

FERTILIDADE DE VACAS E NOVILHAS LEITEIRAS INSEMINADAS NO CIO INDUZIDO COM MINI-DOSE DE CLOPROSTENOL APLICADA PELA VIA INTRAMUSCULAR⁽¹⁾

RAFAEL HERRERA ALVAREZ⁽²⁾, JULIANA RODRIGUES POZZI ARCARO⁽²⁾, GLAUCIA MARIA BOVI AM-BROSANO⁽³⁾ e CYRO FERREIRA MEIRELLES⁽⁴⁾

RESUMO: Foi estudada a fertilidade de 19 vacas e 17 novilhas das raças Holandesa e Schwyz, inseminadas no cio natural ou induzido com cloprostenol. As fêmeas receberam uma injeção por via intramuscular (i.m.) de 0, 125 e 500 µg de cloprostenol no 10º dia do diestro. Dos animais tratados com 500 µg e 125 µg, 84,6% e 76,9% respectivamente, manifestaram cio no período de seis dias ($P > 0,05$). Todos os animais inseminados apresentaram níveis de progesterona plasmática inferiores a 1 ng/ml no momento da inseminação. Não foi observada diferença estatisticamente significativa na taxa de prenhez para os tratamentos controle, 125 e 500 µg (50%, 53,9% e 80%, respectivamente). Esses resultados sugerem que um quarto da dose convencional de cloprostenol, aplicada por via i.m., pode ser utilizada para provocar luteólise e cio fértil em vacas e novilhas leiteiras.

Termos para indexação: PGF_{2α}, cloprostenol, mini-dose, luteólise, cio, fertilidade, vacas e novilhas leiteiras.

Fertility of dairy cows and heifers inseminated after oestrus induction by a cloprostenol mini-dose injected intramuscularly

SUMMARY: Fertility following insemination at spontaneous or cloprostenol induced oestrus was studied in 19 dairy cows and 17 dairy heifers. Females received intramuscularly (i.m.) one injection of 0, 125 and 500 µg of cloprostenol 10 days post-oestrus. From the animals treated with 500 µg and 125 µg, 84.6% and 76.9% showed oestrus in a 6 days period ($P > 0.05$). At the time of insemination, all females showed serum progesterone lower than 1 ng/ml. The pregnancy rate was not statistically different in the control, 125 and 500 µg treated animals (50%, 53.9% and 80.0% respectively). These results suggest that one fourth of the conventional cloprostenol dose, injected by in route, can induce fertile oestrus in dairy cycling cows and heifers.

Index terms: PGF_{2α}, cloprostenol, mini-dose, luteolisis, oestrus, fertility, dairy cows and heifers.

(1) Projeto IZ 14-029/88. Recebido para publicação em fevereiro de 1991.

(2) Seção de Reprodução e Inseminação Artificial. Divisão de Técnica Básica e Auxiliar.

(3) Seção de Estatística e Técnica Experimental. Divisão de Técnica Básica e Auxiliar.

(4) Departamento de Zoologia. ESALQ/USP.

INTRODUÇÃO

As propriedades luteolíticas da prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) e análogos sintéticos têm sido aproveitadas na espécie bovina, tanto em medicina veterinária, no tratamento eficaz de problemas reprodutivos relativos a metrites, cistos ovarianos, aborto eletivo, indução do parto, etc. (PAISLEY et al., 1986), como em zootecnia, no planejamento da inseminação de um ou mais animais visando a programação de nascimentos em datas prefixadas, atendendo interesses de ordem técnica ou econômica (ALVAREZ & CASTRO, 1989). O emprego da $PGF_{2\alpha}$ e análogos sintéticos ainda viabiliza a sincronização do cio entre receptoras e doadoras em programas de transferência de embriões.

O maior limitante para o uso rotineiro dessas substâncias está no custo relativamente elevado da dose convencional, aplicada pela via intramuscular (i.m.). Em função disso, diversos trabalhos foram realizados visando a possibilidade de induzir o cio e a ovulação utilizando doses reduzidas de $PGF_{2\alpha}$ ou análogos sintéticos aplicados pela via intrauterina (TERVIT et al., 1973; INSKEEP, 1973), subcutânea (PETERS, 1984) e mucosa vulvar (ONO et al., 1982; HORTA et al., 1986; CHAHUAN et al., 1986; CORDOVA et al., 1990). Nesses trabalhos foi mostrado que a luteólise e o cio fértil podem ser obtidos com um quarto da dose convencional aplicada por via diferente da intramuscular. Em recente estudo, ALVAREZ et al. (1989), mostraram que uma mini-dose de cloprostenol aplicada pela via i.m. foi eficaz em provocar luteólise e cio em fêmeas ciclando normalmente mas não foi avaliada a fertilidade.

