

DANIEL DE CASTRO BURGOS

**AVALIAÇÃO DE SISTEMAS DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL
COM OBSERVAÇÃO DE ESTRO OU EM TEMPO FIXO EM
VACAS DE CORTE AZEBUADAS**

**GARANHUNS – PE
2012**

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SANIDADE E
REPRODUÇÃO DE RUMINANTES**

**AVALIAÇÃO DE SISTEMAS DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL
COM OBSERVAÇÃO DE ESTRO OU EM TEMPO FIXO EM
VACAS DE CORTE AZEBUADAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Sanidade e Reprodução de Ruminantes da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Sanidade e Reprodução de Ruminantes

Orientador: Prof. Dr. Gustavo Ferrer Carneiro

**GARANHUNS – PE
2012**

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SANIDADE E
REPRODUÇÃO DE RUMINANTES**

**AVALIAÇÃO DE SISTEMAS DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL
COM OBSERVAÇÃO DE ESTRO OU EM TEMPO FIXO EM
VACAS DE CORTE AZEBUADAS**

Dissertação Elaborada Por

DANIEL DE CASTRO BURGOS

Aprovada em 16/02/2012

Prof. Dr Gustavo Ferrer Carneiro
Presidente da Banca – Unidade Acadêmica de Garanhuns/UFRPE

Prof. Dr. Rômulo José Vieira – Universidade Federal do Piauí.

Prof. Dr. Diogo Ribeiro Câmara – Universidade Federal de Alagoas.

Dra. Sildivane Valcácia Silva – ANDROLAB - UFRPE.

Para Úrsula, Catarina e Isadora. Elas são meus tesouros.

AGRADECIMENTOS

A minha esposa, Úrsula, pois sem ela eu não sou muita coisa.

A minhas filhas Catarina e Isadora, que são um sonho realizado.

A meus pais, Magno (in memorian) e Maria Lúcia, pelo apoio e ensinamentos.

A meus irmãos, Leonardo e Cristiano, por confiarem sempre no que fazemos e lutamos.

A toda família que sempre nos fortalece.

A meus amigos-irmãos Cláudio (Vagal), Cláudio (Jupião), Felipe e Igor. Vocês são demais.

A Marla, porque se precisar ela estará lá.

Aos meus amigos colegas, José Lauro, Carlito, Marcelo e Leite, um viva a medicina veterinária.

Ao mestre Moura com carinho, URRRA!

A minha equipe da CRIAR, Cris e Roberto, obrigado por acreditarem no nosso trabalho.

Ao pessoal de campo das fazendas Laranjeiras e Paraíso, que trabalhou bastante.

Ao senhor Manoel do Nascimento Azevedo e a Frigel por cederem suas fazendas e seus animais para o experimento.

Ao professor Dr. Gustavo Ferrer Carneiro; muito mais que um orientador.

A Agener União pelo apoio com o GnRH.

A todos os professores do mestrado.

A todos os estagiários porque me obrigam a me manter “afiado”.

Ao apoio financeiro da CAPES.

Ser ou não ser, eis a questão!

William Shakespeare

RESUMO

BURGOS, Daniel de Castro. **Avaliação de sistemas de inseminação artificial com observação de estro ou em tempo fixo em vacas de corte azebuadas**. PPGSRR – Garanhuns – PE: UFRPE, 2012. (Dissertação de Mestrado). Orientador: Prof. Dr. Gustavo Ferrer Carneiro

O objetivo deste experimento foi comparar os resultados de prenhez da associação de Inseminação Artificial (IA) convencional com estro sincronizado acompanhado de IATF utilizando GnRH com os da IATF clássica em vacas azebuadas. Um total de 677 vacas foram sincronizadas com dispositivo de progesterona (P4) e 2 mg de benzoato de estradiol (BE) no D1, no D7 todas receberam 530 µg de PGF2α e no D9 foram retirados os implantes e todos os animais receberam 400 UI de eCG e foram avaliadas em três experimentos divididos da seguinte forma. No *1º experimento* 190 vacas, conduzidas sem apartação temporária dos bezerros após a retirada dos dispositivos, foram divididas em três grupos: O grupo controle chamado de **CE** recebeu 0,4 mg de cipionato de estradiol (CE) e foram inseminadas na IATF 48 horas após a retirada dos dispositivos. O segundo e o terceiro grupos não receberam indutor de ovulação na retirada dos dispositivos e foram chamados de **estro mais GnRH 48 horas** e **estro mais GnRH 54 horas**. Essas vacas foram observadas para apresentação de estro por quatro vezes (12, 24, 36 e 48 horas) e as que apresentaram estro neste período foram inseminadas pelo método AM/PM com estro pela manhã inseminação a tarde e estro pela tarde com inseminação na manhã do dia seguinte; as vacas que não apresentaram estro neste período receberam 48 horas após a retirada dos dispositivos, aplicação de 25 µg de GnRH e foram inseminadas imediatamente no grupo **estro mais GnRH 48 horas** e após 6 horas da aplicação do GnRH foram inseminadas as vacas do lote **estro mais GnRH 54 horas**. No *2º experimento* 242 vacas foram submetidas a protocolo semelhante, porém realizou-se o desmame temporário dos bezerros após a retirada dos implantes. No *3º experimento* 245 vacas foram submetidas ao protocolo do *experimento 2* porém utilizando dispositivos de P4 anteriormente utilizados. As vacas foram examinadas por ultrasonografia transretal de 5 MHz em 45 dias após as inseminações para detecção de prenhez nos experimentos 1 e 2 e 35 dias no experimento 3. No *experimento 1* as vacas obtiveram as seguintes taxas de prenhez: grupo **CE** 58,18%; grupo **estro mais GnRH 48 horas** 56,21% e grupo **estro mais GnRH 54 horas** 61,97%. No *experimento 2* os números de gestação foram: grupo **CE** 57,83%; grupo **estro mais GnRH 48 horas** 57,50% e grupo **estro mais GnRH 54 horas** 53,16%. No *experimento 3* os números de gestação foram: grupo **CE** 57,14%; grupo **estro mais GnRH 48 horas** 56,10% e grupo **estro mais GnRH 54 horas** 54,43%. Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os grupos. Apesar dos protocolos se mostrarem equivalentes nos resultados, o aumento do custo e da mão-de-obra dificultam sua utilização, sendo a IATF clássica mais simples e economicamente viável.

Palavras Chave: Sincronização de estros; GnRH; IATF; gado de corte

ABSTRACT

BURGOS, Daniel de Castro. **Evaluation of systems for artificial insemination with observation of estrus or timed artificial insemination in zebu-crossed beef cows.** PPGSRR – Garanhuns – Pe: UFRPE, 2012. (Dissertação de Mestrado). Adviser: Prof. Dr. Gustavo Ferrer Carneiro

The objective of this experiment was to compare the results of the pregnancy obtained by the association of conventional Artificial Insemination (AI) with synchronized estrus together with GnRH in TAI with those of classical TAI in zebu cows. A total of 677 cows were synchronized with a progesterone vaginal device (P4) and 2 mg of estradiol benzoate (EB) on D1, D7 all cows received 530 µg of PGF2α and D9 implants were removed and all animals received 400 IU of eCG and were evaluated in three experiments divided as follows. In *first experiment*, 190 cows, without temporarily calf weaning and after removal of devices were divided into three groups: control group called **EC** received 0.4 mg of estradiol cypionate (EC) and TAI were inseminated 48 hours after removal of devices. The second and third groups did not receive ovulation inductor in removal of devices and were named **ESTRUS PLUS GnRH 48 HOURS** and **ESTRUS PLUS GnRH 54 HOURS**. These cows were observed for onset of estrus four times (12, 24, 36 and 48 hours) and those that showed estrus during this period were inseminated by the AM / PM method where estrus in the morning AI late afternoon and estrus in the afternoon with AI on the morning of next day; cows who have not appearing in estrus during this period of 48 hours after devices were removed, received 25 µg of GnRH and were inseminated immediately in the group **ESTRUS PLUS GnRH 48 HOURS** and 6 hours after application of GnRH cows from **ESTRUS PLUS GnRH 54 HOURS** were inseminated. In the *2nd experiment* 242 cows were subjected to similar protocol, but was held temporarily weaned calves after removal of the implants. At the *3rd experiment* 245 cows were subjected to two experimental protocols but using P4 devices previously used. Cows were examined by 5 MHz transrectal ultrasonography 45 days after insemination to detect pregnancy in experiments 1 and 2 and 35 days in experiment 3. In *experiment 1*, cows received the following pregnancy rates: group **EC** 58.18%, group **ESTRUS PLUS GnRH 48 HOURS** 56.21% and group **ESTRUS PLUS GnRH 54 HOURS** 61.97%. In *experiment 2* pregnancy rates were: group **EC** 57.83%, group **ESTRUS PLUS GnRH 48 HOURS** 57.50% and group **ESTRUS PLUS GnRH 54 HOURS** 53.16%. In *experiment 3* pregnancy rates were: group **EC** 57.14%, group **ESTRUS PLUS GnRH 48 HOURS** 56.10% and group **ESTRUS PLUS GnRH 54 HOURS** 54.43%. No significant difference were seen ($p > 0,05$) between the groups. In spite of the protocols showing equivalent results, its costs and labor hamper its use, and the use of classic TAI is simpler and more economically viable.

Key words: Estrus synchronization; GnRH; TAI; beef cattle

LISTA DE FIGURAS

Revisão de literatura

Figura 1. Desenvolvimento da dominância folicular.24

Figura 2. Eficiência de luteólise, induzida por duas doses de clorprostenol sódico, aplicado via intramuscular, em diferentes dias do ciclo estral.31

Trabalho científico

Figura 1. Protocolo de inseminação do *experimento 1*.45

Figura 2. Protocolo de inseminação dos *experimentos 2 e 3*.45

LISTA DE TABELAS E QUADROS

Revisão de literatura

Quadro 1. Principais hormônios envolvidos diretamente com o ciclo estral das fêmeas bovinas, caracterizando a origem, a função e o grupo químico.19

Quadro 2. Termos e definições usados para descrever a Dinâmica Folicular.23

Trabalho científico

Tabela 1 – Porcentagens de estro, concepção e prenhez em vacas de corte no pós-parto submetidas somente à IATF, utilizando como indutor da ovulação o cipionato de estradiol (CE), ou às 48 horas de observação de estro e inseminação convencional associada à IATF com GnRH (Experimento 1).47

Tabela 2 – Porcentagens de estro, concepção e prenhez em vacas de corte no pós-parto submetidas somente à IATF, utilizando como indutor da ovulação o cipionato de estradiol (CE), ou às 48 horas de observação de estro e inseminação convencional associada à IATF com GnRH (Experimento 2).48

Tabela 3 – Porcentagens de estro, concepção e prenhez em vacas de corte no pós-parto submetidas somente à IATF, utilizando como indutor da ovulação o cipionato de estradiol (CE), ou às 48 horas de observação de estro e inseminação convencional associada à IATF com GnRH (Experimento 3).49

LISTA DE ABREVIATURA LISTAS E SÍMBOLOS

IATF	Inseminação Artificial em Tempo Fixo
BE	Benzoato de Estradiol
CE	Cipionato de Estradiol
GnRH	Hormônio Liberador de Gonadotrofinas
CL	Corpo Lúteo
FSH	Hormônio Folículo Estimulante
PGF2 α	Prostaglandina F2alpha
P4	Progesterona
E2	Estradiol
eCG	Gonadotrofina coriônica equina
GH	Hormônio do crescimento
IGF-1	Fator de crescimento semelhante à insulina
NPY	Neuropeptídeo Y
cAMP	AMP cíclico
Ca ²⁺	Cálcio
Kda	Kilodaltons
RNA _m	RNA mensageiro
ATP	Trifosfato de adenosina
MHz	Megahertz
IA	Inseminação artificial
TE	Transferência de embriões
LLCs	Células esteroideogênicas luteais
TETF	Transferência de embriões em tempo fixo

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	14
2.	OBJETIVOS.....	16
3.	REVISÃO DE LITERATURA.....	17
3.1	FISIOLOGIA REPRODUTIVA DE FÊMEAS BOVINAS DE CORTE...17	
	3.1.1 O ciclo estral.....	17
	3.1.2 Endocrinologia do ciclo estral.....	18
	3.1.3 Dinâmica folicular.....	22
	3.1.4 Ovulação.....	25
	3.1.5 O pós-parto: anestro e ciclicidade.....	26
3.2	INDUÇÃO E SINCRONIZAÇÃO DO ESTRO E DA OVULAÇÃO.....	28
	3.2.1 A detecção do estro.....	28
	3.2.2 Controle farmacológico do ciclo estral.....	29
	3.2.2.1 Sincronização do estro e da ovulação.....	30
	<i>Prostaglandinas.....</i>	30
	<i>Progestágenos e estrógenos.....</i>	31
	3.2.2.2 Promotores de ovulação.....	33
	<i>LH e GnRH.....</i>	33
	<i>Estrógenos.....</i>	34
4.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	35
5.	ARTIGO CIENTÍFICO.....	41
6.	ANEXOS.....	52
	6.1 Resumo publicado no CBRA XIX.....	53
	6.2 Referência do artigo científico “Animal Reproduction”.....	54

1 INTRODUÇÃO

A eficiência reprodutiva é fator determinante para o sucesso da bovinocultura tanto de leite como de corte (JOHNSON, 2005). As taxas reprodutivas são características importantes para os sistemas de produção de bovinos de corte, pois podem promover uma melhoria significativa da rentabilidade, permitindo maior eficiência em programas de seleção animal, devido a uma maior taxa de reposição anual (MORAES; JAUME; SOUZA, 2007). Portanto, períodos não produtivos na vida reprodutiva das fêmeas precisam ser reduzidos (BURNS; FORDYCE; HOLROYD, 2010). O grande avanço no entendimento da fisiologia reprodutiva das fêmeas bovinas, particularmente a partir dos anos 80, possibilitou a utilização de uma série de tecnologias que puderam afetar positivamente a eficiência reprodutiva e a lucratividade dos sistemas de produção (JOHNSON, 2005).

De acordo com Grunert, Birgel e Vale (2005) a fisiologia reprodutiva dos animais repete-se sistematicamente, alternando fases de atividade sexual ou de repouso sexual. Mesmo com toda atividade, pode-se dizer que na maior parte da vida reprodutiva, as fêmeas permanecem em anestro (período pré púbere, durante as gestações e nas recuperações dos órgãos sexuais durante o puerpério, dentre outros).

Após o avanço tecnológico de 1984 com o uso da ultrassonografia no estudo dos ovários das fêmeas bovinas (GINTHER, *et al.* 1996) possibilitou um maior entendimento da dinâmica folicular das fêmeas e dos hormônios atuantes em cada etapa (SIROIS; FORTUNE, 1988; GINTHER *et al.*, 2001). Com este novo conhecimento, diversos fármacos hormonais passaram a ser utilizados na reprodução animal visando tratar distúrbios ou como facilitadores de manejo que possibilitam o aumento da eficiência reprodutiva dos animais (BINELLI; IBIAPINA; BISSINOTO, 2006; JOHNSON, 2005) a exemplo dos muitos usos das prostaglandinas (FERNANDES; FIGUEIREDO, 2007).

O uso da ultrassonografia em tempo real como ferramenta para melhorar a gestão da eficiência reprodutiva dos animais de corte é uma realidade que dentre outras permite o diagnóstico precoce de gestação e acompanhamento da saúde ovariana e uterina dos animais (BEAL; PERRY; CORAH, 1992) assim como a diferenciação e o monitoramento do folículo dominante e da ovulação (FORTUNE *et al.*, 2001).

