 UI of eCG and 5.0 mg of dinoprost trometamine. Also on the day 7th after the beginning of estrous, five females of each group were randomly chosen and submitted to a laparoscopy to determine ovulation rate and all goats that ovulated were submitted to an ovariectomy for morphological evaluation of corpus luteum. The fertility was verified by day 30 using transrectal ultrasonography. Were verified estrous percentages of 100% (CIDR-N), 80% (EI-MAP) and 100% (CIDR-R), verifying lower rate ($P < 0.05$) in EI-MAP. The ovulatory average rate was 2.67 (CIDR-N), 2.17 (EI-MAP) and 2.33 (CIDR-R), being lower ($P < 0.05$) in EI-MAP comparing to CIDR-N. The pregnancy results were 53.3% (CIDR-R), 40% (EI-MAP) and 46.7% (CIDR-R), with difference ($P < 0.05$) between CIDR-N and EI-MAP. The results allow concluding that the CIDR-N protocol is more efficient than EI-MAP to synchronize estrous and ovulation, as well as to enhance ($P < 0.05$) pregnancy rate, however it is not more efficient than CIDR-R.

Key-words: CIDR, MAP, estrous, P4.

⁽¹⁾Trabalho extraído da Tese de Doutorado do primeiro autor apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco.

^(*)Autor para correspondência/Corresponding author (maloufrpe@uol.com.br)

⁽³⁾Recebido em 27/11/07 e aceito em 15/05/08.

Introdução

A reprodução assistida, implementada através de biotécnicas que promovem a ocorrência dos eventos reprodutivos em períodos pré-estabelecidos, constitui um pré-requisito para eficiência da produção e da produtividade dos rebanhos caprinos (GUIDO et al., 1999/2003a). Desta forma, a sincronização do estro e da ovulação de fêmeas caprinas utilizando a progesterona ou seus análogos associados a agentes luteolíticos e gonadotrofinas exógenas tem sido empregada e favorecido a adoção de programas de inseminação artificial (IA) e de transferência de embriões (TE) (GUIDO et al., 2003ab/2005).

Por outro lado, a variabilidade das respostas aos protocolos de sincronização do estro e da ovulação (GUIDO et al., 1999; OLIVEIRA et al., 2001; GUIDO et al., 2002) tem evidenciado a necessidade de maximizar a sincronização, principalmente da ovulação para equacionar a relação custo/benefício dos programas reprodutivos (GUIDO et al., 1999), além de possibilitar a inseminação artificial em tempo fixo (IATF). Neste contexto, a resposta ovulatória e a viabilidade do corpo lúteo (CL) respaldam a eficiência dos protocolos hormonais (GUIDO et al., 2008). Portanto, as características morfológicas das células esteroideogênicas luteais evidenciam a capacidade secretória do CL (FIELDS e FIELDS, 1996).

Diante do exposto, objetivou-se avaliar diferentes protocolos de sincronização do estro e da ovulação em cabras submetidas à IATF, constituídos pelo CIDR novo (CIDR-N) e reutilizado (CIDR-R), bem como por esponja intravaginal impregnada com MAP (EI-MAP), associados à eCG e ao dinoprost trometamina.

Material e Métodos

Foram utilizadas 60 cabras cíclicas, mestiças (Saanen vs Boer), com idade de 24 a 36 meses e escore de condição corporal entre 2,5 e 3,5, além de quatro rufiões vasectomizados.

Os animais foram mantidos em sistema semi-intensivo de criação, com pastejo em áreas de forrageiras nativas. Quando estabulados recebiam capim napier triturado, feno de tifton e suplementação com 300g/animal/dia de concentrado protéico, além de terem acesso à mistura mineral e a água *ad libitum*.

Após vaginoscopia, todas as fêmeas receberam 5,0 mg de dinoprost trometamina por via intramuscular (IM) e 72 horas após foram distribuídas aleatoriamente em três tratamentos. As cabras foram tratadas, por nove dias, com dispositivos intravaginais (CIDR) contendo 0,3 mg de progesterona (P4), sendo novo (CIDR-N) ou reutilizado (CIDR-R) e esponja intravaginal impregnada com 50 mg de acetato de medroxiprogesterona (EI-MAP). As cabras do CIDR-N (n = 20), do CIDR-R (n = 20) e do EI-MAP (n = 20) receberam no 7^o dia, por via IM, 250 U.I. de eCG e 5,0 mg de dinoprost trometamina.