O presente trabalho objetivou avaliar a fertilidade do cio induzido com um quarto da dose convencional de cloprostenol aplicado pela via i.m. em vacas e novilhas leiteiras.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente experimento foi realizado na Unidade de Produção de Leite "Palmeiras" da Divisão de Bovinos Leiteiros do Instituto de Zootecnia, Nova Odessa, SP., nos meses de janeiro a maio de 1990.

Utilizaram-se 36 animais das raças Holandesa varietal Vermelha e Branca e Schwyz, sendo dezoito vacas em diferentes estágios de lactação, pesando em média $475 \pm 82,8$ kg e dezessete novilhas púberes com peso médio de $393 \pm 58,7$ kg, manejadas em sistema de semi-confinamento em pastos de capim colômbio (*Panicum maximum*, Lin.) e suplementadas com silagem de milho e concentrado para cobrir suas necessidades nutricionais. Os animais foram tratados ao acaso com injeção intramuscular de cloprostenol (Lab. Cooper's, Brasil) e solução salina (testemunha), conforme quadro 1.

Quadro 1. Distribuição dos animais tratados por via intramuscular com cloprostenol (500 μ g e 125 μ g) e solução salina (2ml)

Tratamento	Vacas	Novilhas	Total
Sol. salina	5(5 Sch)	5(3 HVB e 2 Sch)	10
125 μ g	7(3 HVB e 4 Sch)	6(3 HVB e 3 Sch)	13
500 μ g	7(3 HVB e 4 Sch)	6(1 HVB e 5 Sch)	13
Total	19	17	36

O início dos tratamentos foi realizado no décimo dia, considerando como referência o último cio natural. O exame por palpação retal momentos antes do tratamento permitiu verificar a presença de um corpo lúteo em todos os animais. A inseminação artificial (IA) foi realizada no final do cio induzido ou natural (testemunha), o qual foi detectado com o auxílio de rufião. Amostras de sangue foram coletadas no início dos tratamentos, no momento da IA e 21 dias após a mesma. O tempo consumido no processo da coleta de sangue da veia jugular (tubos vacutainer de 20 ml, B & D) centrifugação (2000 rpm), recuperação e estocagem do plasma a -20°C , foi inferior a 60 minutos.

A dosagem de progesterona foi realizada no C.E.N.A.⁽¹⁾ através de radioimunoensaio (RIA) em fase sólida utilizando kits fornecidos pela FAO/IAEA, Animal Production and Health Section da IAEA, Applications Laboratory, Seibersdorf, Áustria. Os coeficientes de variação intra-ensaio e entre-ensaios foram 7,1% e 9,2% respectivamente.

Considerou-se luteólise completa quando os valores de progesterona no momento da IA foram inferiores a 1 ng/ml.

Os dados concernentes à fertilidade foram analisados pelo teste exato de Fisher. Quando se comparou o intervalo entre a aplicação dos tratamentos e a manifestação do cio considerou-se um esquema fatorial, empregando-se o peso do animal como covariável.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No início dos tratamentos, dois animais (1 do tratamento 500 μ g e 1 do tratamento 125 μ g) apresentaram níveis de progesterona plasmática inferiores a 1 ng/ml, sendo excluídos da análise da resposta luteolítica. A evidência de um corpo lúteo funcional nos outros animais ficou estabelecida pela presença de níveis mínimos de progesterona de 1,5 ng/ml e máximos de 8,0 ng/ml com média de 3,2 ng/ml.

Vinte e um (80,8%) dos animais injetados com cloprostenol manifestaram cio nos seis dias posteriores ao tratamento sendo 11 (84,65%) do tratamento 500 μ g e 10 (76,9%) do tratamento 125 μ g ($P > 0,05$) (quadro 2)

(1) Centro de Energia Nuclear na Agricultura, USP. Piracicaba, SP.

Quadro 2. Manifestação do cio até 6 dias após tratamento de cloprostenol segundo a raça e categoria dos animais (%)

Tratamento	Raça		Categoria		Total
	Schw	HVB	Vaca	Novilha	
Sol. salina	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a
125 µg	71,4 b	83,3 b	57,1 b	100 b	76,9 b
500 µg	100 b	50,0 b	71,4 b	100 b	84,6 b

Valores seguidos de mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Fisher ($P < 0,05$).