Segundo Binelli; Ibiapina e Bissinotto (2006) o controle farmacológico do ciclo estral facilita o manejo reprodutivo e aumenta a eficiência de operações pecuárias de produção de leite e carne. A utilização de diversos protocolos hormonais para a inseminação artificial em tempo fixo (IATF) vem sendo proposto por vários pesquisadores nas raças zebuínas (BARUSELLI *et al.*, 2004; MADUREIRA; PIMENTEL, 2005; VASCONCELOS; MENEGHETTI; SANTOS 2006; PFEIFER *et al.*, 2007; MAPLETOFT; BÓ; BARUSELLI, 2009). Os modernos protocolos utilizados para a IATF foram desenvolvidos com base no conhecimento profundo do controle endócrino do ciclo estral bovino. Tal conhecimento permitiu o controle das fases do desenvolvimento folicular, recrutamento, seleção e ovulação, pela utilização estratégica de fármacos específicos (BINELLI; IBIAPINA; BISINOTTO, 2006).

Muitos fatores interferem nos resultados destes protocolos tanto ligados a inseminação (SAACKE 2008), quanto ligados ao sêmen (CBRA 1998) como também a condição nutricional dos animais (VASCONCELOS; MENEGHETTI; SANTOS 2006; FERREIRA; BINELLI; RODRIGUES, 2008) ou de manejo como a presença ou não do bezerro (GEARY, 2001; VASCONCELOS; MENEGHETTI; SANTOS, 2006).

SIQUEIRA *et al.* (2008) compararam um protocolo de IATF que utilizou progestágeno e a indução da ovulação com benzoato de estradiol (BE) com a observação de estro em dois dias mais o uso de hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH) e IATF em vacas taurinas, obtiveram melhores resultados com a observação de estro e o uso do GnRH para induzir a ovulação comparado com a IATF com BE trabalhado, mesmo em condições climáticas adversas.

Dessa forma este experimento foi delineado para investigar se a observação do estro por dois dias associada à aplicação de GnRH e IATF nos animais que não foram inseminados ao apresentarem estro, melhora o índice de prenhez quando comparado ao protocolo convencional de IATF em vacas zebuínas sincronizadas com ciproionato de estradiol (CE) como indutor de ovulação.

2 OBJETIVO

OBJETIVO GERAL

Comparar a taxa de gestação entre animais zebuínos submetidos a protocolo convencional de IATF e os animais zebuínos que foram submetidos a protocolo de observação de estro mais aplicação de IATF com GnRH.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Avaliar taxa de vacas azebuadas observadas em tempo curto de 48 horas após a sincronização do ciclo estral por progestágeno associado à benzoato de estradiol.
2. Aferir taxa de prenhez das vacas encontradas em estro 48 horas após a sincronização
3. Comparar a diferença da taxa de gestação entre vacas ovuladas com GnRH após 48 e 54 horas da retirada dos dispositivos de P4.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Fisiologia reprodutiva de fêmeas bovinas de corte

3.1.1 O ciclo estral

A característica mais marcante do processo reprodutivo é que o mesmo é cíclico (BINELLI; IBIAPINA; BISINOTTO, 2006). As fêmeas férteis não primatas apresentam sucessivas e intercaladas fases do ciclo estral, que se caracterizam por significativas alterações comportamentais, morfológicas e funcionais, as quais culminam na aceitação do macho para a cópula, levando a uma possível gestação. A estas fases com todas as suas manifestações convencionou-se chamar de ciclo estral (GRUNERT; BIRGEL; VALE, 2005).

Conforme com Moraes, Souza e Gonçalves (2001) o ciclo estral é o conjunto de alterações endócrinas, comportamentais e morfológicas ocorridas entre dois estros. Essas mudanças durante o ciclo estral são controladas por uma interação entre os hormônios sintetizados e secretados no hipotálamo, na hipófise, nos ovários e no útero, constituindo o que se conhece como eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal-uterino. Sua regulação ocorre através de um sistema, no qual um hormônio ou produto de secreção pode inibir a liberação de outro hormônio (retro-alimentação negativa) ou, ao contrário, estimular a síntese e liberação de uma maior quantidade de outro hormônio (retro-alimentação positiva).

Para facilitar o entendimento, o ciclo estral foi dividido em quatro fases caracterizadas por modificações orgânicas específicas e diferentes períodos de duração: proestro e o estro, são vinculados a ação estrogênica e o desenvolvimento folicular com manifestações teciduais do tipo proliferativo; metaestro e diestro, são a fase luteínica, vinculadas principalmente a ação progesterônica, com apresentação de secreção pelas glândulas epiteliais (GRUNERT; BIRGEL; VALE, 2005). Simplificado em duas fases o ciclo possui uma fase folicular, que vai da luteólise até a ovulação e uma fase luteínica, que vai da ovulação até a luteólise (em média no 17º dia após a ovulação na vaca). A

fase folicular é caracterizada pela presença de um folículo que ovulará na ausência de um corpo lúteo devido à ação do hormônio luteinizante (LH) após um pico de estrógeno. A fase luteínica é caracterizada pela presença de um corpo lúteo (CL) no ovário resultante do folículo ovulatório. Com a progressão da fase lútea, o CL produz um volume crescente de progesterona, que se mantém até a luteólise. (FARIAS, 2004).

3.1.2 Endocrinologia do ciclo estral

O sistema endócrino funciona através de substâncias quimicamente bem definidas, denominadas de hormônios, que são produzidas nas glândulas endócrinas ou em células especializadas e promovem efeitos biológicos característicos nos tecidos alvo (Quadro 1). As alterações funcionais ocorrem após uma ação interativa dos hormônios sobre receptores específicos normalmente compostos de glicoproteínas e que se originam na própria célula alvo (GRUNERT; BIRGEL; VALE, 2005) e o transporte da fonte ao alvo, pode ser feito via sangue, linfa, terminação nervosa, mecanismo de contra corrente ou simples difusão quando em tecidos próximos (FERNANDES, 2006; GONZALEZ, 2002).

Localizado abaixo do terceiro ventrículo, na base do cérebro, o hipotálamo possui uma estrutura de constituição nervosa e pertence ao sistema nervoso central. Formado por neurônios e terminações de neurônios cujos corpos celulares se encontram em outras áreas do cérebro, é dividido em várias porções denominadas núcleos onde são produzidos diferentes hormônios (FERNANDES, 2006).

O GnRH é produzido no hipotálamo, na área pré-óptica e no núcleo arqueado, o qual é uma estrutura do diencéfalo que rodeia o terceiro ventrículo, recebendo um grande número de informações externas através de neurônios que para lá convergem e então são processadas e modificadas para ir para a hipófise como um sinal humoral e/ou neural (FARIAS, 2004).

O GnRH age sobre células gonadotróficas da hipófise parece ser através do AMP cíclico (cAMP) e do cálcio (Ca^{2+}). O cAMP causa aumento do nível de Ca^{2+} intracelular, o qual provoca a contração de microfilamentos, direcionando os grânulos que contêm o hormônio para a periferia da célula e liberando-o no sistema portal hipotálamo-hipofisiário. Este mecanismo de ação opera para todos os hormônios liberadores hipotalâmicos (GONZALEZ, 2002).

Quadro 1. Principais hormônios envolvidos diretamente com o ciclo estral das fêmeas bovinas, caracterizando a origem, a função e o grupo químico.

Hormônio	Origem	Função	Estrutura Química
GnRH	Hipotálamo	Estimula a produção de FSH e LH	Peptídeo
FSH	Hipófise anterior	Estimula o crescimento e maturação folicular	Glicoproteína
LH	Ovário, supra renais	Induz a ovulação e manutenção do corpo lúteo	Glicoproteína
Estrógenos	ovários	Induz o estro, estimula a liberação pré ovulatória de GnRH e determina os caracteres sexuais femininos	Esteróide sexual (Originado do colesterol)
Progesterona	Corpo lúteo; supra-renais e placenta	Manutenção da gestação	Esteróide sexual (Originado do colesterol)
Prostaglandina	Endométrio	Regressão do corpo lúteo - luteólise	Ácido Graxo Solúvel (originado do ácido aracdônico)
Inibina	Células da Granulosa do ovário	Bloqueio da produção de FSH	Peptídeo
Opióides	Sistema Nervoso Central	Bloqueio da secreção gonadotrófica	Peptídeo

GnRH = Hormônio Liberador de gonadotrofina; FSH = Hormônio folículo estimulante; LH = Hormônio Luteinizante. Adaptado de GRUNERT, BIRGEL e VALE, (2005)

O GnRH é um hormônio decapeptídeo (Glu-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂) com meia vida de aproximadamente dez minutos e tem uma função de controlar a produção de FSH e LH e a liberação do LH. O GnRH tem dois tipos de secreção, uma tônica e outra cíclica. A secreção é estimulada pela noradrenalina e inibida pela dopamina e pelas vias serotonérgicas (GONZALEZ, 2002). O controle da liberação do GnRH é realizado pelos esteróides gonadais, progesterona e estrógenos. Porém, aparentemente, não existem receptores para esses hormônios diretamente nos neurônios que expressam o GnRH, e sua ação se dá via sistemas neurais esteróide sensitivos (FARIAS, 2004).

Localizada abaixo do hipotálamo, em uma depressão do osso esfenóide denominada de sela túrcica encontra-se a hipófise, glândula que possui duas regiões distintas inclusive na composição. A porção anterior, denominada adenohipófise, é mais ativa e secreta vários hormônios que atuam em diversas áreas do organismo. A porção posterior ou neurohipófise é constituída por terminações de neurônios cujos corpos celulares se encontram em áreas superiores do cérebro (FERNANDES, 2006).

Produzidos na adenohipófise, o FSH e o LH, são glicoproteínas com peso molecular de aproximadamente 28.500 kda para o LH e 34.000 Kda para o FSH. São formados por duas subunidades diferentes chamadas alfa (α) e beta (β). A subunidade alfa é idêntica nos dois hormônios e a beta é única para cada hormônio e determina a atividade biológica dos mesmos. Denominados gonadotrofinas, a sua regulação e transcrição são feitas pelo GnRH e por alguns outros fatores gonadais ou hipotalâmicos (GONZALEZ, 2002).

Ligando-se a receptores específicos nos gonadotrofos o GnRH promove a liberação de Ca^{2+} , e rapidamente causa uma liberação dos dois hormônios, FSH e LH. A liberação de FSH não tem caráter pulsátil e geralmente não é coincidente com a liberação de LH, que tem sua eiceração controlada pela concentração do estradiol (E2) e progesterona (P4), inversamente proporcional. Logo, a liberação de LH depende da frequência de liberação de GnRH, enquanto que o FSH tem liberação constitutiva, na qual a síntese é seguida de sua liberação (FARIAS, 2004).

O controle da liberação de FSH se dá primariamente por dois inibidores que são sintetizados pelos folículos: a inibina e o E2 (WILTBANK; GÜMEN; SARTORI, 2002). Esses hormônios atuam diretamente na hipófise anterior, diminuindo a expressão do gene que codifica a subunidade β do FSH, diminuindo a transcrição e a estabilidade do RNA mensageiro (RNAm), em um efeito que se sobrepõe a ação do GnRH para a liberação do FSH (FARIAS, 2004).

O FSH é o hormônio diretamente envolvido no estímulo da emergência das ondas foliculares, sendo o seu declínio associado com a seleção de um folículo dominante, folículo este que se desenvolverá e passará a ser dependente do LH. Estas gonadotrofinas são armazenadas em grânulos secretórios no citoplasma e são diferentemente secretadas por exocitose. O LH é armazenado de forma prolongada durante o ciclo estral, diferentemente do FSH, que é pouco armazenado (GONZALEZ, 2002; FARIAS, 2004).

Segundo Catt (1996) as gonadotrofinas atuam sobre as suas células alvo através de receptores específicos nas membranas celulares das mesmas. O FSH atua nas células da granulosa, enquanto o LH possui receptores nas células da granulosa, células da teca e, ainda, no CL. Com a ligação gonadotrofina-receptor, são ativados os segundos mensageiros. Os dois hormônios ativam a enzima adenilato ciclase na membrana plasmática, consumindo Adenina tri-fosfato (ATP), e gerando cAMP, o qual promove uma cascata de fosforilação das quinases dependentes de cAMP.

Através do complexo aromatase, o FSH estimula a produção de E2 utilizando andrógenos como substrato. Porém as quantidades de andrógenos nas células da granulosa são baixas, devido a baixas concentrações de enzimas que participam na sua síntese. O LH atua nas células da teca interna, aumentando a produção desses andrógenos. Os andrógenos são convertidos a E2, principalmente o estradiol-17 β , através da enzima P450 aromatase. A pregnenolona é o principal esteróide secretado pelas células da granulosa, e é também utilizada nas células da teca para ser convertida em andrógenos (SHAMS; BERISHA, 2002).

Os folículos dominantes que ocorrem durante a fase luteínica não ovulam e entram em atresia, porque a P4 do CL faz com que a frequência de liberação de LH se mantenha baixa, com um pulso a cada quatro/seis horas. Assim, é muito baixa a secreção de androstenediona pelas células da teca, e, em consequência, a de E2 pelas células da granulosa (FARIAS, 2004).

Ao fim da fase luteínica, ocorrem eventos que culminam com a perda da capacidade de secreção de P4, morte das células e perda da estrutura do CL. Esta regressão é dependente de pulsos de prostaglandina F2 α (PGF2 α). O E2 liberado pelos folículos estimula a síntese de receptores de ocitocina no endométrio. Ao mesmo tempo o CL secreta ocitocina que estimula o endométrio a liberar a PGF2 α (FARIAS, 2004).

Derivadas do ácido prostanoico, ácido graxo de 20 átomos de carbono com um núcleo ciclopentano, as prostaglandinas são estruturas orgânicas extremamente potentes presentes em uma grande variedade de tecidos e situações biológicas. Estão divididas em quatro grandes grupos: A, B, E e F, divididos de acordo com sua estrutura e função, responsáveis por efeitos biológicos diferentes (FERNANDES; FIGUEIREDO, 2007).

As prostaglandinas endógenas possuem como efeito fisiológico predominante provocar contrações ou relaxamento das células musculares lisas em diversos órgãos. A propriedade mais importante na fisiologia da reprodução é a

capacidade de algumas da série F provocar a luteólise. Portanto, pode-se dizer que a $PGF2\alpha$ é responsável pelo tempo de vida do CL, causando sua regressão morfológica e funcional, sendo que a regressão funcional precede a regressão morfológica (FERNANDES; FIGUEIREDO, 2007; GONZALEZ, 2002).

Com a ausência do CL, o 17β estradiol produzido principalmente pelo folículo dominante promove um “feedback” positivo sobre a liberação de GnRH, e a frequência de pulsos passa para cerca de um por hora, com uma amplitude menor. Devido a essa baixa amplitude dos pulsos de LH, os folículos no ovário respondem a cada um desses pulsos com androstenediona e E2. As concentrações médias de LH aumentam com a frequência de pulsos e a um correspondente aumento na secreção de esteróides ovarianos. A secreção de E2 aumenta a nível tal que induz o comportamento de estro e desencadeia o pico de LH e a ovulação (FARIAS, 2004).

3.1.3 Dinâmica folicular

O desenvolvimento dos folículos bovinos acontece em um padrão de ondas (NOSEIR, 2003). Este conhecimento se tornou possível graças ao monitoramento diário dos ovários durante todo o ciclo estral através da ultrassonografia em tempo real (SIROIS; FORTUNE, 1998; GINTHER *et al.* 1996).

Segundo Lucy (2007) cada onda está caracterizada por uma fase quando se dá o recrutamento e se inicia o crescimento e desenvolvimento comum de vários folículos selecionados por um pequeno aumento de FSH sérico, denomina-se de emergência folicular, enquanto outra quando apenas um folículo permanece crescendo e os demais diminuem de tamanho e sofrem atresia, denomina-se de divergência ou dominância folicular (Quadro 2).