Foram sorteadas cinco fêmeas de cada tratamento, sendo a colheita de sangue efetuada em intervalos de 24 horas durante o tratamento, 24 horas após a retirada dos dispositivos intravaginais e no 7^o dia depois do início do estro. Imediatamente após a colheita, o sangue foi centrifugado e o soro sanguíneo criopreservado a -196°C para posterior determinação da concentração de P4 através da técnica de radioimunoensaio.

As observações de estro foram efetuadas, com auxílio de pessoal habilitado, por rufiões vasectomizados, nos períodos da manhã (06:00 às 07:00 horas) e da tarde (17:00 às 18:00 horas), tendo início 12 horas após a retirada dos dispositivos intravaginais. Independente da ocorrência de estro, todas as fêmeas foram submetidas à IATF, por via transcervical, 36 horas depois da retirada dos dispositivos intravaginais. Foi utilizada uma única dose de sêmen congelado contendo 200×10^6 espermatozoides previamente avaliada.

No 7^o dia de iniciado o estro, as fêmeas submetidas à colheita de sangue foram

avaliadas, por laparoscopia, para determinar a taxa de ovulação (TO) e de todas que ovularam, os ovários foram cirurgicamente retirados para avaliação histo-morfológica dos CL, sendo classificados de acordo com critérios estabelecidos por Guido et al. (2003a). Os ovários foram fixados em solução de formol a 10% e após 24 horas foram seccionados e armazenados em álcool a 70%, sendo os espécimes processados conforme Sangha et al. (2002).

A fertilidade foi verificada no 30^o dia através de ultrassonografia transretal e os dados obtidos foram analisados através do teste de χ^2 e do teste de t (Student), considerando-se o nível de significância a 5%.

Resultados e Discussão

Quanto à ocorrência de estro (Tabela 1), não foi evidenciada diferença entre as cabras tratadas com o CIDR-N e o CIDR-R, todavia, os resultados de ambos os tratamentos foram superiores ($P < 0,05$) aquele observado nas fêmeas tratadas com o EI-MAP. As respostas são semelhantes às observadas por Guido et al. (2000), Soares et al. (2001) e Oliveira et al. (2001) utilizando o CIDR-N e as de Guido et al. (1999/2005) com o CIDR-R. Porém, Motlomelo et al. (2002) ao compararem protocolos compostos pelo CIDR e esponjas vaginais impregnadas com 60 mg de MAP ou com 40 mg de FGA, afirmaram que os protocolos se equivalem na sincronização do estro de cabras. É oportuno esclarecer que a duração do tratamento foi de 16 dias, sendo superior em sete dias aos protocolos avaliados neste trabalho. Portanto, é possível cogitar que protocolos constituídos com esponjas vaginais impregnadas com MAP necessitam de períodos mais longos de tratamento, haja vista que 20% das cabras do TII não evidenciaram estro.

O intervalo entre o final do tratamento

e o início do estro nas fêmeas tratadas com o CIDR-N e o CIDR-R foi inferior ($P < 0,05$) ao daquelas tratadas com EI-MAP, as quais iniciaram o estro no período de $36 \pm 4,6$ horas após a sua retirada (Tabela 1). Estes achados corroboram os de Rubianes et al. (1998) e os de Guido et al. (1999/2005) quando utilizaram o CIDR. Todavia, observou-se, nos três tratamentos, uma ocorrência de estro concentrada, com intervalo de 24 a 36 horas após a retirada dos dispositivos intravaginais. É possível admitir, conforme relatam Guido et al. (1999), que esta sincronia seja devido à ação do eCG que, por estimular o crescimento folicular, eleva as concentrações sanguíneas de estradiol.

Entretanto, considerando o intervalo entre o final do tratamento e o início do estro observado em todos os tratamentos, pode-se admitir que taxas de prenhez mais elevadas podem ser obtidas se a IA for realizada em intervalo superior a 36 horas. Lehloenya et al. (2005) obtiveram taxas de prenhez de 52% e 53% quando inseminaram cabras com intervalos, respectivamente, de 48 e 60 horas após a retirada do progestágeno.

Quanto à duração média do estro (Tabela 1) foi registrado um período mais curto ($P < 0,05$) nas fêmeas do CIDR-N do que naquelas tratadas com EI-MAP e CIDR-R, as quais evidenciaram estro em período idêntico. Essa menor duração observada no CIDR-N pode ter ocorrido em consequência de uma maior disponibilidade de P4, que favoreceu o surgimento antecipado do pico pré-ovulatório de LH.

