

GUILHERME ANICETO VERAS

**EFEITO DO DIÂMETRO FOLICULAR E MANIFESTAÇÃO DE ESTRO
SOBRE O DESEMPENHO REPRODUTIVO DE VACAS NELORE
SUBMETIDAS À IATF**

RECIFE

2018



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIENCIA VETERINÁRIA

GUILHERME ANICETO VERAS

EFEITO DO DIÂMETRO FOLICULAR E MANIFESTAÇÃO DE ESTRO
SOBRE O DESEMPENHO REPRODUTIVO DE VACAS NELORE
SUBMETIDAS À IATF

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciência Veterinária.

Orientador:

Prof. Dr. Marcos Antônio Lemos de Oliveira

Co-orientador:

Prof. Dr. Cláudio Coutinho Bartolomeu

RECIFE

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE
Biblioteca Central, Recife-PE, Brasil

V476e Veras, Guilherme Aniceto
Efeito do diâmetro folicular e manifestação de estro sobre o desempenho reprodutivo de vacas nelore submetidas à IATF / Guilherme Aniceto Veras. – 2017.
58 f. : il.

Orientador: Marcos Antônio Lemos de Oliveira.
Coorientador: Cláudio Coutinho Bartolomeu.
Tese (Doutorado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária, Recife, BR-PE, 2017.
Inclui referências.

1. Ovário 2. Dinâmica folicular 3. *Bos indicus* 4. Ovulação
5. Concepção I. Oliveira, Marcos Antônio Lemos de, orient.
II. Bartolomeu, Cláudio Coutinho, coorient. III. Título

CDD 636.089

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA VETERINÁRIA

EFEITO DO DIÂMETRO FOLICULAR E MANIFESTAÇÃO DE ESTRO
SOBRE O DESEMPENHO REPRODUTIVO DE VACAS NELORE
SUBMETIDAS À IATF

Tese de Doutorado elaborada por

GUILHERME ANICETO VERAS

Aprovada em/...../.....

BANCA EXAMINADORA

Prof. MARCOS ANTÔNIO LEMOS DE OLIVEIRA
Orientador – Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE

Prof. CLÁUDIO COUTINHO BARTOLOMEU
Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE

Dr. FERNANDO TENÓRIO FILHO
Instituto Agronômico de Pernambuco - IPA

Dr. JORGE MOTTA DA ROCHA
Departamento de Produção Animal - UFRN

Prof. MANOEL LOPES DA SILVA FILHO
Departamento de Medicina Veterinária da UFPI

À Minha Família: Pais, irmãos, esposa e filhos.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por estar presente em mais uma etapa de minha vida, dando-me força e coragem para continuar caminhando pelos ideais.

A minha querida esposa, Ana Marcela e aos nossos filhos Mariana e Vinícius pela força, amor, compreensão, paciência, e apoio incondicional durante todo período.

Aos meus pais, Francisco Batista Veras e Josefa Aniceto Veras, pelo constante apoio, amor, confiança, lições de vida e formação moral, além de meus irmãos Gustavo e Priscila, vocês são um pedaço da minha vida.

Ao amigo e orientador de ESO, mestrado e co-orientador de doutorado, Prof. Cláudio Coutinho Bartolomeu, pelos conhecimentos compartilhados, dedicação e confiança durante todo esse tempo, um grande exemplo de pessoa e profissional a se espelhar. Muito obrigado pelos conselhos e ensinamentos!

Ao Prof. Dr. Marcos Antônio, pela orientação e amizade, informações repassadas, dedicação e acolhimento no departamento de reprodução da UFRPE/Recife.

Aos proprietários e equipes das Fazendas: Vale do Gurupí (Junco do Maranhão, Maranhão), Rancho do Vale Agropecuária (Canindé do S. Francisco, Sergipe) e Moriá (Cuité do Mamanguape, Paraíba) por permitir o uso de seus animais e instalações para este estudo.

Ao Dr. Matheus Cavalcante (Agromaratá) por sua colaboração, indispensável, na gestão dos animais e com protocolos de sincronização.

Ao Dr. Reuel Gonçalves (Biogénesis Bagó Saúde Animal, Curitiba, Paraná) e Dr. Milton Maturana (FMVZ/USP) pelo apoio a essa pesquisa.

Ao companheiro Dr. Rafael Artur, mestrando na UFRPE, pelo auxílio e parceria durante a execução do experimento.

A Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) pela oportunidade da realização e construção da minha vida profissional, desde a graduação até o doutorado.

Ao Programa de Pós-graduação em Ciência Veterinária (PPGCV), em nome do coordenador Prof. Dr. Fábio Mendonça, agradeço a todos os professores e pós-graduandos.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de Doutorado.

Obrigado a todos, vocês foram essenciais durante a caminhada para a conclusão deste trabalho!

“Você nunca sabe que resultados virão da sua ação. Mas se você não fizer nada, não existirão resultados”.