Durante um ciclo estral, ocorrem normalmente duas ou três ondas de crescimento folicular consecutivas, sendo apenas a última onda ovulatória (BINELLI; IBIAPINA; BISINOTTO, 2006; NOSEIR, 2003). Em vacas e novilhas zebuínas essas ondas de desenvolvimento folicular têm início em média nos dias 0,4 e 9,7 ou 0,4, 8,2 e 15,9 para ciclos com duas ou três ondas respectivamente (BORGES *et al.*, 2001; BORGES *et al.*, 2003). Além dos ciclos estrais, ondas de crescimento folicular ocorrem também em bezerras e novilhas pré-púberes, durante as gestações, no período pós-parto e nos períodos de anestro. Foram observados também ciclos com uma e com quatro

ondas, sendo que ciclos curtos com apenas uma onda são mais comuns no pós-parto e durante a puberdade (AERTS; BOLS, 2010).

Quadro 2. Termos e definições usados para descrever a Dinâmica Folicular.

Termos	Definições
Recrutamento	Um grupo de folículos começam a amadurecer em um meio de estimulação gonadotrófica hipofisária suficiente para permitir o crescimento até a ovulação.
Seleção	Processo pelo qual, normalmente, um único folículo é escolhido, em última análise, pode por si só evitar a atresia e ser competente para ovular
Dominância	Meios pelos quais o folículo dominante selecionado, ou seu sucessor, o corpo lúteo, mantém a sua eminência bilateralmente sobre todos os outros folículos, ditando o rumo dos acontecimentos no hipotálamo, hipófise e ovários
Emergência	Quando o grupo de folículos da onda atinge 4mm e pode ser visualizado pela ultrassonografia
Divergência	Início da maior diferença das taxas de crescimento entre os dois maiores folículos, verificado quando o segundo maior folículo atinge o seu diâmetro máximo

Adaptado de LUCY, (2007)

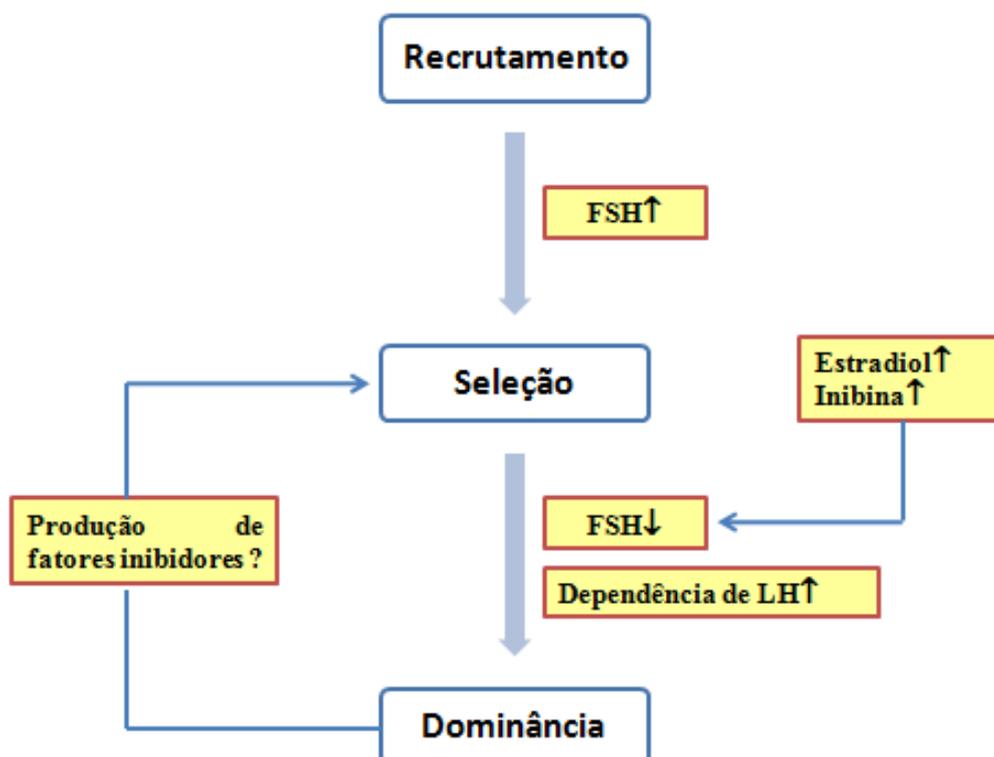
Em cada onda os folículos inicialmente crescem em uma velocidade semelhante. Com o avanço do crescimento, um folículo passa a ser dominante enquanto os restantes tornam-se subordinados (fase de divergência) iniciando a atresia. A divergência é definida como a mudança das taxas de crescimentos entre o maior e o segundo maior folículo da onda emergente, ocorre aproximadamente com três dias de crescimento quando os folículos estão com diâmetro médio de 8,5 mm em vacas taurinas (BEG; GINTHER, 2006). Em vacas zebuínas Sartorelli *et al.*, (2005) verificaram que a mesma ocorria com o diâmetro de 6,1mm.

O componente chave do folículo dominante é a sua capacidade de utilizar-se dos baixos níveis de FSH no início da divergência e continuar crescendo. Além disso, o folículo dominante começa a utilizar LH como parte de sua estimulação gonadotrófica (GINTHER *et al.* 2001).

Segundo Aerts e Bols (2010) a presença do folículo dominante rapidamente se torna o principal fator de inibição da secreção do FSH produzindo inibina, e apesar dos níveis basais de FSH continua crescendo pela estimulação do LH. O processo de dominância é um evento extremamente rápido, pois num período de oito horas após a

divergência os níveis de FSH são baixados extremamente, provocando a atresia de todos os outros folículos antrais restantes e impedir o aparecimento de um novo grupo de folículos iniciais (Figura 1).

Figura 1. Desenvolvimento da dominância folicular.



Adaptado de AERTS; BOLS, (2010)

O maior folículo inibe a secreção do FSH através da secreção cada vez maior de E2 e inibina e ao mesmo tempo vai sendo cada vez menos dependente do FSH devido à otimização de sua utilização (GINTHER *et al*, 2001; BEG; GINTHER, 2006). Na fase de dominância, o LH tem papel chave e seus receptores emergem na célula da granulosa em aproximadamente oito horas após o início da divergência, passando a ocorrer transição de dependência gonadotrófica do FSH para o LH (MIHM *et al*, 2006). A capacidade ovulatória é provavelmente adquirida pelo aumento da expressão dos receptores de LH nas células da granulosa do folículo dominante (SARTORI *et al*, 2001).

O destino do folículo dominante depende da presença ou não de um corpo lúteo e dos níveis de P4 produzidos pelo mesmo. Caso estes níveis estejam elevados, a frequência e a intensidade dos pulsos de LH são pequenos e o folículo dominante entra em atresia, no caso da ausência de P4, a frequência e a intensidade dos pulsos de LH aumentam devido ao feedback positivo do E2, chega-se ao pico de LH e ocorre a ovulação com posterior formação do CL que dominará as próximas ondas foliculares até a sua luteólise (LUCY, 2007).

3.1.4 Ovulação

Nas vacas, os eventos de recrutamento, seleção e dominância são processos contínuos nos ovários, porém apenas o folículo dominante presente na fase folicular ovula naturalmente (FORTUNE *et al*, 2001). Em bovinos a capacidade ovulatória é adquirida quando os folículos têm aproximadamente 10 mm de diâmetro, o que ocorre em aproximadamente um dia após a divergência folicular. Possivelmente a aquisição da capacidade ovulatória deve envolver aumento da expressão de receptores de LH nas células da granulosa (SARTORI *et al*, 2001).

No início da ovulação, sob o efeito do LH, as células epiteliais começam a desenvolver vacúolos do tipo necrótico em seu citoplasma, que parecem ter uma menor aderência nas túnicas albugíneas. Nos fibroblastos da túnica albugíneas e as células da teca externa se tornam mais alongados e parecem se transformar de células em repouso em células móveis aumentando a quantidade de leucócitos como também de plaquetas aderentes na esfera luminal do folículo. Na fase final da ovulação, a parede começa a ficar mais fina e ocorre o início de nova formação de gotículas lipídicas que aparentemente se tornam mais esteroidogênicas durante as horas do início da ruptura folicular (SPEY; RICHARDS, 2006).

A ovulação é induzida devido ao aumento da secreção de LH, caracterizada por um processo em que ocorre a ruptura do folículo pré ovulatório juntamente com a expulsão do oócito, criando uma cavidade para o desenvolvimento do novo CL (GIOMETTI *et al*, 2009). Toda a regulação local da ovulação é garantida pela presença do LH e de diversos fatores intrafoliculares, como esteróides, prostaglandinas e peptídeos derivados de células endoteliais, como também a participação de leucócitos, fibroblastos e células esteroidogênicas (BORGES, 2006).

As fêmeas zebuínas os folículos ovulatórios tem menor diâmetro do que nas fêmeas taurinas, logo os CL formados são, portanto de tamanho menor. Esses tamanhos menores são devidos à maior quantidade da liberação de LH para a ovulação e também de uma onda ovulatória maior. Devido a isso, existe uma manifestação, mas lenta das respostas dos animais zebuínos, aos estrógenos, como também, uma intensidade menor e um período mais curto de apresentação de estro que as fêmeas taurinas (FORD *et al*, 2011; SARTORI; BARROS; 2011).

3.1.5 O pós-parto: anestro e ciclicidade

Economicamente o desempenho reprodutivo é cinco vezes mais importante do que o ganho de peso e até 10 vezes mais importante que a característica de carcaça (SEGUI *et al*, 2002). A eficiência reprodutiva de bovinos, porém, depende fundamentalmente do tempo decorrente entre o parto e o retorno a ciclicidade ovariana (RABASSA *et al*, 2007). Este período, denominado de anestro pós-parto, ocorre na recomposição da função do eixo reprodutivo após a gestação da vaca (SIQUEIRA, 2007), e é basicamente caracterizado pelo fato das fêmeas bovinas não ovularem devido a liberação insuficiente ou inadequada de gonadotrofinas (BARUSELLI; GIMENES; SALES, 2007; SIQUEIRA, 2007). Vários fatores estão envolvidos na duração do anestro destacando-se: estado nutricional pré e pós-parto, ocorrência de balanço energético negativo e estímulo da mamada (RABASSA *et al*, 2007).

Depois do parto a vaca precisa criar o bezerro e rapidamente iniciar uma nova gestação (BARUSELLI; GIMENES; SALES, 2007; SIQUEIRA, 2007). Para isso, o padrão de desenvolvimento folicular ovariano que prevalece durante a gestação deverá, neste momento, ser substituído por uma sequência de eventos que culminará no comportamento de estro, seguido de ovulação e formação de um corpo lúteo normal. Esses requisitos são necessários para o restabelecimento da fertilidade no período pós-parto (BARUSELLI; GIMENES; SALES, 2007).

Com 10 a 20 dias pós-parto, as ondas foliculares recomeçam, porém os folículos dominantes que se formam falham em ovular devido à baixa frequência de pulsos de LH, decorrente de uma diminuição dos estoques desse hormônio na hipófise anterior, que se restabelecem entre 15 e 30 dias pós-parto (GONSALVES *et al*, 2004; LOGUERCIO, 2005). A partir daí o que se nota em muitos casos é um longo período de

anestro (GONSALVES *et al*, 2004; LOGUERCIO, 2005; BARUSELLI; GIMENES; SALES, 2007). Dentre as diferentes causas deste fator estão a subnutrição e o anestro lactacional que são os responsáveis pela duração da baixa eficiência reprodutiva no pós-parto (SOUZA, *et al*, 2009; WILTBANK; GÜMEN; SARTORI, 2002)

O excesso de produção de hormônios causados pela amamentação forma um vínculo entre vaca e bezerro, importante fator na contribuição do atraso ao retorno à ciclicidade pós-parto. Este estímulo causado pelo bezerro na vaca durante a sucção aumenta a sensibilidade do centro gerador de pulsos de GnRH no hipotálamo ao efeito de retroalimentação negativa do 17β -estradiol ovariano, pela liberação de peptídeos de opióides endógenos pelo hipotálamo. Esses eventos resultam na supressão da liberação de pulsos de LH, na falha no desenvolvimento do folículo dominante e da ovulação e, conseqüentemente, na manutenção do anestro pós-parto (VASCONCELOS; VILELA; SÁ FILHO, 2009).

A deficiência nutricional pode influenciar a função ovariana, pois modula a secreção de LH e FSH, o que ocorre tanto em condições de alta quanto de baixa ingestão alimentar. O crescimento dos folículos ovarianos também está relacionado com as mudanças nas concentrações dos hormônios metabólicos periféricos, tais como: insulina, hormônio do crescimento (GH), leptina, fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-I) e o neuropeptídeo-Y (NPY), cujas concentrações podem ser afetadas pelo estado metabólico do animal (SOUZA, *et al*. 2009).

A leptina é uma proteína secretada pelos adipócitos, e está diretamente envolvida na regulação da ingestão de alimentos, no balanço energético e no eixo neuroendócrino de todas as espécies animais. A restrição alimentar crônica em vacas resulta em redução acentuada da secreção de leptina, na redução da condição corporal e coincide com a diminuição na liberação de LH. É dessa forma, que a condição metabólica parece ser o fator primário da responsividade do eixo hipotalâmico-hipofisário à leptina em ruminantes (EMERICK *et al*, 2009).

Durante o pós-parto são observados uma maior sensibilidade dos estrógenos a baixos níveis de progesterona endógena e este tipo de bloqueio hormonal é o que impede a retomada da ciclicidade, mais uma vez relacionado a nutrição. Provavelmente a via da leptina mediada junto ao NPY estão envolvidos nos processos de saciedade. Uma restrição alimentar crônica leva à redução acentuada da condição corporal, e, conseqüentemente, da concentração de leptina, promovendo a elevação dos valores do

NPY e, dessa forma, diminuindo a secreção de GnRH hipotalâmico (WILLIANS *et al*, 2002; GAUTRON *et al*, 2005).

A interação da nutrição com a amamentação no pós-parto, possível causa do anestro e posterior retorno a condição cíclica precisa ser mais bem estudada, visto que pesquisas têm avaliado isoladamente cada um dos fatores e há necessidade de melhor compreender a interação entre estes fatores. Portanto, estudos comparativos precisam ser produzidos, o que certamente possibilitaria o desenvolvimento de novas tecnologias capazes de incrementar a produção dos rebanhos bovinos (VASCONCELOS; MENEGHETTI; SANTOS, 2006).

3.2 Indução e sincronização do estro e da ovulação em bovinos

3.2.1 A detecção do estro

Durante o período do estro, as fêmeas bovinas apresentam manifestações comportamentais caracterizadas por imobilidade durante a monta, comportamento homossexual, descarga de muco vaginal, mugidos frequentes, intensa movimentação, aumento na frequência de micção, entre outras características. Estes sinais foram por muito tempo e ainda são as grandes ferramentas para a detecção convencional do estro, no entanto, outros fatores influenciam estas características, a saber: idade, produção de leite, condições ambientais e sociais, como hierarquia (LOVENDAHL; CHAGUNDA, 2010; ROELOSFS *et al*, 2010).

As fêmeas zebuínas apresentam estro com duração mais curta em relação às taurinas com 10 horas de duração (FORD *et al*, 2011; SARTORI; BARROS; 2011). Nas vacas zebuínas, mais de 50% dos animais deste grupo genético tendem a iniciar a manifestação dos sinais de estro no período noturno com cerca de 30% iniciando e encerrando durante a noite, entre 18 e 6 horas, o que dificulta a detecção de estro destes animais (BARUSELLI; GIMENES; SALES, 2007).