Em relação a TO, foi registrada diferença ($P < 0,05$) entre o CIDR-N e o EI-MAP (Tabela 1). Estes resultados são semelhantes aos de Rubianes et al. (1998) e Guido et al. (2002/2005) com CIDR, entretanto, são superiores aos evidenciados por Soares et al. (2001), também utilizando o CIDR.

Tabela 1 – Ocorrência de estro e ovulação de cabras sincronizadas com CIDR-N, EI-MAP e CIDR-R.

Grupos	Fêmeas (n)	Ocorrência n (%)	Estro		Taxa de ovulação $\bar{x} \pm s$
			FT e IE (horas) $\bar{x} \pm s$	Duração (horas) $\bar{x} \pm s$	
CIDR-N	20	20 (100) ^a	24 ± 3,6 ^a	30 ± 4,5 ^a	2,67 ± 0,67 ^a
EI-MAP	20	16 (80) ^b	36 ± 4,6 ^b	36 ± 4,6 ^b	2,17 ± 0,67 ^b
CIDR-R	20	20 (100) ^a	24 ± 4,8 ^a	36 ± 4,8 ^b	2,33 ± 0,78 ^{ab}

^{a,b}Letras diferentes na mesma linha significam diferença estatística ($P < 0,05$).

FT = Final do tratamento; IE = Início do estro.

Quanto às concentrações plasmáticas de P4 registradas durante o tratamento com o CIDR-N (Figura 1) aumentaram rapidamente após a inserção do dispositivo e se mantiveram elevadas, com pequenas variações durante o tratamento. Um padrão similar de concentração de P4 durante o tratamento com o CIDR foi registrado por Motlomelo et al. (2002) e Guido et al. (2007). Nas fêmeas do EI-MAP, a concentração dessa substância hormonal não foi aferida, todavia, Motlomelo et al. (2002) verificaram baixa concentração

de P4 no período em que as fêmeas recebiam MAP e FGA. Com relação a cabras tratadas com CIDR-N foi observado um padrão de P4 ligeiramente inferior as fêmeas do CIDR-N (Figura 1), porém, este dispositivo intravaginal mantém uma capacidade de liberação contínua de P4 próxima àquela do CIDR-N. Este fato já havia sido preconizado por Guido et al. (1999) e também avaliado por Guido et al. (2007), quando obtiveram 100% de ocorrência de estro em cabras sincronizadas com a reutilização do CIDR.

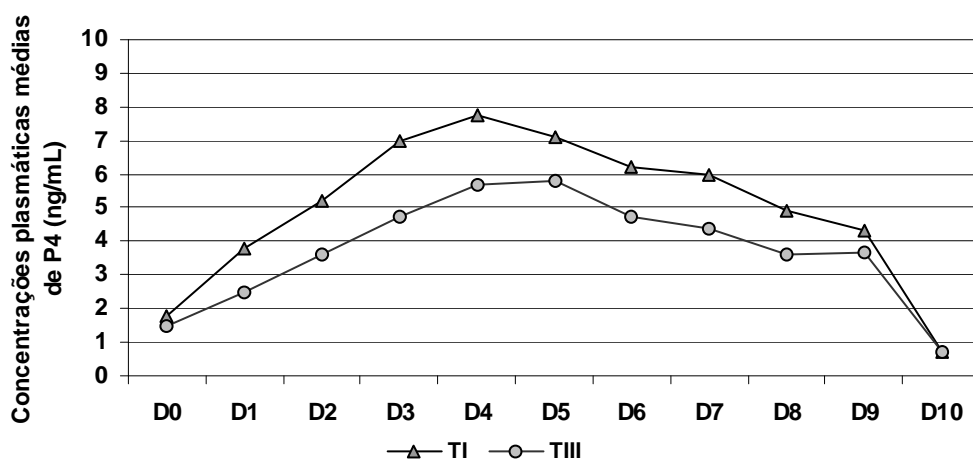


Figura 1 – Concentrações plasmáticas médias de P₄ durante o tratamento com CIDR novo (TI) e reutilizado (TIII).