O intervalo médio entre a aplicação do cloprostenol e a manifestação do cio foi de 3,48 dias, com variação de 2 a 6 dias. A maior concentração de cios (80%) se deu no período entre 2 e 4 dias, não existindo diferença entre os tratamentos de 500 µg ($\bar{x} = 3,45$ dias) e 125 µg ($\bar{x} = 3,50$ dias). Nenhum dos animais testemunhas apresentou cio nesse período. Esses dados concordam com os descritos por RENEGAR et al. (1978) e WATTS & FUQUAY (1985), em vacas ($\bar{x} = 73$ horas) e novilhas ($\bar{x} = 70,5$ horas) leiteiras tratadas com PGF_{2α} natural. O atraso de alguns animais em manifestar cio pode ser atribuído à imprecisão da observação do cio de referência, pois WATTS & FUQUAY (1985), mostraram em novilhas leiteiras que a manifestação do cio após a aplicação de PGF_{2α} é dependente do momento do diestro em que foi aplicada a PGF_{2α}.

Não foi evidenciada diferença entre as raças para os diferentes tratamentos (quadro 2). Quando analisadas as categorias de animais, observa-se que a manifestação do cio deu-se em 100% das novilhas e 64,3% das vacas ($P < 0,05$). Essa maior sensibilidade das novilhas ao cloprostenol contradiz as observações prévias de PADILLA & DIAS (1975), os quais observaram respectivamente 100% e 93% de cio em vacas e novilhas de diferentes raças tratadas com o PGF_{2α} natural. Da mesma forma, HANSEN et al. (1987), utilizando animais brahman, observaram uma maior sensibilidade das vacas em relação às novilhas ao análogo de PGF_{2α} alfaprostol, os resultados entretanto, não foram estatisticamente significativos.

Todos os animais que manifestaram cio natural ou induzido apresentaram níveis de progesterona inferiores a 1 ng/ml no momento da inseminação, evidenciando a ação luteolítica dos tratamentos de cloprostenol. Não foi observado nenhum caso de luteólise incompleta relatado por STEVENSON et al. (1987) e ALVAREZ et al. (1989) em determinados animais tratado com PGF_{2α} natural ou cloprostenol na dose convencional ou mini-dose.

A taxa de prenhez, diagnosticada por palpação retal 90 dias após a inseminação, foi de 53,8% e 80,0% para os tratamentos de 500 µg e 125 µg respectivamente ($P > 0,05$). Não foi observada diferença significativa em relação aos animais inseminados no cio natural (50,0%) (quadro 3).

Quadro 3. Taxa de prenhez a 21 dias e a 90 dias após a inseminação no cio natural ou induzido com cloprostenol

Tratamento	Nº de animais	Progesterona a 21 dias (> ng/ml)	Prenhes a palpação (90 dias)
Cio natural	10	7	5 (50,0%) a
125 µg	10	8	8 (80,0%) a
500 µg	11	8	6 (53,8%) a

Valores seguidos de mesmas letras, não diferem entre si pelo teste de Fisher ($P < 0,05$).

Dos animais diagnosticados vazios, três do tratamento de 500 µg e três dos testemunhas não retornaram ao cio e apresentaram níveis elevados de progesterona vinte e um dias após a inseminação. Nesses animais houve a possibilidade de ter ocorrido mortalidade embrionária nesse período ou algum tipo de anomalia ovariana (corpo lúteo persistente). Não foi observada diferença entre os fatores raça e categoria de animais (quadro 4).

Quadro 4. Fertilidade do cio natural e induzido com cloprostenol em função da raça e categoria dos animais (%)

Tratamento	Raça		Categoria	
	Schw	HVB	Vaca	Novilha
Cio natural	57,1 a	33,3 a	40,0 a	60,0 a
125 µg	80,0 a	80,0 a	60,0 a	100 a
500 µg	55,5 a	50,0 a	60,0 a	50,0 a

Valores seguidos de mesmas letras, não diferem entre si pelo teste de Fisher ($P < 0,05$).