A eficiência da detecção do estro por observação visual é mencionado em muitos resultados de estudos e os resultados variam entre 90% e 50%. Logo se torna claro que, provavelmente, as utilizações de outros sinais também são importantes para detectar se as vacas estão em estro. Um sistema de pontuação de estro foi desenvolvido

para que pontos fossem atribuídos a valores diferentes nos comportamentos de estro (ser montada, resistência a monta, descansar o queixo na garupa de outra vaca, cheirar a vulva de outra vaca, e agitação) o que melhoraria os resultados obtidos pelas vacas (ROELOSFS *et al*, 2010).

Em vacas taurinas e zebuínas o início do estro coincide com o surto pré-ovulatório de LH, e a ovulação ocorre em média entre 26 e 28 horas após o mesmo. Essas informações são importantes para se conhecer as características do comportamento estral e da ovulação (MIZUTA, 2003). Com estes dados torna-se possível implantar eficiente programa de detecção de estro e obter os melhores resultados em inseminação artificial (IA) nas fêmeas *Bos taurus indicus* e *Bos taurus taurus*, conforme os pesquisadores TRINBERGER e DAVIS (1943), onde vacas que manifestam o estro pela manhã têm a IA realizada na tarde do mesmo dia enquanto as vacas que manifestam o estro pela tarde têm a IA realizada na manhã do dia seguinte.

3.2.2 Controle farmacológico do ciclo estral

O controle do ciclo estral e da ovulação permite a aplicação de diversas tecnologias. Esta manipulação é permitida primeiramente porque os hormônios reprodutivos não são limitados por absorção de membranas e são também ativos em quantidades muito baixas, além do mais os progestágenos possuem meia vida curta e são de fácil eliminação (RATHBONE *et al*, 1998). Desta forma, a sincronização do estro, permite a manipulação do ciclo estral de maneira que a manifestação do estro ocorra em um período de um a três dias sem as necessidades de se esperar que o estro ocorra em um período de uma a três semanas (BORGES, 2006).

Diversas são as vantagens da manipulação do ciclo estral. Dentre estas podemos destacar atividades: a) redução do tempo de observação de estro; b) a concentração de manifestação do estro em vacas e novilhas permite a utilização destas em programas de IA e transferência de embriões (TE); c) aumenta o a detecção de estro; d) permite a concentração do trabalho em período determinado de tempo; e) as vacas podem ter a estimulação do estro no período de melhor aproveitamento reprodutivo; f) facilitar a IA; g) permitir a produção de bezerros mais homogêneos; h) é possível fazer vacas entrarem no estro e que concebam no início da estação de monta dentre outras (JOHNSON, 2005).

3.2.2.1 Sincronização do estro e da ovulação

Prostaglandinas

Um dos primeiros tratamentos realizados para a sincronização da ovulação foi à utilização da prostaglandinas em dias alternados para se conseguir o estro em tempo curto. Devido a sua capacidade de induzir a regressão do CL, a prostaglandina promove estro, desde que exista um CL com mais de sete dias presente nos ovários. Esta capacidade das prostaglandinas da série F de produzir a luteólise é a mais antiga propriedade terapêutica das mesmas para a medicina veterinária (FERNANDES; FIGUEIREDO, 2007).

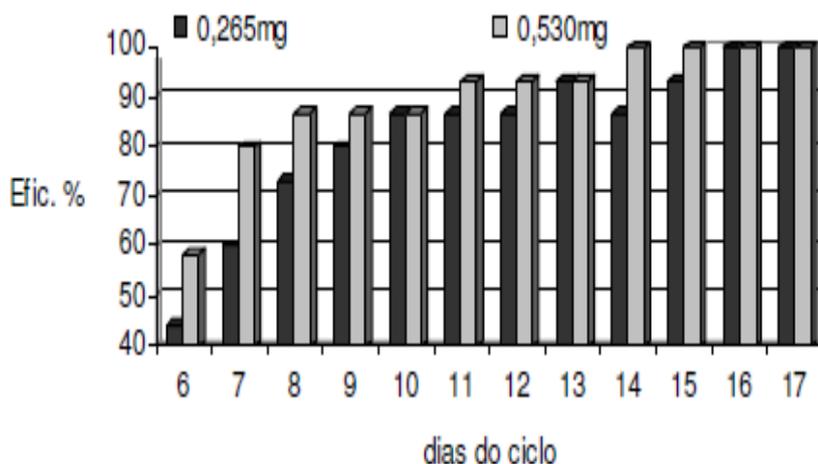
Nos estudos iniciais foi demonstrado que utilização da $PGF2\alpha$ na fase inicial dos corpos lúteos no momento do tratamento influencia a resposta luteolítica, mostrando que a $PGF2\alpha$ aplicada nos primeiros dias em seguida ao estro (período de cinco a seis dia) não produz a luteólise (WILTBANK; SHIAO; GINTHER, 1995). Porém se a eliminação do CL for promovida mais tardiamente a idade do CL o estro ocorre em até sete dias devido ao tamanho do ovócito que existir no momento da utilização da $PGF2\alpha$ (BÓ *et al*, 2002).

Em ruminantes domésticos, somente uma pequena quantidade da $PGF2\alpha$ uterina alcança o ovário, por difusão da veia uterina para a artéria ovariana (mecanismo denominado de contra corrente). Um pulso inicial de prostaglandina, mesmo de baixa magnitude, pode desencadear os mecanismos para que as grandes células luteínicas esteroidogênicas (LLCs) produzam localmente $PGF2\alpha$. Isto pode explicar porque uma pequena quantidade de prostaglandina uterina é capaz de iniciar a regressão luteal. Ao alcançar o CL, o efeito luteolítico da $PGF2\alpha$ resultará na associação com os receptores presentes na membrana plasmática das LLCs, iniciando a cascata de rotas intracelulares que resultam na luteólise e conseqüentemente levar à inibição da síntese de progesterona (FERNANDES; FIGUEIREDO, 2007).

Os efeitos da prostaglandina na utilização profilática (Figura 2) dependem da fase do ciclo estral e demonstram que na etapa intermediária do ciclo entre o 7º e 9º dias existem diferentes respostas da luteólise aplicada com valores diferentes de $PGF2\alpha$ mostrando que doses menores apresentam resultados inferiores as doses maiores, não

conseguindo a redução dos CL no mesmo nível das fases intermediárias do ciclo estral, indicando uma menor sensibilidade neste período (FERNANDES *et al*, 2006).

Figura 2. Eficiência de luteólise, induzida por duas doses de clorprostenol sódico, aplicado via intramuscular, em diferentes dias do ciclo estral.



Fonte FERNANDES *et al*, (2006)

Progestágenos e estrógenos

Os protocolos que visam à sincronização do estro e do ciclo estral já têm sido avaliados há mais de 20 anos e os seus resultados têm melhorado e alcançam resultados de 10–15% maiores que a geração anterior (JOHNSON, 2005). O seu uso na eficiência reprodutiva tem sido largamente utilizado nas operações de gado de corte e leite na América do Sul para a IATF (SÁ FILHO *et al*, 2011)

O tratamento de progestágenos associado ao uso de estrógeno promove uma rápida degeneração dos folículos possivelmente existentes e dá início a uma nova onda sincrônica de folículos. Esses folículos da nova onda possuem fertilidade normal e podem ser conduzidos por uma onda de curta duração de dominância (aproximadamente 10 dias), que pode ser sincronizada para uma nova ovulação e uma precisa sincronia da mesma (BÓ *et al*, 2002).

Essa associação da onda de progestágenos acompanhada de estrógenos produz o início da nova onda em aproximadamente três a quatro dias após o início do tratamento. Isso ocorre, através dos efeitos sinérgicos dos estrógenos que podem estimular ou inibir a liberação de gonadotrofinas, dependendo da dose e das concentrações de P4. Portanto, o início do tratamento da P4 com estrógenos provoca a atresia dos folículos dominantes existentes, resultando em uma nova emergência folicular (BÓ *et al*, 2007).

O tratamento deve ao iniciar, sincronizar uma nova onda folicular para que os animais possam desenvolver um folículo dominante que deverá atingir capacidade ovulatória e no momento em que a ausência do implante do progestágeno retirado, associado com uma dose de PGF2 α e um estrógeno promovam uma ovulação, para que os animais possam conceber e ou formar um CL (BARUSELLI *et al*, 2004; BÓ; BARUSELLI; MARTINEZ, 2003).

A sincronia dos processos de sincronizações tem alguns efeitos variados devido ao tipo de E2 que é utilizado no tratamento, o que provoca diferentes efeitos no início da nova onda luteolítica (MACMILLAN; BURKE, 1996). Vários dispositivos de tratamento com P4 associados com E2 estão disponíveis no mercado: a) injeção em óleo; b) administração no alimento – acetato de melengestrol (MGA); c) implantes subcutâneos – Norgestomet (CRESTAR® e Syncro-mate B); d) dispositivos intravaginais – d.1) esponjas intravaginais impregnadas com acetato de medroxiprogesterona - MAP (SINCROBOVI®); d.2) dispositivo espiral de plástico injetado para uso intravaginal com P4 (PRID®) – “progesterone releasing internal device”; d.3) dispositivo plástico em forma de Y (CIDR®) – “controlled internal drug release device” (MORAES; SOUZA; GONÇALVES, 2001).

Após a implantação dos dispositivos de P4, as concentrações no sangue sobem rapidamente e alcançam o pico máximo em aproximadamente uma hora. Esses níveis de P4 se manterão constantes enquanto os implantes forem utilizados. Quando retirados os implantes, os níveis baixam rapidamente para concentrações basais (LAMB, 2003). Os dispositivos de P4 são utilizados em períodos de sete a nove dias para que todos os eventuais CL que estejam presentes nos animais atinjam idade suficiente para que a utilização de PGF2 α possa produzir uma luteólise eficiente, permitindo que no final do tratamento sejam recrutados folículos ovulatórios visando a IATF ou a transferência de embriões em tempo fixo (TETF) segundo as observações de

Bó *et al*, (2002); Baruselli *et al*, (2004); Vasconcelos; Menegheti; Santos, (2004); Bó *et al*, (2007); Vasconcelos; Sá Filho, (2008)

3.2.2.2. Promotores de ovulação

Após o estágio de sincronização do estro, há formação de folículos dominantes com capacidade ovulatória e aptos a ovular desde que submetidos a hormônios que o promovam (SARTÓRI *et al*, 2001). Protocolos de IATF e de TETF precisam de hormônios que produzam a ovulação em momento adequado e de forma sincronizada para que seja possível a sua realização com acerto funcional e eficiente no desenvolvimento dos mesmos. Esses hormônios utilizados são à base de peptídeos do hipotálamo e da hipófise que são o LH (proveniente de hipófises de suínos) e análogos do GnRH, como também podem ser empregados os estrógenos que tem ação importante no mecanismo da ovulação, utilizados nos medicamentos na forma de sais de estradiol que são o benzoato e o cipionato (MORAES; SOUZA; GONÇALVES, 2001)..

LH e GnRH

Durante os protocolos de sincronização de ovulação programados para IATF ou TETF, o LH suíno e os análogos de GnRH funcionam como promotores de ovulação de forma bastante eficiente. O LH é mais comumente utilizado em protocolos de TETF, já que possui custo elevado, mas é necessário maior eficiência nesses tratamentos (BÓ *et al*, 2002). Os análogos de GnRH provocam a ovulação em aproximadamente 14 horas após a aplicação e são comumente utilizados em gado de leite devido a sua eficiente sincronia. A utilização em rebanhos de gado de corte embora tenha bons resultados nos tratamentos, é menor devido aos custos do GnRH comparado com os sais de E2. O GnRH era utilizado principalmente para atingir uma demanda maior de animais em analogia com o BE em momentos diferentes de aplicação (STEVENSON *et al*, 2000).

Estrógenos

Os estrógenos atuam por feedback positivo na liberação de GnRH em baixos níveis de P4, provocando a onda de pulsos de GnRH e LH, que promove a ovulação de forma programada e sincrônoma para os protocolos de IATF e TETF. Apesar da indução da ovulação ser mais tardia, devido a influência sobre o hipotálamo para liberar GnRH e posteriormente os pulsos de LH, funciona eficientemente e é um produto de baixo custo, e portanto mais utilizado como promotor de ovulação nos protocolos de IATF. Em operações pecuárias são usados o BE e o cipionato de estradiol (CE), sendo o BE aplicado 24 horas após a retirada dos implantes e o CE aplicado no momento da retirada dos mesmos (BARUSELLI *et al*, 2004; VASCONCELOS; MENEGHETI; SANTOS, 2004; BÓ *et al*, 2007; VASCONCELOS; SÁ FILHO, 2008).

4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AERTS, J.M.J.; BOLS, P.E.J. Ovarian follicular dynamics. A review with emphasis on the bovine species. Part II: Antral development, exogenous influence and future prospect. **Reproduction in Domestic Animals** v.45, p.180–187, 2010.

BARUSELLI, P. S.; REIS, E.L.; MARQUES, M.O.; NASSER, L.F.; BÓ, G.A. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrus beef cattle in tropical climates. **Animal Reproduction Science**, v. 82, p.479–486, 2004.

BARUSELLI, P.S.; GIMENES, L.U.; SALES, J.N.S. Fisiologia reprodutiva de fêmeas taurinas e zebuínas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.31, n.2, p.205-211, 2007.

BEAL, W.E.; PERRY, R.C.; CORAH, L.R. The use of ultrasound in monitoring reproductive physiology of beef cattle. **Journal of Animal Science**, v.70, p.924-929, 1992.

BEG, M.A.; GINTHER, O.J. Follicle selection in cattle and horses: role of intrafollicular factors. **Reproduction** v.132, p.365–377, 2006.

BINELLI, M.; IBIAPINA, B.T.; BISSINOTTO, R.S. Bases Fisiológicas e endócrinas dos tratamentos de sincronização do crescimento folicular e da ovulação. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.34 (supl 1), p.1-7, 2006.

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

BÓ, G.A.; BARUSELLI, P.S.; MORENO, D.; CUTAIA, L.; CACCIA, M.; TRIBULO, R.; MAPLETOFT, R.J. The control of follicular wave development for self appointed embryo-transfer in cattle. **Theriogenology**, v.57, p.53-72, 2002.

BÓ, G.A.; CUTAIA, L.; PERES, L.C.; PINCINATO D.; MARAÑA, D.; BARUSELLI, P.S. Technologies for fixed-time artificial insemination and their influence on reproductive performance of *Bos indicus* cattle. **Society for Reproduction and Fertility Supplement**, v.64 p.223–36, 2007.

BORGES, A.M.; TORRES, C.A.A.; RUAS, J.R.M.; ROCHA JUNIOR, V.R.; CARVALHO, G.R. Dinâmica folicular ovariana de novilhas mestiças holandês-zebu. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.53, n.5, 2001.

BORGES, A.M.; TORRES, C.A.A.; RUAS, J.R.M.; ROCHA JUNIOR, V.R.; CARVALHO, G.R.; FONCECA, J.F.; MARCATTI NETO, A.; ASSIS, A.J. Características da dinâmica folicular e regressão luteal de vacas das raças gir e nelore após tratamento com cloprostenol sódico. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.1, p.85-92, 2003.

BORGES, M.C.B. **Efeito do estradiol associado ao prógestágeno sobre a taxa de sincronização do estro, de ovulação e prenhez em vacas zebuínas lactantes no pós-parto**. 2006, 60f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2006.

BURNS, B.M.; FORDYCE, G.; HOLROYD, R.G. A review of factors that impact on the capacity of beef cattle females to conceive, maintain a pregnancy and wean a calf— Implications for reproductive efficiency in northern Australia. **Animal Reproduction Science**, v.122, p.1-22, 2010.

CATT, K.J. Intracellular Signaling. *In*: HILLIER, S.G.; KITCHNER, H.C.; NEILSON, J.P. **Scientific Essentials of Reproductive Medicine**. London: W B Saunders Company Ltd, 1996, p.45-59.