Quanto à avaliação morfológica dos CL foi verificada uma taxa de ovulação superior à obtida através da avaliação laparoscópica (Tabela 2), registrando-se valores superiores ($P < 0,05$) nos tratamentos CIDR-N e CIDR-R em relação ao EI-MAP. Este fato respalda o uso dos tratamentos CIDR-N e CIDR-R nos protocolos de preparação de fêmeas receptoras. Armstrong

et al. (1983) observaram que a sobrevivência embrionária aumenta progressivamente com o aumento da TO em receptoras caprinas. Todavia, Guido et al. (2003a) concluíram que ao contrário da TO, o tamanho do CL exerce influência sobre a taxa de prenhez de receptoras caprinas. Porém, se for considerado que a influência da TO sobre a sobrevivência embrionária está relacionada com as

concentrações plasmáticas de P4 das receptoras (ARMSTRONG et al., 1983), os resultados do EI-MAP respaldam sua

utilização, tendo em vista que não houve diferença entre os tratamentos testados neste experimento.

Tabela 2 – Taxa de ovulação pós-seção (TO-OS), diâmetro médio dos corpos lúteos (CL) e concentração de P4 de cabras sincronizadas com CIDR-N, EI-MAP e CIDR-R.

Tratamentos	TO-PS ovariana $\bar{x} \pm s$	Diâmetro do CL (mm) $\bar{x} \pm s$	Concentrações Plasmáticas de P ₄ $\bar{x} \pm s$
CIDR-N	3,75 ± 1,25 ^a	9,75 ± 2,75 ^a	3,95 ± 0,60 ^a
EI-MAP	2,17 ± 1,10 ^b	8,25 ± 2,25 ^a	ND*
CIDR-R	3,50 ± 1,50 ^a	9,50 ± 1,50 ^a	3,58 ± 0,95 ^a

^{a,b}Letras diferentes na mesma linha significam diferença estatística ($P < 0,05$).

*Não determinada.

Na avaliação histológica ficou evidente a capacidade secretória dos CL formados nos três tratamentos, onde foi comprovada a presença abundante de células luteínicas da granulosa com características bem definidas, com núcleo repleto de eucromatina e vários nucléolos. Sendo ainda, observadas as células luteínicas da teca e uma infinidade de outras células não-esteroidogênicas, infiltradas por tecido conectivo (Figura 2AB), conforme relataram

Lei et al. (1991), bem como Arikan e Yigit, (2003) em outras fases do ciclo estral da cabra. Entretanto, nos corpos lúteos do EI-MAP foi notada uma discreta redução na porcentagem de células luteínicas da granulosa, bem como um maior espaço intercelular ocupado por tecido conectivo (Figura 2B) que sugere uma diminuição da sua capacidade esteroidogênica, segundo estudos conduzidos por Sangha et al. (2002).

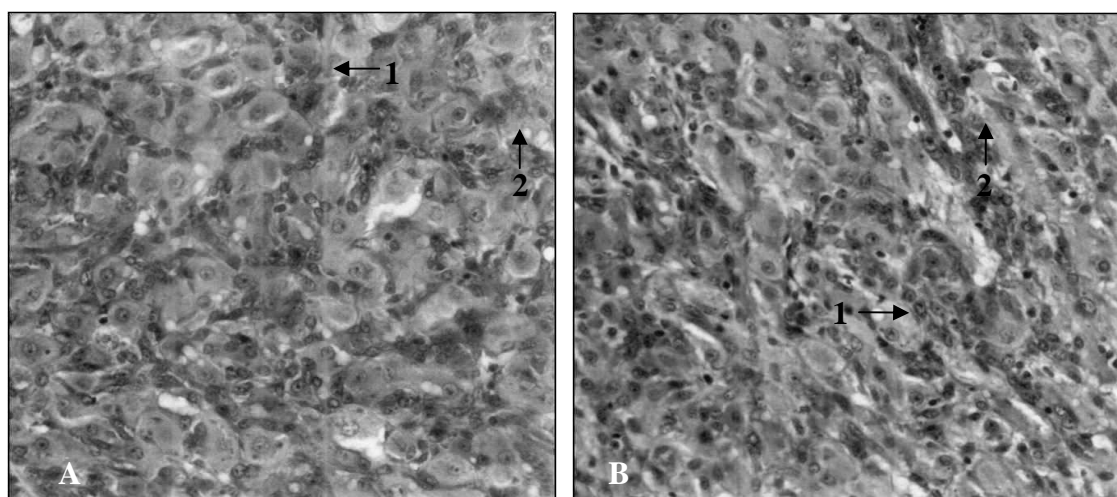


Figura 2 - Corpos lúteos de cabras tratadas com CIDR (A) e com MAP (B), compostos por células luteínicas da granulosa (1) e células luteínicas da teca infiltradas por tecido conectivo (2).