CONCLUSÃO

1. Pelos resultados observados no presente estudo, pode-se concluir que doses reduzidas de cloprostenol aplicadas pela via i.m. provocam luteólise e sincronização do cio em animais com corpo lúteo funcional. Igualmente, a fertilidade do cio induzido com um quarto da dose convencional de cloprostenol é comparável à obtida no cio natural em vacas e novilhas leiteiras.

AGRADECIMENTOS

À Agência Internacional de Energia Atômica, Viena, Áustria, pelo fornecimento dos kits de progesterona. Igualmente, aos senhores Pedro Joaquim da Silva e Edmar Rodrigues Dagrella pelas inseminações e cuidados com os animais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVAREZ, R.H. & CASTRO JR., F.G. Sincronização do cio em bovinos. Nova Odessa, SP, Instituto de Zootecnia, 1989. 10 p. (Boletim Técnico, 32).
- ; MEIRELLES, C.F.; OLIVEIRA, J.V.; POZZI, J.R. & CASTRO JR., F.G. Indução do cio e luteólise em novilhas tratadas com uma mini-dose de cloprostenol administrada pela via intramuscular ou intravulvo-submucosa. B. Indústr. anim., Nova Odessa, SP, 46(1):37-44, 1989.
- CORDOVA, S.A.; JIMENEZ, F. K. & VILLA-GODOY, A. Intravulvo submucosal injections of luprostiol may reach corpora lutea by a local, unilateral pathway in cattle. Theriogenology, Los Altos, CA, 33(1):207, 1990.
- CHAUHAN, F.S.; MGONGO, F.O.K.; KESSY, B.M. & GOMBE, S. Effects of intravulvo-submucosal cloprostenol injections on hormonal profiles and fertility in subestru cattle. Theriogenology, Los Altos, CA, 26(1):69-75, 1986.
- HANSEN, T.R.; RANGEL, R.D.; SEGERSON JR., E.C.; RUTTJER, L.M. & HARMS, P.G. Corpus luteum function following spontaneous or prostaglandin-induced estrus in brahman cows and heifers. J. Anim. Sci., Albany, NY, 65(2):524-33, 1987.
- HORTA, A.E.M.; COSTA, C.M.S.G.; ROBALO SILVA, J. & RIOS VASQUES, M.I. Possibility of reducing the luteolytic dose of cloprostenol in cyclic dairy cows. Theriogenology, Los Altos, CA, 25(2):291-301, 1986.
- INSKEEP, E.K. Potencial uses of prostaglandins in control of reproductive cycles of domestic animals. J. Anim. Sci., Albany, NY, 36(6):1149-57, 1973.
- ONO, H.; FUKUI, Y.; TERAWAKI, Y.; OHBOSHI, K. & YAMASAKI, D. An intravulvosubmucous injection of prostaglandin F2 in anoestrus cows. Anim. Reprod. Sci. Amsterdam, 5(1):1-5, 1982.
- PADILLA, E.G. & DIAS, R.R. Utilización de prostaglandina F2 para sincronizar el estro en bovinos. Téc. Pecu., México, 29:16-20, 1975.
- PAISLEY, L.G.; MICKELSEN, W.D. & ANDERSON, P.E. Mechanisms and therapy for retained fetal membranes and uterine infections of cows: a review. Theriogenology, Los Altos, CA, 25(3):353-81, 1986.
- PETERS, A.R. Luteolysis in cows using the prostaglandin F2 analogue, tiaprost, and the effect of mode of administration. Vet. Rec., 114(17):418-21, 1984.
- RENEGAR, R.H.; HAFS, H.D.; BRITT, J.H. & CARRUTHERS, T.D. Luteolysis, growth hormone, glucocorticoids, prolactin and milk production in lactating dairy cows given prostaglandin F2. J. Anim. Sci., Albany, NY, 47(2):532-7, 1978.
- STEVENSON, J.S.; LUCY, M.C. & CALL, E.P. Failure of timed inseminations and associated luteal function in dairy cattle after two injections of prostaglandin F2-alpha. Theriogenology, Los Altos, CA, 28(6):937-46, 1987.
- TERVIT, R.; ROWSON, L.E.A. & BRAND, R. Synchronization of oestrus in cattle using a prostaglandin F2 alpha analogue (IC 79937). J. Reprod. Fertil., Cambridge, 34(1):179-81, 1973.
- WATTS, T.L.; FUQUAY, J.W. Response and fertility of dairy heifers following injection with prostaglandin F2 during early middle or late diestrus. Theriogenology, Los Altos, CA, 23(4):655-61, 1985.