CBRA – Colégio Brasileiro de Reprodução Animal. **Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal**. 2.ed. Belo Horizonte, MG, 1998. p.11-17.

EMERICK, L.L.; DIAS, J.C.; GONÇALVES, P.E.M.; MARTINS, J.A.M.; SOUZA, F.A.; VALE FILHO, V.R.; ANDRADE, V.J. Retorno da atividade ovariana luteal cíclica de vacas de corte no pós-parto: uma revisão. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.33, n.4, p.203-212, 2009.

FARIAS, A. M. **Desenvolvimento folicular e fertilidade utilizando acetato de medroxi-progesterona associado a diferentes derivados do estradiol ou PGF2 α** . 2004, 67f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária), Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2004.

FERNANDES, C.A.C.; FIGUEIREDO, A.C.S.; OLIVEIRA, E.R.; OBA, E.; VASCONCELOS, T.D. Efficiency of different PGF2 α analogues in the postpartum period of dairy cows. *In*: **World Buiatrics Congress**, 2006, Nice, France. Nice: WBC, p.17, 2006.

FERNANDES, C.A.C.; FIGUEIREDO, A.C.S.; Avanços na utilização de prostaglandinas na reprodução de bovinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.31, n.3, p.406-414, 2007.

FERNANDES, C.A.C. Reprodução em bovinocultura de leite e corte, **Apostila**, Alfenas, MG, 2006.

FERREIRA, F.A.; BINELLI, M.; RODRIGUES, P.H.M. Interação entre nutrição protéica e aspectos reprodutivos em fêmeas bovinas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.32, n.1, p.67-79, 2008.

FORD, N.; BELMANA, M.E.; LONERGAN, P.; DISKINC, M.; ROCHEA, J.F.; CROWE, M.A. Oestrous cycles in *Bos taurus* cattle, **Animal Reproduction Science**, v.124, p.163-169, 2011.

FORTUNE, J.E.; RIVERA, J.M.; EVANS, A.C.O.; TURZILLO, A.M. Differentiation of dominant versus subordinate follicles in cattle. **Biology of Reproduction**, v.65, p.648-654, 2001.

GAUTRON, L.; MINGAM, R.; MORANIS, A. COMBE, C.; LAYÉ, S. Influence of feeding status on neuronal activity in the hypothalamus during lipopolysaccharide-induced anorexia in rats. **Neuroscience**, v.134, p.933-946, 2005.

GEARY, T.W.; WHITTIER, J.C.; HALLFORD, D.M.; MACNEIL, M.D. Calf removal improves conception rates to the Ovsynch and CO-Synch protocols. **Journal of Animal Science**, v.79, p.1-4, 2001.

GINTHER, O.J.; BERGFELT, D.R.; BEG, M.A.; KOT, K. Follicle Selection in Cattle: Role of Luteinizing Hormone **Biology of Reproduction**, v.64, p.197-205, 2001.

GINTHER, O.J.; WILTBANK, M.C.; FRICKE P.M.; GIBBONS, J.R.; KOT, K. Selection of dominant follicle in cattle. **Biology of Reproduction**, v.55, p.1187-1194, 1996.

GIOMETTI, I.C.; CASTILHO, A.C.S.; SÁ FILHO, O.G.; PAPA, P.C.; BURATINI JR, J. Controle local e endócrino do desenvolvimento e da regressão do corpo lúteo bovino. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. v.33, p34-52, 2009.

GONÇALVES, P.B.D.; OLIVERA, J.F.C.; SILVEIRA, R.S.; FERREIRA, R. Anestro pós-parto em vacas de corte, **Anais do 1º Simpósio de Reprodução Animal Aplicada**, p.105-116, Londrina, PR, 2004.

GONZALEZ, F. H. D. **Introdução a endocrinologia reprodutiva veterinária**. 87p. Faculdade de Veterinária, UFRGS, Porto Alegre, 2002.

GRUNERT, E.; BIRGEL, E. H.; VALE, W. V. **Patologia clínica da reprodução dos animais mamíferos domésticos: ginecologia**. São Paulo, Livraria Varela, 2005.

JOHNSON, S.K. Possibilities with today reproductive technology. **Theriogenology**, v.64, p.639-656, 2005.

LAMB. G.C. Avaliação de protocolos de sincronização que usam progestágenos. In **Novos enfoques na produção e reprodução de bovinos**. v.7, p239-249, 2003.

LOVENDAHL, P.; CHAGUNDA, M.G.G. On the use of physical activity monitoring for estrus detection in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.93, p.249-259, 2010.

LOGUERCIO, R.S. Regulação de receptores esteróides e dinâmica folicular em um sistema de indução hormonal pós-parto em vacas de corte, **Tese de Doutorado**, UFSM, RS, 2005.

LUCY, M.C. The bovine dominant follicle. **Journal of Animal Science**, v.85, supl.E, p.89-99, 2007.

MACMILLAN, K.L.; BURKE, C.R. Effects of oestrus cycles control on reproductive efficiency, **Animal Reproduction Science**, v.42, p.307 a 320, 1996

MADUREIRA, E.H.; PIMENTEL, J.R.V. IATF como uma ferramenta para melhorar a eficiência reprodutiva, **XVI Anais do Congresso Brasileiro de Reprodução Animal**, Goiânia, GO, 2005.

MAPLETOFT, R.J.; BÓ, G. BARUSELLI, P.S. Control of ovarian function for assisted reproductive technologies in cattle. **Reproduction**, v.6, n.1, p.114-124, 2009.

MIHM, M.; BAKER, P.J.; IRELAND J.L.; SMITH, G.W.; COUSSENS, P.M.; EVANS, A.C.; IRELAND, J.J. Molecular evidence that growth of dominant follicles involves a reduction in follicle-stimulating hormone dependence and an increase in luteinizing hormone dependence in cattle. **Biology of Reproduction**, v.74, p.1051-1059, 2006.

MIZUTA, K. **Estudo comparativo dos aspectos comportamentais do estro e dos teores plasmáticos de LH, FSH, progesterona e estradiol que precedem a ovulação em fêmeas bovinas Nelore (Bos taurus indicus), Angus (Bos taurus taurus) e Nelore x Angus (Bos taurus indicus x Bos taurus taurus)**. 2003, 98p. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária), Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

MORAES, J.C.F.; JAUME, C.M.; SOUZA, C.J.H. Manejo reprodutivo da vaca de corte, **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.31, n.2, p.160-166, 2007.

MORAES, J.C.F.; SOUZA, C.J.H.; GONÇALVES, P.B.D. Controle do estro e da ovulação em bovinos e ovinos. *In*: GONÇALVES, P.B.D.; FIGUEIREDO, J.R.; FREITAS, V.J. **Biotécnicas aplicadas à reprodução animal**. São Paulo: Editora Varela, 2001. Cap.2, p.25-55.

NOSEIR, W.M.B. Ovarian follicular activity and hormonal profile during estrous cycle in cows: the development of 2 versus 3 waves, **Reproductive Biology and Endocrinology**, 1:50, disponível online em <http://www.RBEj.com/content/1/1/50>, 2003.

PFEIFER, L.F.M.; CASTILHO, E.M.; SHENEIDER, A.; LUZ, E.M.; LUCIA JUNIOR, T. DONELLO, N.J.L.; CORRÊA, M.N. Utilização de clorprostenol sódico e benzoato de estradiol em vacas de corte inseminadas em tempo-fixo ou com observação de cio. **Ciência Animal Brasileira**, v.8, n.4, p.815-821, 2007.

RABASSA, V.R.; PFEIFER, L.F.M.; SHENEIDER, A.; LUZ, E.M.; COSTA, E.R.M.; CORRÊA, M.N. Anestro pós-parto em bovinos: Mecanismos fisiológicos e alternativas hormonais visando reduzir este período. **Revista da RZVA**, v.14, n.1, p.139-161, 2007

RATHBONE, M.J.; MACMILLAN, K.L. INSKEEP, K.; BURGGRAAF, S.; BUNT, C.R. Fertility regulation in cattle. **Journal of Controlled Release**, v.-54, p.117-148, 1998.

ROELOSFS, J.; LÓPEZ-GATIUS, F.; HUNTERD, R.H.F.; VAN EERDENBURGE, F.J.C.M.; HANZEN, C. When is a cow in estrus? Clinical and practical aspects. **Theriogenology**, v.74, p.327-344, 2010.

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

- SAACKE, R.J. Insemination factors associated with timed AI in cattle. **Theriogenology**, v.70, p.479-484, 2008.
- SARTORELLI E.S.; CARVALHO, L.M.; BERGFELT, D.R.; GINTHER, O.J.; BARROS, C.M. Morphological characterization of follicle deviation in Nelore (*Bos indicus*) heifers and cows. **Theriogenology**, v.63, p.2382-2394, 2005.
- .SARTORI, R.; FRICKE, P.M.; FERREIRA, J.C.P.; GINTHER, O.J.; WILTIBANK, M.C. Follicular Deviation and Acquisition of Ovulatory Capacity in Bovine Follicles. **Biology of Reproduction**, v.65, p.1403-1409, 2001.
- SARTORI, R.; BARROS, C.M. Reproductive cycles in *Bos indicus* cattle. **Animal Reproduction Science**, v.124, p.244-250, 2011.
- SEGUI, M.S.; WEIS, W.L.; CUNHA, A.P.; ZOLLER, R. Indução ao estro em bovinos de corte. **Archives of Veterinary Science**, v.7, n.2, p. 173-178, 2002.
- SHAMS, D., BERISHA, B. Steroids as local regulators of ovarian activity in domestic animals. **Domestic Animals Endocrinology** v.23, p.53-65, 2002.
- SPEY, L.; RICHARDS, J.S. Ovulation, in **KNOBIL and NEILL'S Physiology of Reproduction**, Third Edition, p.425-477, 2006.
- SIQUEIRA, L.C. **Esteróides no controle da regressão de folículos de diferentes diâmetros para uso em sistemas de inseminação artificial em tempo fixo de vacas de corte no pós parto**. 2007, 77p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária), Uiversdade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2007.
- SIQUEIRA, L.C.; OLIVEIRA, J.F.C.; LOGUÉRCIO, R.S.; LÖF, H.K.; GONÇALVES, P.B.D. Sistemas de inseminação em dois dias com observação de estro ou em tempo fixo para vacas de corte amamentando. **Ciência Rural**, v.38, n.2 p.411-415, 2008.
- SIROIS, J.; FORTUNE, J.E. Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in heifers monitored by real-time ultrasonography. **Biology of Reproduction**, v.39, p.308-317, 1988.
- SOUZA, F.A.; CANISSO, I.F.; BORGES, A.M.; VALE FILHO, V.R.; LIMA, A.L.; SILVA, E.C. Restrição alimentar e os mecanismos endócrinos associados ao desenvolvimento folicular ovariano em vacas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, V.33, n.12, p.61-65, 2009.
- STEVENSON, J.S.; THOMPSON, K.E.; FORBES, W.L.; LAMB, G.C.; GRIEGER, D.M.; CORAH, L.R. Synchronizing estrus and(or) ovulation in beef cows after combinations of GnRH, norgestomet, and prostaglandin F2alpha with or without timed insemination. **Journal of Animal Sciences**. V.78; p.1747-1758, 2000
- TRIMBERG, G.W.; DAVIS, H.P. Breeding efficiency in dairy cattle bred at various stages of estrus by artificial insemination. **Journal of Dairy Science**, v.26, p.757-759, 1943.

WILLIAMS, G.L.; AMSTALDEM, M.; GARCIA, M.R.; STANKO, R.L.; NIZIELSKI, S.E.; MORRISON, C.D.; KEISLER, D.H. Leptin and its role in the central regulation of reproduction in cattle. **Domestic Animals Endocrinology**, v.23, p.339-349, 2002.

WILTBANK, M.C.; SHIAO, D.R.; GINTHER, O.J. ProstaglandinF2 α Receptors in the early bovine corpus luteum. **Biology of Reproduction**, v.52, p.74-78, 1995.

WILTBANK, M.C.; GÜMEN, A.; SARTORI, R. Physiological classification of anovulatory conditions in cattle. **Theriogenology**, v.57, p.21-52, 2002.

VASCONCELOS, J.L.M.; MENEGHETTI, M.; SANTOS, R.M. Inseminação artificial em tempo fixo (IATF) em bovinos. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.34, (supl.1) p.9-16, 2006.

VASCONCELOS, J.L.M.; SÁ FILHO, O.G. Avaliação da redução no tempo de tratamento com progesterona (9 vs. 7 dias) em protocolo de sincronização da ovulação em vacas nelore pós-parto. **Acta Scientiae Veterinariae**, 36 (Supl. 2), p. 614, 2008.

VASCONCELOS, J.L.M.; VILELA, E.R.; SÁ FILHO, O.G. Remoção temporária de bezerros em dois momentos do protocolo de sincronização da ovulação GnRH-PGF2 α -BE em vacas Nelore pós-parto. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.61, n.1, p.95-103, 2009.

5. ARTIGO CIENTÍFICO

Avaliação de sistemas de inseminação artificial com observação de estro ou em tempo fixo em vacas de corte azebuadas.

Evaluation of systems of artificial insemination with observation of estrus or timed insemination in zebu-crossed beef cows.

D.C. Burgos^{1,2}, S. Oliveira Junior², A.C.S. de Sant`Ana², A.A. Wicke⁴, A.H. Vidal¹, F.C. Almeida¹, J.L. Costa Junior³, C.D. Libório⁴, G.F. Carneiro¹

¹PPGSRR-UAG/Clínica de Bovinos de Garanhuns –UFRPE, ²CRIAR–Salvador/BA, ³PPGGBC–UESB-Jequié/BA, ⁴CICLO–Salvador/BA

E-mail: danburgos@terra.com.br

Resumo

O objetivo deste experimento foi comparar os resultados de prenhez da associação de Inseminação Artificial (IA) convencional com estro sincronizado acompanhado de IATF utilizando GnRH com os da IATF clássica em vacas azebuadas. Um total de 677 vacas foram sincronizadas com dispositivo de progesterona (P4) e 2 mg de benzoato de estradiol (BE) no D1, no D7 todas receberam 530 µg de PGF2α e no D9 foram retirados os implantes e todos os animais receberam 400 UI de eCG e foram avaliadas em três experimentos divididos da seguinte forma. No *1º experimento* 190 vacas, conduzidas sem apartação temporária dos bezerros após a retirada dos dispositivos, foram divididas em três grupos: O grupo controle chamado de **CE** recebeu 0,4 mg de cipionato de estradiol (CE) e foram inseminadas na IATF 48 horas após a retirada dos dispositivos. O segundo e o terceiro grupos não receberam indutor de ovulação na retirada dos dispositivos e foram chamados de **estro mais GnRH 48 horas** e **estro mais GnRH 54 horas**. Essas vacas foram observadas para apresentação de estro por quatro vezes (12, 24, 36 e 48 horas) e as que apresentaram estro neste período foram inseminadas pelo método AM/PM com estro pela manhã inseminação a tarde e estro pela tarde com inseminação na manhã do dia seguinte; as vacas que não apresentaram estro neste período receberam 48 horas após a retirada dos dispositivos, aplicação de 25 µg de GnRH e foram inseminadas imediatamente no grupo **estro mais GnRH 48 horas** e após 6 horas da aplicação do GnRH foram inseminadas as vacas do lote **estro mais GnRH 54 horas**. No *2º experimento* 242 vacas foram submetidas a protocolo semelhante, porém realizou-se o desmame temporário dos bezerros após a retirada dos implantes. No *3º experimento* 245 vacas foram submetidas ao protocolo do *experimento 2* porém utilizando dispositivos de P4 anteriormente utilizados. As vacas foram examinadas por ultrasonografia transretal de 5 MHz em 45 dias após as inseminações para detecção de prenhez nos experimentos 1 e 2 e 35 dias no experimento 3. No *experimento 1* as vacas obtiveram as seguintes taxas de prenhez: grupo **CE** 58,18%; grupo **estro mais GnRH 48 horas** 56,21% e grupo **estro mais GnRH 54 horas**

61,97%. No *experimento 2* os números de gestação foram: grupo **CE** 57,83%; grupo **estro mais GnRH 48 horas** 57,50% e grupo **estro mais GnRH 54 horas** 53,16%. No *experimento 3* os números de gestação foram: grupo **CE** 57,14%; grupo **estro mais GnRH 48 horas** 56,10% e grupo **estro mais GnRH 54 horas** 54,43%. Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os grupos. Apesar dos protocolos se mostrarem equivalentes nos resultados, o aumento do custo e da mão-de-obra dificultam sua utilização, sendo a IATF clássica mais simples e economicamente viável.