Os resultados de prenhez no 30^o dia foram de 53,3% (CIDR-N), 40,0% (EI-MAPI) e 46,7% (CIDR-R). Considerando a utilização de sêmen congelado e o tipo de IA realizada, os resultados são classificados como

satisfatórios, especialmente no TI, haja vista, ter sido superior ($P < 0,05$) aos do EI-MAPI e CIDR-R. Mesmo utilizando sêmen congelado os resultados obtidos nos três tratamentos foram superiores aos verificados por

Motlomelo et al. (2002) que utilizaram sêmen fresco em cabras submetidas a protocolos de sincronização correlatos.

Os resultados permitem concluir que o protocolo CIDR-N é mais eficiente do que o EI-MAP para sincronizar o estro e a ovulação, bem como aumentar a taxa de prenhez de cabras, contudo, não é mais eficaz do que o CIDR-R.

Referências

- ARIKAN, S.; YIGIT, A.A. Changes in the size distribution of goat steroidogenic luteal cells during pregnancy. **Small Ruminant Research**, v.47, n.2, p. 227-231, 2003.
- ARMSTRONG, D.T. et al. Superovulation treatments and embryo transfer in Agora goats. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 67, p. 403-410, 1983.
- FIELDS, M. J.; FIELDS, P. A. Morphological characteristics of the bovine corpus luteum during the estrous cycle and pregnancy. **Theriogenology**, v.45, n.7, p.1295-1325, 1996.
- GUIDO, S.I. et al. Reutilização do controlled internal drug release (CIDR) e do programa syncro-mate-B para sincronizar o estro de cabras Saanen. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.23, n.3, p.367-369, 1999.
- GUIDO, S.I. et al. Diferentes protocolos para induzir e sincronizar o estro de cabras leiteiras. **Arquivos da Faculdade de Veterinária UFRGS**. v.28, p.268, 2000.
- GUIDO, S.I. et al. Resposta ovulatória de receptoras caprinas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Supl. 5, p.124-127, 2002.
- GUIDO, S.I. et al. Influência climática sobre a taxa ovulatória de receptoras caprinas In: IV Simpósio de Pesquisa e Pós-Graduação da UFRPE, 2003, Recife. **Anais...** Imprensa Univ. UFRPE, 2003a.
- GUIDO, S.I. et al. Avaliação de corpos lúteos de receptoras caprinas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.27, n.3, p.491-492, 2003b.
- GUIDO, S.I. et al. Protocolos de sincronização do estro e da ovulação em receptoras caprinas. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.33, p.250, 2005.
- GUIDO, S.I. et al. Avaliação da concentração de P4 utilizando CIDR novo e reutilizado em protocolos de sincronização do estro e da ovulação em cabras. **Medicina Veterinária**, v.1, p.66-68, 2007.
- GUIDO, S.I. et al. Estimativa da resposta ovulatória através da ultra-sonografia transretal em cabras submetidas à sincronização do estro e da ovulação. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.36, p.584-584, 2008.
- LEHLOENYA, K.C. et al. Reproductive performance of South African indigenous goats following oestrous synchronisation and AI. **Small Ruminant Research**, v.57, n.1, p. 115-120, 2005.
- LEI, Z.M. et al. Quantitative cell composition of human and bovine corpora lútea from various reproductive states. **Biology of Reproduction**, n.44, p.1148-1156, 1991.
- MOTLOMELO, K.C. et al. Synchronisation of oestrus in goats: the use of different progestagen treatments. **Small Ruminant Research**, v.45, n.1, p.45-49, 2002.
- OLIVEIRA, M. A. L. et al. Comparison of different protocols used to induce and synchronize estrus cycle of Saanen Goats. **Small Ruminant Research**, v.40, n.3, p.149-153, 2001.
- RUBIANES, E. et al. Estrous response after a short progesterone priming in seasonally anestrous goats. **Theriogenology**, v.49, n.1, p. 356, 1998.
- SANGHA, G.K. et al. Biology of corpus luteum in small ruminants. **Small Ruminant Research**, v.43, n.1, p.53-64, 2002.
- SOARES, A.T. et al. Sincronização do estro e taxa de ovulação em receptoras de embriões caprinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.25, n.1, p.350-351, 2001.