Palavras Chave: Sincronização de estros; GnRH; IATF; gado de corte

Abstract

*The objective of this experiment was to compare the results of the pregnancy obtained by the association of conventional Artificial Insemination (AI) with synchronized estrus together with GnRH in TAI with those of classical TAI in zebu cows. A total of 677 cows were synchronized with a progesterone vaginal device (P4) and 2 mg of estradiol benzoate (EB) on D1, D7 all cows received 530 µg of PGF2α and D9 implants were removed and all animals received 400 IU of eCG and were evaluated in three experiments divided as follows. In first experiment, 190 cows, without temporarily calf weaning and after removal of devices were divided into three groups: control group called **EC** received 0.4 mg of estradiol cypionate (EC) and TAI were inseminated 48 hours after removal of devices. The second and third groups did not receive ovulation inductor in removal of devices and were named **ESTRUS PLUS GnRH 48 HOURS** and **ESTRUS PLUS GnRH 54 HOURS**. These cows were observed for onset of estrus four times (12, 24, 36 and 48 hours) and those that showed estrus during this period were inseminated by the AM / PM method where estrus in the morning AI late afternoon and estrus in the afternoon with AI on the morning of next day; cows who have not appearing in estrus during this period of 48 hours after devices were removed, received 25 µg of GnRH and were inseminated immediately in the group **ESTRUS PLUS GnRH 48 HOURS** and 6 hours after application of GnRH cows from **ESTRUS PLUS GnRH 54 HOURS** were inseminated. In the 2nd experiment 242 cows were subjected to similar protocol, but was held temporarily weaned calves after removal of the implants. At the 3rd experiment 245 cows were subjected to two experimental protocols but using P4 devices previously used. Cows were examined by 5 MHz transrectal ultrasonography 45 days after insemination to detect pregnancy in experiments 1 and 2 and 35 days in experiment 3. In experiment 1, cows received the following pregnancy rates: group **EC** 58.18%, group **ESTRUS PLUS GnRH 48 HOURS** 56.21% and group **ESTRUS PLUS GnRH 54 HOURS** 61.97%. In experiment 2 pregnancy rates were: group **EC** 57.83%, group **ESTRUS PLUS GnRH 48 HOURS** 57.50% and group **ESTRUS PLUS GnRH 54 HOURS** 53.16%. In experiment 3 pregnancy rates were: group **EC** 57.14%, group **ESTRUS PLUS GnRH 48 HOURS** 56.10% and group **ESTRUS PLUS GnRH 54 HOURS** 54.43%. No significant difference were seen ($p > 0,05$) between the groups. In spite of the protocols showing equivalent results, its costs and labor hamper its use, and the use of classic TAI is simpler and more economically viable.*

Keywords: Estrus synchronization; GnRH; TAI; beef cattle

Introdução

A eficiência reprodutiva do rebanho é um importante componente das operações de pecuária de corte. Portanto, se faz necessário algum tipo de ação para redução dos períodos não produtivos na vida reprodutiva das fêmeas (Burns; Fordyce; Holroyd, 2010). Vacas zebuínas possuem longos períodos de anestro pós-parto, menor duração do comportamento de estro e alta incidência de estro noturno, o que contribui para baixa eficiência reprodutiva (Menegheti; Vasconcelos, 2008). A utilização de protocolos hormonais aumenta o desempenho reprodutivo, mais importante que ganho de peso ou as características de carcaça para a bovinocultura (Segui *et al*, 2002).

A utilização de protocolos a base de estradiol (E2) e progesterona (P4) é uma ferramenta que controla a dinâmica ovariana, permitindo a inseminação artificial sem a observação de estro. Este tipo de protocolo é o cerne do que vem sendo feito para sincronização da emergência de uma nova onda folicular e da ovulação para a inseminação artificial em tempo fixo (IATF) (Bó *et al*, 2007; Sá Filho *et al*, 2009). Estes protocolos são majoritariamente realizados com a inserção de um dispositivo intravaginal com P4 concomitantemente a injeção de benzoato de estradiol (BE) no dia 0 para sincronizar a emergência de uma nova onda folicular. No dia 8 ou 9 remove-se os implantes e aplica-se prostaglandina F2 α (PGF2 α) para garantir a luteólise. Podem ser utilizados também 300 a 400 unidades internacionais (UI) de gonadotrofina coriônica eqüina (eCG) como suporte exógeno de gonadotrofina aos folículos em crescimento, seguindo-se então de uma pequena dose de estrógeno para a indução da ovulação (Baruselli *et al*, 2004; Sá Filho *et al*, 2009; Sá Filho *et al*, 2011).

Diversos fatores relacionados às fêmeas influenciam nos resultados de prenhez por inseminação artificial (P/IA) dos protocolos de IATF tais como: escore de condição corporal, tamanho do folículo pré-ovulatório, apresentação de estro, número de partos, se parida ou sem bezerros, raça, local, etc (Menegheti *et al*, 2009; Peres *et al*, 2009; Sá Filho *et al*, 2010; Sá Filho *et al*, 2011). No caso de vacas paridas, a utilização do eCG possui importância destacada, pois aumenta a taxa de crescimento do folículo dominante e as taxas de ovulação e gestação em animais em anestro pós parto (Baruselli *et al*, 2004; Sá Filho *et al*, 2010).

Vacas zebuínas têm diferentes características nos seus comportamentos e fisiologias reprodutivas (Baruselli; Gimenes; Sales, 2007), portanto, não se pode simplesmente presumir que os resultados aos tratamentos hormonais sejam os mesmos apresentados por fêmeas taurinas. Logo, fatores que possam interferir na resposta aos protocolos de sincronização do estro e da ovulação precisam ser determinados, permitindo-se assim a utilização de melhores estratégias para aumentar a P/IA seguida da aplicação dos mesmos (Sá Filho *et al*, 2010).

Sirqueira *et al*, (2008) compararam protocolo de IATF com observação de estro por dois dias associado ao uso de GnRH e IATF em vacas taurinas, obtendo aumento nas taxas de gestação, mesmo em vacas em dificuldade climática. Burgos *et al*, (2011) avaliando vacas nelore em experimento semelhante não obtiveram aumento nas taxas de gestação entre o grupo controle e o experimental. Dessa forma objetivou-se com esse trabalho foram avaliar se a observação do estro por dois dias associada à aplicação de GnRH e IATF seria mais eficaz do que protocolo tradicional em vacas zebuínas paridas.

Material e Métodos

Experimento 1

Este experimento foi realizado na fazenda Laranjeiras no município de São Sebastião do Passé na micro-região do Recôncavo Baiano, região metropolitana de Salvador com a localização geográfica de 12° 30' 46" S, 38° 29' 42" W, realizado durante os meses de dezembro de 2010 a fevereiro de 2010.

Foram utilizadas 190 vacas de corte azebuadas (nelore), paridas a mais de 35 dias. As vacas foram avaliadas previamente por ultrasonografia transretal com sonda de disposição linear de cinco mega hertz (MHz) para a avaliação da saúde uterina e condições ovarianas, sendo então, consideradas aptas para IATF.

O protocolo utilizado (Figura 1) para a sincronização da ovulação de todos os animais foi feito por meio da colocação de dispositivo intra-vaginal com 1 g de progesterona e a aplicação de 2 mg de benzoato de estradiol no dia inicial (D0); e no sétimo dia (D7) administrou-se 530 µg de clorprostenol sódico. No nono dia (D9) pela manhã foram retirados todos os implantes e todos os animais receberam 400 unidades internacionais (UI) de gonadotrofina coriônica equina (ECG) e posteriormente se foram agrupados da seguinte forma: em 55 das vacas aplicou-se 0,4ml (0,8 mg) de cipionato de estradiol (CE) como indutor de ovulação e este lote foi chamado de **CE**; em 135 vacas apenas agrupou-se em dois grupos denominados de **Estro mais GnRH 48 horas** e **Estro mais GnRH 54 horas**.

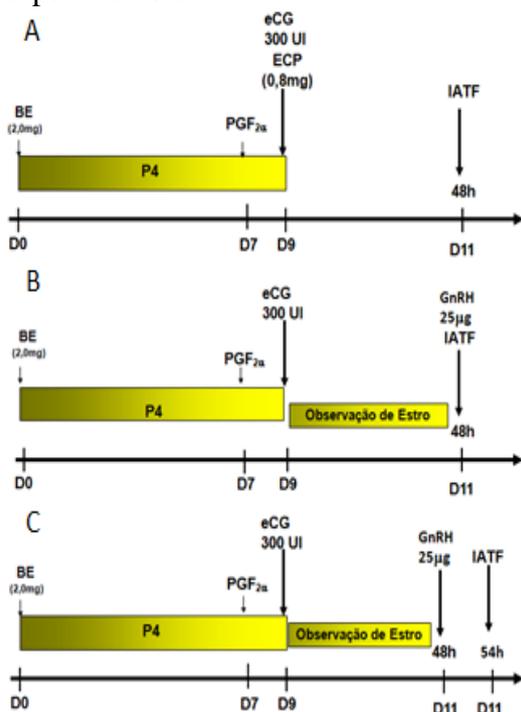
O estro foi observado e anotado para todos os animais do experimento por dois dias a partir da tarde do D9 (retirada dos implantes) até a manhã do décimo primeiro dia (D11) num total de quatro observações realizadas às 6 horas da manhã e no fim da tarde às 5 horas, antes das IATFs. Nos lotes **Estro mais GnRH 48 horas** e **Estro mais GnRH 54 horas**, as vacas que apresentaram estro claro com aceite de monta como sinal de referência ASBIA, 2005, foram inseminadas pela tarde se observadas em estro pela manhã, e pela manhã do dia seguinte se observadas em estro a tarde TRIMBERGER; DAVIS, 1943.

No D11 todas as vacas do lote **CE** foram inseminadas 48 horas pós retirada dos implantes e a indução da ovulação e as vacas do lote **Estro mais GnRH 48 horas** que não apresentaram sinal claro de estro (aceite de monta) receberam aplicação de 25µg de Acetato de gonadorelina medicamento análogo ao GnRH e foram imediatamente inseminadas. As vacas do lote **Estro mais GnRH 54 horas** também receberam aplicação de 25µg de Acetato de gonadorelina porém foram inseminadas apenas 6 horas após a administração do farmaco.

Para separar os animais nos dois grupos de forma mais homogênea possível utilizou-se os seguintes critérios para a distribuição dos animais: o escore de condição corporal que variou de 2,75 a 3,25 em escala de 1 a 5 (1 muito magra e 5 obesa) e o tempo pós-parto.

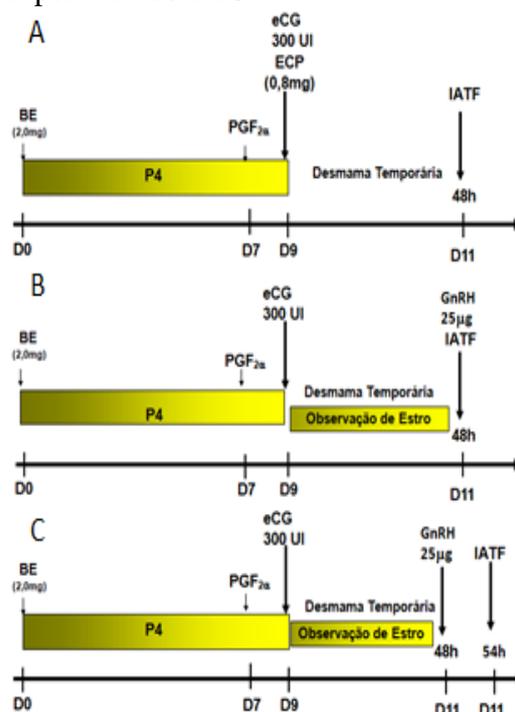
Todos os animais foram examinados por ultrasonografia transretal com transdutor linear de cinco MHz após aproximadamente 45 dias da IATF para a detecção da prenhez. Foram consideradas prenhes as vacas nas quais foram detectados os fetos com visibilização de batimentos cardíacos.

Figura 1. Protocolo de inseminação do experimento 1



A – Grupo controle; B – Grupo **Estro mais GnRH 48h**; C – Grupo **Estro mais GnRH 54h**

Figura 2. Protocolo de inseminação dos experimentos 2 e 3



A – Grupo controle; B – Grupo **Estro mais GnRH 48h**; C – Grupo **Estro mais GnRH 54h**

Experimento 2.

Este experimento foi realizado na fazenda Paraíso no município de Maracás na micro-região de Jequié estado da Bahia com a localização geográfica de 13° 26' 27" S, 40° 25' 51" W, entre março e maio de 2011.

Foram utilizadas 242 vacas de corte azebuadas paridas a mais de 35 dias, divididas em três lotes experimentais. As vacas foram avaliadas previamente por ultrasonografia transretal com sonda de disposição linear de cinco MHz para a avaliação da saúde uterina e condições ovarianas, sendo então, consideradas aptas e submetidas a protocolo de IATF.

Em cada lote experimental foi realizado protocolo para sincronização da ovulação de todos os animais, semelhante ao experimento 1 para IATF também chamados de **CE**, **Estro mais GnRH 48h** e **Estro mais GnRH 54h**, acompanhado também de desmama temporária dos bezerros por 48 horas (Figura 2).

O estro foi observado e anotado para todos os animais do experimento por dois dias a partir da tarde do D9 (retirada dos implantes) até a manhã do D11 num total de quatro observações às 6 horas da manhã e no fim da tarde às 5 horas antes das IATFs

Nos grupos **Estro mais GnRH 48h** e **Estro mais GnRH 54h** as vacas que apresentaram estro claro com aceite de monta por aproximadamente 9 segundos como sinal de referência (ASBIA, 2005), foram inseminadas pela tarde se observadas em estro

pela manhã, e pela manhã do dia seguinte se observadas em estro a tarde conforme Trimberger; Davis, 1943.

Na manhã do D11 todas as vacas do grupo **CE** foram inseminadas 48 horas pós retirada dos implantes e a indução da ovulação, nas vacas do grupo **Estro mais GnRH 48h** que não apresentaram sinal claro de estro (aceite de monta) receberam a aplicação de 25µg de Acetato de gonadorelina e foram imediatamente inseminadas, por fim o grupo **Estro mais GnRH 54h** receberam também pela manhã a aplicação de 25µg de Acetato de gonadorelina porém só foram inseminadas a partir das 14 horas da tarde com mais ou menos 54 horas após a retirada dos implantes.

Experimento 3.

O último experimento também foi realizado na fazenda Paraíso em Maracás na micro-região de Jequié estado da Bahia, entre abril e maio de 2011. Neste experimento 245 vacas zebuínas, seguindo-se a mesma metodologia excetuando-se que o implante de P4 já havia sido utilizado anteriormente por nove dias após o *experimento 2* e sendo limpo e usado sete dias após a retirada dos implantes do experimento anterior.

Todos os animais dos *experimentos 2 e 3* foram examinados por ultrassonografia transretal com transdutor linear de 5 MHz 45 e 52 dias após a IATF para a detecção da prenhez. Foram consideradas prenhes as vacas nas quais foram detectados os fetos com visibilização de batimentos cardíacos.

Análises estatísticas

Os resultados das variáveis das taxas de prenhez nos diferentes grupos testados nos três experimentos foram comparadas pelo teste do Qui Quadrado. Os dados foram analisados através do aplicativo Guided Data Analysis e Analyst do programa SAS System for Windows V.8 (SAS, 2000), para testar a normalidade dos resíduos e homogeneidade das variâncias. Para descrição dos resultados, foram empregadas as médias e os erros padrões das medias. O nível de significância (p) utilizado para rejeitar H0 (hipótese de nulidade) foi de 5%.

Resultado e Discussão

No *experimento 1* os resultados das taxas de prenhez encontrados nos lotes experimentais com observação de estro por dois dias foram de 56,25% para o grupo com **Estro mais GnRH 48 horas** e de 61,97% no grupo **Estro mais GnRH 54 horas** e o grupo controle de IATF **CE** teve resultado de 58,18% não apresentando diferença significativas. No *experimento 2* os resultados foram de 57,50% para o grupo **Estro mais GnRH 48 horas** e de 53,16% no grupo **Estro mais GnRH 54 horas** enquanto a IATF **CE** de controle teve um resultado de 57,83% também não apresentando diferença. No *Experimento 3* utilizando produtos em segundo uso o resultado foi de 56,10% no grupo **Estro mais GnRH 48 horas** e 54,43% no grupo **Estro mais GnRH 54 horas** tendo um resultado de 57,14% na IATF **CE** de controle também não apresentando diferenças. Os resultados dos três experimentos entre si foram semelhantes aos resultados obtidos na literatura nos tratamento de IATF (Meneghetti; Vasconcelos, 2008; Sá Filho *et al.*, 2010; Sá Filho *et al.*, 2011). Todos os resultados também apresentaram taxa de prenhez de valor satisfatório acima de 50% o que é desejável em

protocolos hormonais deste tipo e justifica seu uso em programas de operação em gado de corte (Madureira *et al*, 2005).

Com relação aos grupos de observação de estro os resultados encontrados foram: no *experimento 1* 29,68% de apresentação do estro no grupo **Estro mais GnRH 48 horas** e de 21,13% no grupo **Estro mais GnRH 54 horas**; no *experimento 2* a apresentação de estro no grupo **Estro mais GnRH 48 horas** foi de 21,25% e no grupo **Estro mais GnRH 54 horas** foi de 25,32%; no *experimento 3* a apresentação de estro foi de 39,02% no grupo **Estro mais GnRH 48 horas** e de 32,91% no grupo **Estro mais GnRH 54 horas**.

Estes resultados acima comparados com a observação de estro relatada por Siqueira *et al*, (2008) que observaram resultados de 48,7% de estro em vacas taurinas de corte, demonstrando que esses animais apresentaram uma maior facilidade na apresentação de estro por observação comparado com animais azebuados. Burgos *et al*, (2011), utilizando protocolo semelhante em vacas zebuínas, verificaram taxa de observação de estro de 29,41% apresentando números mais próximos dos encontrados neste experimento.

Fêmeas zebuínas apresentam estro com duração mais curta, com cerca de 10 horas, sendo menor em relação às taurinas (Ford *et al*, 2011; Sartori; Barros; 2011). Nestas vacas, mais de 50% dos animais tendem a iniciar a manifestação dos sinais de estro à noite com cerca de 30% iniciando e encerrando durante a noite, entre 18 horas e 6 da manhã, o que dificulta a detecção de estro. Estes efeitos tendem a provocar um número de animais encontrados em estro das vacas *Bos taurus indicus* menor do que nas vacas *Bos taurus taurus* (Baruselli; Gimenes; Sales, 2007).

Tabela 1 – Porcentagens de estro, concepção e prenhez em vacas de corte no pós-parto submetidas somente à IATF, utilizando como indutor da ovulação o cipionato de estradiol (CE), ou às 48 horas de observação de estro e inseminação convencional associada à IATF com GnRH (Experimento 1).

Parâmetros	Grupos		
	IATF	Estro mais GnRH 48h	Estro mais GnRH 54h
Estro ¹		19/64 - 29,69	15/71 - 21,13
Coberturas ²	Estro	15/19 - 78,95	13/15 - 86,67
	IATF	32/55 - 58,18	21/52 - 40,38
Prenhez ³	32/55 - 58,18	36/64 - 56,25	44/71 - 61,97

¹ animais que foram detectados em estro no período de 48h nos grupos **Estro mais GnRH 48 horas** e **Estro mais GnRH 54 horas**;

² n° de vacas prenhes ao diagnóstico de gestação/n° de vacas inseminadas;

³ n° de vacas prenhes ao diagnóstico de gestação/n° de vacas sincronizadas

Tabela 2 – Porcentagens de estro, concepção e prenhez em vacas de corte no pós-parto submetidas somente à IATF, utilizando como indutor da ovulação o cipionato de estradiol (CE), ou às 48 horas de observação de estro e inseminação convencional associada à IATF com GnRH (Experimento 2).

Parametros	Grupos		
	IATF	Estro mais GnRH 48h	Estro mais GnRH 54h
Estro ¹		17/80 - 21,25	20/79 - 25,32
Cobertura ²			
	Estro	8/17 - 47,06	6/20 - 30,00
	IATF	48/83 - 57,83	39/63 - 61,90
Prenhez ³	48/83 - 57,83	46/80 - 57,50	42/79 - 53,16

¹ animais que foram detectados em estro no período de 48h nos grupos **Estro mais GnRH 48 horas** e **Estro mais GnRH 54 horas**;

² n° de vacas prenhes ao diagnóstico de gestação/n° de vacas inseminadas;

³ n° de vacas prenhes ao diagnóstico de gestação/n° de vacas sincronizadas

Tabela 3 – Porcentagens de estro, concepção e prenhez em vacas de corte no pós-parto submetidas somente à IATF, utilizando como indutor da ovulação o cipionato de estradiol (CE), ou às 48 horas de observação de estro e inseminação convencional associada à IATF com GnRH (Experimento 3).

Parametros	Grupos		
	IATF	Estro mais GnRH 48h	Estro mais GnRH 54h
Estro ¹		32/82 - 39,02	26/79 - 32,91
Cobertura ²			
	Estro	23/32 - 71,84	14/26 - 53,85
	IATF	48/84 - 57,14	23/50 - 46,00
Prenhez ³	48/84 - 57,14	46/82 - 54,43	43/79 - 54,43

¹ animais que foram detectados em estro no período de 48h nos grupos **Estro mais GnRH 48 horas** e **Estro mais GnRH 54 horas**;

² n° de vacas prenhes ao diagnóstico de gestação/n° de vacas inseminadas;

³ n° de vacas prenhes ao diagnóstico de gestação/n° de vacas sincronizadas

Com relação à taxa de prenhez, nos animais inseminados com utilização de GnRH, dos grupos com observação de estro, como indutor de ovulação dos lotes do *experimento 1* foi de 40,38% de prenhez no lote **Estro mais GnRH 48 horas** e de 57,63% no lote **Estro mais GnRH 54 horas**. No *experimento 2* a prenhez pós GnRH foi de 61,90% no lote **Estro mais GnRH 48 horas** e de 61,02% no lote **Estro mais GnRH 54 horas**. Já no *experimento 3* a gestação alcançada foi de 46% no lote **Estro mais GnRH 48 horas** e de 54,72% no lote **Estro mais GnRH 54 horas** com resultados de prenhez semelhantes aos citados na literatura tanto de animais de corte quanto de leite (Menegheti *et al*, 2009; Sá Filho *et al*, 2009).

As vacas inseminadas com observação de estro e inseminação ficaram gestantes em 78,95% no lote **Estro mais GnRH 48 horas** e de 86,67% no lote **Estro mais GnRH 54 horas** no *experimento 1*. No *experimento 2* a gestação foi de 47,06% de prenhez no lote **Estro mais GnRH 48 horas** e de 30% no lote **Estro mais GnRH 54 horas**. No *experimento 3* a taxa de prenhez foi de 71,88% no lote **Estro mais GnRH 48 horas** e de 53,85% no lote **Estro mais GnRH 54 horas**.

Vacas inseminadas após a detecção de estro tendem a apresentar taxa de concepção de 20 a 90% e dependem de fatores relacionados à morte embrionária precoce nos primeiros trinta dias de gestação após a IA (Santos *et al*, 2004). Contudo outros agentes como a qualidade do sêmen e dos espermatozoides (Arruda *et al* 2006) e a capacidade dos inseminadores podem também diminuir os resultados (Vendruscolo, *et al*, 2006; Russi; Costa e Silva; Zúccari, 2009).

As vacas controle deste experimento (Grupo CE) tiveram resultado nas IATFs em cada grupo com prenhezes de 58,18%, 57,83% e 57,14% respectivamente para cada um dos experimentos com resultados esperados para este tipo de protocolo. No trabalho realizado em gado taurino por Siqueira *et al*. (2008) com a observação de estro por 48 horas e GnRH ocorreu resultado de 54,7% para o grupo experimental havendo diferença significativa, utilizando a IATF clássica como controle para este tipo de resultado pois o resultado de prenhez foi de 33,3% na IATF do grupo controle, porém, os valores obtidos foram abaixo do esperado, normalmente em torno de 50%, em diversos protocolos de IATF descritos na literatura os quais podem ser considerados, resultados inferiores que são insatisfatórios, pois não justificam os custos de manejo e a implementação destes programas hormonais (Geary *et al*, 2001; Martinez *et al*, 2002; Menegheti; Vasconcelos, 2008; Sá Filho *et al*, 2010; Sá Filho *et al*, 2011). No grupo experimental, de Siqueira *et al*, (2008) contudo, é notificado que o rebanho estava em condições climáticas adversas, mas melhoraram os resultados comparados com o grupo controle possivelmente com a maior observação do estro no grupo experimental. Sá Filho *et al*, (2011) acompanhando estro junto com a IATF demonstraram que as vacas que entram no estro por coloração da base da cauda após a retirada dos implantes nos animais teve o número de prenhezes significativamente maior que as vacas que não demonstraram estro no tratamento.

Conclusão

O referido tratamento trabalhado nestes experimentos com observação de estro por 48 horas associado a IA pelo método de observação de cio a tarde e pela manhã seguido de IATF com GnRH em horários diferentes apresentou resultado semelhante aos protocolos de IATF tradicionais. Contudo exigiu-se aumento significativo de mão de obra além de um custo maior em hormônios com o GnRH visto que são mais caros que o CE ou BE, levando a um maior custo de serviço sem

proporcionar uma melhora efetiva dos resultados de aumento de vacas gestantes *Bos indicus indicus*.

Agradecimentos

Os autores agradecem a CAPES pelo suporte financeiro e a Agener União pelo apoio em medicamentos.

Referências bibliográficas

- Arruda, R.P.; Celeghini, E.C.C.; Andrade, A.F.C.; Raphael, C.F.; Peres, K.R.; Neves, L.C.** Influência da qualidade do sêmen nos resultados de prenhez em programas de IATF e TETF. *Anais do 2º Simp Reprod Anim Aplic*, p.157-164, Londrina, PR, 2006.
- Bó, G.A.; Cutaia, L.; Peres, L.C.; Pincinato, D.; Maraña, D.; Baruselli, P.S.** Technologies for fixed-time artificial insemination and their influence on reproductive performance of *Bos indicus* cattle. *Soc Reprod and Fert Suppl*, v.64 p.223–36, 2007.
- Baruselli, P. S.; Reis, E.L.; Marques, M.O.; Nasser, L.F.; Bó, G.A.** The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrous beef cattle in tropical climates. *Anim Reprod Sci*, v. 82, p.479–486, 2004.
- Baruselli, P.S.; Gimenes, L.U.; Sales, J.N.S.** Fisiologia reprodutiva de fêmeas taurinas e zebuínas. *Rev Bras Reprod Anim*, v.31, n.2, p.205-211, 2007.
- Burns, B.M.; Fordyce, G.; Holroyd, R.G.** A review of factors that impact on the capacity of beef cattle females to conceive, maintain a pregnancy and wean a calf—Implications for reproductive efficiency in northern Australia. *Anim Reprod Sci*, v.122, p.1-22, 2010.
- Burgos, D.C.; Oliveira Junior, S.; Sant’Ana, A.C.S.; Wicke, A.A.; Vidal, A.H.; Fraga Junior, A.M.; Costa Junior, J.L.; Cavalcante, A.K.S.; Carneiro, G.F.** Protocolo de IATF com detecção de estro por 48 horas e GnRH em vacas azebuadas. *XIX Col Bras Reprod Anim*. v.19, p. 120, MG, 2011.
- Ford, N.; Belmana, M.E.; Lonergana, P.; Diskinc, M.; Rochea, J.F.; Crowe, M.A.** Oestrous cycles in *Bos taurus* cattle, *Anim Reprod Sci*, v.124, p.163-169, 2011.
- Geary, T.W.; Whittier, J.C.; Hallford, D.M.; Macneil, M.D.** Calf removal improves conception rates to the Ovsynch and CO-Synch protocols. *Journ Anim Sci*, v.79, p.1-4, 2001.
- Madureira, E.D.; Baruselli, P.B.; Pimentel, J.R.V.; Almeida, A.B.** A IATF possui custo benefício favorável? *Acta Sci Vet*. v.33, Supl.1, p.141-143, 2005.
- Martinez, M.F.; Kastelic, J.P.; Adams, G.P.; Mapletof, R.J.** The use of a progesterone-releasing device (CIDR-B) or melengestrol acetate with GnRH, LH, or estradiol benzoate for fixed-time AI in beef heifers. *Journ Anim Sci*, v.80, p.1476-1751, 2002.
- Meneghetti, M.; Vasconcelos, J.L.M.** Mês de parição, condição corporal e resposta ao protocolo de inseminação artificial em tempo fixo em vacas de corte primíparas. *Arq Bras Med Vet Zootec*. v.60, n.4, p.786-793, 2008.
- Meneghetti, M.; Sá Filho, O.G.; Peres, R.F.G.; Lamb, G.C.; Vasconcelos, J.L.M.** Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows I: Basis for development of protocols. *Theriogenology*, v.72, p.179-189, 2009.
- Peres, R.F.G.; Claro Junior, I.; Sá Filho, O.G.; Nogueira, G.P.; Vasconcelos, J.L.M.** Strategies to improve fertility in *Bos indicus* postpubertal heifers and nonlactating cows submitted to fixed-time artificial insemination. *Theriogenology*, v.72, p.681-689, 2009.

- Russi, L.S.; Costa e Silva, E.V.; Zúccari, C.E.S.** Importância da capacitação de recursos humanos em programas de inseminação artificial. *Rev Bras Reprod Anim.* v.33, n.1, p.20-25, 2009.
- Siqueira, L.C.; Oliveira, J.F.C.; Loguécio, R.S.; Löf, H.K.; Gonçalves, P.B.D.** Sistemas de inseminação em dois dias com observação de estro ou em tempo fixo para vacas de corte amamentando. *Ciênc Rur*, v.38, n.2 p.411-415, 2008.
- Sá Filho, M.F.; Crespilho, A.M.; Santos, J.E.P.; Perryd, G.A.; Baruselli, P.S.** Ovarian follicle diameter at timed insemination and estrous response influence likelihood of ovulation and pregnancy after estrous synchronization with progesterone or progestin-based protocols in suckled *Bos indicus* cows. *Anim Reprod Sci*, v.120, p.23-20, 2010.
- Sá Filho, M.F.; Torres Junior, J.R.S.; Penteado, L.; Gimenes, L.U.; Ferreira, R.M.; Ayres, H.; Castro e Paula, L.A.; Sales, J.N.S.; Baruselli, P.S.** Equine chorionic gonadotropin improves the efficacy of a progestin-based fixed-time artificial insemination protocol in Nelore (*Bos indicus*) heifers. *Anim Reprod Sci*, v.118, p.182-187, 2010.
- Sá Filho, M.F.; Santos, J.E.P.; Ferreira, R.M.; Sales, J.N.S. Baruselli, P.S.** Importance of estrus on pregnancy per insemination in suckled *Bos indicus* cows submitted to estradiol/progesterone-based timed insemination protocols. *Theriogenology*, v.76, p.455-463, 2011.
- Sá Filho, O.G.; Meneghetti, M.; Peres, R.; Lamb, G.; Vasconcelos, J.L.M.** Fixed-time artificial insemination with estradiol and pro-gesterone for *Bos indicus* cows II: Strategies and factors affecting fertility. *Theriogenology*, v.72, p.210-218, 2009.
- Sá Filho, O.G.; Vilela, E.R.; Geary, T.W.; Vasconcelos, J.L.M.** Strategies to improve fertility in postpartum multiparous *Bos indicus* cows submitted to a fixed-time insemination protocol with gonadotropin-releasing hormone and prostaglandin F2 α . *Journ Anim Sci*, v.87, p.2806-2814, 2009.
- Santos, J.E.P. Thatcher, W.W.; Chebel, R.C.; Cerri, R.L.A.; Galvão, K.N.** The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrus synchronization programs. *Anim Reprod Sci*, v.82-83, p.513-535, 2004.
- Sartori, R.; Barros, C.M.** Reproductive cycles in *Bos indicus* cattle. *Anim Reprod Sci*, v.124, p.244-250, 2011.
- Segui, M.S.; Weis, W.L.; Cunha, A.P.; Zoller, R.** Indução ao estro em bovinos de corte. *Arch Vet Sci*, v.7, n.2, p.173-178, 2002.
- STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM - SAS.** User's guide. Cary: 2000. (CD-ROM).
- Trimberger, GW; Davis, H.P.** Breeding Efficiency in dairy cattle bred at various stages of estrus by artificial insemination. *Journ Dairy Sci*, v.26, p.757-759, 1943.
- Vasconcelos, J.L.M.; Meneghetti, M.; Santos, R.M.** Inseminação artificial em tempo fixo (IATF) em bovinos. *Acta Sci Vet*, v.34, (supl.1) p.9-16, 2006.
- Vendruscolo, M ; Kozicki, L.E.; Segui, M.S.; Weiss, R.R.; Santos, I.V.** Relação entre a duração do ato de inseminar e a fertilidade. *Arch Vet Sci*, v.10, n.2, p.81-88, 2005.

6 ANEXOS

Protocolo de IATF com detecção de estro por 48 horas e GnRH em vacas azebuadas

TAI protocol with 48 hours of estrus detection and GnRH in zebu cattle

D.C. Burgos^{1,2}, S. Oliveira Junior², A.C.S. de Sant`Ana², A.A. Wicke², A.H. Vidal¹, A.M. Fraga Junior¹, J.L. Costa Junior³, A.K.S. Cavalcante⁴, G.F. Carneiro¹

¹PPGSRR-UAG/Clínica de Bovinos de Garanhuns –UFRPE, ²CRIAR–Salvador/BA, ³PPGGBC–UESB-Jequié/BA, ⁴UFRB
E-mail: danburgos@terra.com.br

Introdução

A Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF) é uma ferramenta que aumenta o desempenho reprodutivo, o qual é mais importante que ganho de peso ou características de carcaça para a bovinocultura. Siqueira et al. (2008) compararam protocolo de IATF com observação de estro por dois dias associado ao uso de GnRH e IATF em vacas taurinas, obtendo aumento da eficiência reprodutiva. Objetivou-se avaliar se a observação do estro por dois dias associada à aplicação de GnRH e IATF seria mais eficaz do que protocolo de IATF em vacas zebuínas.

Material e Métodos

Cem vacas paridas foram sincronizadas com implantes de P4 e 2mg de BE. No D7 foi aplicado 12,5mg de PGF2 α . No D9 foram retirados os implantes, realizada desmama por 54 horas e formados os seguintes grupos: G1 – 49 vacas – aplicou-se 0,8mg de ECP; G2 – 51 vacas – observou-se o estro 2 vezes por dia por 48 horas, e as vacas que o apresentaram foram inseminadas pelo modelo AM/PM. No D11 todas as vacas do G1 foram inseminadas e nas vacas do G2 que não apresentaram estro aplicou-se 25 μ g de GnRH e imediata inseminação. Após 45 dias diagnosticou-se as gestações e os resultados foram submetidos ao teste do quadrado.

Resultados e discussão

As prenhez nos grupos 1 e 2 foram 40,82% (20/49) e 45,10% (23/51) respectivamente, não existindo diferença entre os mesmos ($P < 0,05$). A taxa de estro no G2 foi de 29,41% (15/51) contrastando com Siqueira et. Al. (2008) que obteve uma taxa de 48,7% em vacas taurinas. Diferentemente de vacas de leite, o uso do GnRH para IATF como indutor da ovulação, ainda não está adequado para ser utilizado em vacas de corte, pois produzem resultados variados. Neste experimento as prenhez do GnRH foram de 33,33% (12/36) que se vistos isoladamente foram relativamente baixas. Contudo, ao se realizar um período de 48h de detecção de estros anteriormente ao mesmo, torna-se uma ferramenta importante, capaz de proporcionar uma prenhez aceitável.

Referências bibliográficas

- Siqueira, L.C.; Oliveira, J.F.C.; Loguercio R.S.; Lof, H. K.; Gonçalves, P.B.D.** Sistemas de inseminação em dois dias com observação de estro ou em tempo fixo para vacas de corte amamentando. *Ciência Rural*, v. 38, n. 2, p. 411-415, 2008.
- Vasconcelos, J.L.M.; Meneghetti, M.; Santos, R.M.** Inseminação artificial em tempo fixo (IATF) em bovinos. *Acta Scientiae Veterinariae*, v.34, Supl.1, p.9-16, 2006.

Palavras-chave: IATF; Sincronização; Ovulação; Estro; GnRH.
Keywords: TAI; Synchronization; Ovulation; Estrus; GnRH.



Ciência Rural

Normas para publicação

1. CIÊNCIA RURAL - Revista Científica do Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Maria publica artigos científicos, revisões bibliográficas e notas referentes à área de Ciências Agrárias, que deverão ser destinados com exclusividade.

2. Os **artigos científicos, revisões e notas** devem ser encaminhados via [eletrônica](#) e editados em idioma Português ou Inglês. Todas as linhas deverão ser numeradas e paginadas no lado inferior direito. O trabalho deverá ser digitado em tamanho A4 210 x 297mm com, no máximo, 25 linhas por página em espaço duplo, com margens superior, inferior, esquerda e direita em 2,5cm, fonte Times New Roman e tamanho 12. **O máximo de páginas será 15 para artigo científico, 20 para revisão bibliográfica e 8 para nota, incluindo tabelas, gráficos e figuras.** Figuras, gráficos e tabelas devem ser disponibilizados ao final do texto e individualmente por página, sendo que **não poderão ultrapassar as margens e nem estar com apresentação paisagem.**

3. O artigo científico deverá conter os seguintes tópicos: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Introdução com Revisão de Literatura; Material e Métodos; Resultados e Discussão; Conclusão e Referências; Agradecimento(s) e Apresentação; Fontes de Aquisição; Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. **Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão** (Modelo [.doc](#), [.pdf](#)).

4. A revisão bibliográfica deverá conter os seguintes tópicos: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Introdução; Desenvolvimento; Conclusão; e Referências. Agradecimento(s) e Apresentação; Fontes de Aquisição e Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. **Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão** (Modelo [.doc](#), [.pdf](#)).

5. A nota deverá conter os seguintes tópicos: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Texto (sem subdivisão, porém com introdução; metodologia; resultados e discussão e conclusão; podendo conter tabelas ou figuras); Referências. Agradecimento(s) e Apresentação; Fontes de Aquisição e Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. **Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão.** (Modelo [.doc](#), [.pdf](#)).

6. Não serão fornecidas separatas. Os artigos encontram-se disponíveis no formato pdf no endereço eletrônico da revista www.scielo.br/cr.

7. Descrever o título em português e inglês (caso o artigo seja em português) - inglês e português (caso o artigo seja em inglês). Somente a primeira letra do título do artigo deve ser maiúscula exceto no caso de nomes próprios. Evitar abreviaturas e nomes científicos no título. O nome científico só deve ser empregado quando estritamente necessário. Esses devem aparecer nas palavras-chave, resumo e demais seções quando necessários.

8. As citações dos autores, no texto, deverão ser feitas com letras maiúsculas seguidas do ano de publicação, conforme exemplos: Esses resultados estão de acordo com os reportados por MILLER & KIPLINGER (1966) e LEE et al. (1996), como uma má formação congênita (MOULTON, 1978).

9. As Referências deverão ser efetuadas no estilo ABNT (NBR 6023/2000) conforme normas próprias da revista.

9.1. Citação de livro:

JENNINGS, P.B. **The practice of large animal surgery**. Philadelphia : Saunders, 1985. 2v.

TOKARNIA, C.H. et al. (Mais de dois autores) **Plantas tóxicas da Amazônia a bovinos e outros herbívoros**. Manaus : INPA, 1979. 95p.

9.2. Capítulo de livro com autoria:

GORBAMAN, A. A comparative pathology of thyroid. In: HAZARD, J.B.; SMITH, D.E. **The thyroid**. Baltimore : Williams & Wilkins, 1964. Cap.2, p.32-48.

9.3. Capítulo de livro sem autoria:

COCHRAN, W.C. The estimation of sample size. In: _____. **Sampling techniques**. 3.ed. New York : John Willey, 1977. Cap.4, p.72-90.

TURNER, A.S.; McILWRAITH, C.W. Fluidoterapia. In: _____. **Técnicas cirúrgicas em animais de grande porte**. São Paulo : Roca, 1985. p.29-40.

9.4. Artigo completo:

O autor deverá acrescentar a url para o artigo referenciado e o número de identificação DOI (Digital Object Identifiers), conforme exemplos abaixo:

MEWIS, I.; ULRICHS, CH. Action of amorphous diatomaceous earth against different stages of the stored product pests *Tribolium confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae), *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae), *Sitophilus granarius* (Coleoptera: Curculionidae) and *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). **Journal of Stored Product Research**, Amsterdam (Cidade opcional), v.37, p.153-164, 2001. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0022-474X\(00\)00016-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0022-474X(00)00016-3)>. Acesso em: 20 nov. 2008. doi: 10.1016/S0022-474X(00)00016-3.

PINTO JUNIOR, A.R. et al (Mais de 2 autores). Resposta de *Sitophilus oryzae* (L.), *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens) e *Oryzaephilus surinamensis* (L.) a diferentes concentrações de terra de diatomácea em trigo armazenado a granel. **Ciência Rural**, Santa Maria (Cidade opcional), v. 38, n. 8, p.2103-2108, nov. 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782008000800002&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em: 25 nov. 2008. doi: 10.1590/S0103-84782008000800002.

9.5. Resumos:

RIZZARDI, M.A.; MILGIORANÇA, M.E. Avaliação de cultivares do ensaio nacional de girassol, Passo Fundo, RS, 1991/92. In: JORNADA DE PESQUISA DA UFSM, 1., 1992, Santa Maria, RS. **Anais...** Santa Maria : Pró-reitoria de Pós-graduação e Pesquisa, 1992. V.1. 420p. p.236.

9.6. Tese, dissertação:

COSTA, J.M.B. **Estudo comparativo de algumas características digestivas entre bovinos (Charolês) e bubalinos (Jafarabad)**. 1986. 132f. Monografia/Dissertação/Tese (Especialização/ Mestrado/Doutorado em Zootecnia) - Curso de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Santa Maria.

9.7. Boletim:

ROGIK, F.A. **Indústria da lactose**. São Paulo : Departamento de Produção Animal, 1942. 20p. (Boletim Técnico, 20).

9.8. Informação verbal:

Identificada no próprio texto logo após a informação, através da expressão entre parênteses. Exemplo: ... são achados descritos por Vieira (1991 - Informe verbal). Ao final do texto, antes das Referências Bibliográficas, citar o endereço completo do autor (incluir E-mail), e/ou local, evento, data e tipo de apresentação na qual foi emitida a informação.

9.9. Documentos eletrônicos:

MATERA, J.M. **Afecções cirúrgicas da coluna vertebral: análise sobre as possibilidades do tratamento cirúrgico**. São Paulo : Departamento de Cirurgia, FMVZ-USP, 1997. 1 CD.

GRIFON, D.M. Arthroscopic diagnosis of elbow displasia. In: WORLD SMALL ANIMAL VETERINARY CONGRESS, 31., 2006, Prague, Czech Republic. **Proceedings...** Prague: WSAVA, 2006. p.630-636. Acessado em 12 fev. 2007. Online. Disponível em: <http://www.ivis.org/proceedings/wsava/2006/lecture22/Griffon1.pdf?LA=1>

UFRGS. **Transgênicos**. Zero Hora Digital, Porto Alegre, 23 mar. 2000. Especiais. Acessado em 23 mar. 2000. Online. Disponível em: <http://www.zh.com.br/especial/index.htm>

ONGPHIPHADHANAKUL, B. Prevention of postmenopausal bone loss by low and conventional doses of calcitriol or conjugated equine estrogen. **Maturitas**, (Ireland), v.34, n.2, p.179-184, Feb 15, 2000. Obtido via base de dados MEDLINE. 1994-2000. Acessado em 23 mar. 2000. Online. Disponível em: <http://www.Medscape.com/server-java/MedlineSearchForm>

MARCHIONATTI, A.; PIPPI, N.L. Análise comparativa entre duas técnicas de recuperação de úlcera de córnea não infectada em nível de estroma médio. In: SEMINARIO LATINOAMERICANO DE CIRURGIA VETERINÁRIA, 3., 1997, Corrientes, Argentina. **Anais...** Corrientes : Facultad de Ciencias Veterinarias - UNNE, 1997. Disquete. 1 disquete de 31/2. Para uso em PC.

10. Desenhos, gráficos e fotografias serão denominados figuras e terão o número de ordem em algarismos arábicos. A revista não usa a denominação quadro. As figuras devem ser disponibilizadas individualmente por página. Os desenhos figuras e gráficos (com largura de no máximo 16cm) devem ser feitos em editor gráfico sempre em qualidade máxima com pelo menos 300 dpi em extensão .tiff. As tabelas devem conter a palavra tabela, seguida do número de ordem em algarismo arábico e não devem exceder uma lauda.

11. Os conceitos e afirmações contidos nos artigos serão de inteira responsabilidade do(s) autor(es).

12. Será obrigatório o cadastro de todos autores nos metadados de submissão. O artigo não tramitará enquanto o referido item não for atendido. Excepcionalmente, mediante consulta prévia para a Comissão Editorial outro expediente poderá ser utilizado.

13. Lista de verificação (Checklist [.doc](#), [.pdf](#)).

14. Os artigos serão publicados em ordem de aprovação.

15. Os artigos não aprovados serão arquivados havendo, no entanto, o encaminhamento de uma justificativa pelo indeferimento.

16. Em caso de dúvida, consultar artigos de fascículos já publicados antes de dirigir-se à Comissão Editorial.



Ministério da
Ciência e Tecnologia

Ministério
da Educação



Ciência Rural
Universidade Federal de Santa Maria - Centro de Ciências Rurais
Prédio 42, Sala 3104 97105-900 - Santa Maria, RS, Brasil
E-mail: cienciarural@mail.ufsm.br
Fone/Fax: (55) 32208698
Fax: (55) 32208695