Mahatma Gandhi

RESUMO

EFEITO DO DIÂMETRO FOLICULAR E MANIFESTAÇÃO DE ESTRO SOBRE O DESEMPENHO REPRODUTIVO DE VACAS NELORE SUBMETIDAS À IATF

O objetivo do estudo, foi avaliar o desempenho reprodutivo de vacas Nelore lactantes submetidas a IATF a partir do diâmetro folicular e manifestação de estro. Avaliaram-se as possíveis implicações práticas do uso dessas informações para a melhoria dos programas de IATF em fêmeas Nelore lactantes. Esse estudo é dividida em 2 partes: Na primeira parte, estudou-se as associações entre o diâmetro folicular ao final do protocolo de sincronização, na ocorrência de estro e taxa de concepção de vacas nelore lactantes submetidas a IATF. Observou-se que vacas com folículo de maior diâmetro, mensurado no momento da IATF, foram mais propensas a manifestar estro e de se tornarem gestantes. Na segunda parte, avaliou-se a importância da ocorrência de estro e da administração de GnRH no momento da IATF e observou-se que a ocorrência de estro, avaliada pela remoção da tinta na base da cauda, foi um fator importante associado a melhorias na taxa de concepção em vacas Nelore lactantes, assim como, a administração de GnRH, em vacas que não exibiram estro, favoreceu o aumento da taxa de concepção. Foi observado que a ocorrência de estro, foi um fator importante associado a melhorias na TC em vacas Nelore lactantes, assim como, a administração de GnRH, em vacas que não exibiram estro, favoreceu o aumento da TC. O ECC influenciou a TC no grupo controle, mas não em vacas que receberam GnRH. O número de usos do dispositivo de P4 afetou a ocorrência de estro, assim como, a TC. Houve influência do touro sobre a TC.

Palavras-chave: Ovário, Dinâmica folicular, *Bos indicus*, Ovulação, Concepção.

ABSTRACT

EFFECT OF THE FOLLICULAR DIAMETER AND ESTRO MANIFESTATION ON THE REPRODUCTIVE PERFORMANCE OF NELORE COWS SUBMITTED TO TAI

The objective of the present study was to evaluate the reproductive performance of lactating Nelore cows submitted to TAI considering the follicular diameter and estrus manifestation. Thus, the possible practical implications of the use of this information for the improvement of TAI programs in lactating zebu females were evaluated. This study is divided into 2 parts. In the first part, it was evaluated the associations between the follicular diameter at the end of the synchronization protocol, in the occurrence of estrus and conception rate of Nelore cows submitted to TAI. It was observed that cows with larger follicles diameter, measured at the time of TAI, were more likely to show estrus and become pregnant. The second part, it was evaluated the importance of the occurrence of estrus and the administration of GnRH at the time of TAI and it was observed that the occurrence of estrus, evaluated by the removal of the ink at the base of the tail, was an important factor associated with improvements in conception rate of lactating Nelore cows, as well as administration of GnRH in cows that did not show estrus, favored an increase in conception rate. ECC influenced conception rate in the control group, but not in cows receiving GnRH. The number of uses of the P4 device affected the occurrence of estrus, as well as the rate of conception. Bull also influenced conception rate. Thus, alternatives should be adopted with the aim of increasing the diameter of the ovulatory follicle, favoring the efficiency of the protocols of artificial insemination at fixed time.

Key words: Ovary, Follicular dynamics, *Bos indicus*, Ovulation, Conception.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	10
2.	REVISÃO DE LITERATURA	12
2.1	Dinâmica folicular em fêmeas bovinas.....	12
2.2	Sincronização de estro, controle da emergência folicular e da ovulação.....	14
2.3	Diâmetro do folículo ovulatório e a importância do estro em programas de IATF.....	15
2.4	Hormônio Liberador de Gonadotrofinas (GnRH).....	18
3.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	20
4.	ARTIGOS CIENTÍFICOS	31
4.1	Artigo 1: Importância do diâmetro folicular na ocorrência de estro e taxa de concepção de vacas Nelore submetidas a IATF.....	31
4.2	Artigo 2: GnRH aumenta taxa de concepção em vacas Nelore sem ocorrência de estro submetidas a IATF.....	44

1. INTRODUÇÃO

Apesar dos avanços nas biotecnologias da reprodução animal, a eficiência reprodutiva permanece caracterizada por baixa taxa de concepção. Desta forma, melhorias na genética e no desempenho reprodutivo são essenciais para garantir o retorno econômico satisfatório dos rebanhos bovinos de corte no Brasil.

Dentre as biotecnologias disponíveis está à Inseminação Artificial (IA), uma das ferramentas de maior impacto para promover a evolução genética do gado bovino (RODRIGUEZ-MARTINEZ et al, 2012). No entanto, a puberdade tardia, anestro pós-parto e a falha na detecção de estro são os principais gargalos que limitam o sucesso reprodutivo dos programas de IA em rebanhos zebuínos (BARUSELLI et al., 2004). Detecção de estro em fêmeas *Bos indicus* é particularmente difícil devido a curta duração e alta incidência de estros noturnos (PINHEIRO et al., 1998), tornando difícil a utilização dessa técnica em rebanhos bovinos de corte.

A Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF) possibilitou o uso de protocolos hormonais que promovem a sincronização de estro e ovulação, permitindo que grupos de vacas sejam inseminadas em dia e horário pré-determinado e sem a necessidade de observação de estro (BÓ et al., 2007; HILL et al., 2016). Uma variedade de protocolos foram desenvolvidos para garantir tratamentos específicos em diferentes categorias de animais e otimizar tempo e trabalho, resultando em satisfatórias taxas de concepção (BARUSELLI et al., 2012).

No Brasil, os protocolos mais empregados para IATF são os que associam estrógeno e progesterona, no início do protocolo hormonal, e prostaglandina (PGF 2α), estradiol e gonadotrofina coriônica equina (eCG), no momento da retirada da fonte de P4 (SÁ FILHO et al., 2011), permitindo a obtenção de taxas de concepção semelhantes à IA convencional (SOUZA et al., 2009; BARUSELLI et al., 2012).

Apesar disso, nas últimas 2 décadas o desempenho reprodutivo de vacas submetidas à IATF se mantém estabilizado, apresentando resultados de taxa de concepção entre 40 e 60% (MENEGUETTI et al., 2009, SOUZA et al., 2016). Vários são os fatores que podem influenciar a fertilidade de fêmeas bovinas de corte submetidas à IATF (KINDER et al., 1996; SÁ FILHO et al., 2011), entre eles, o diâmetro do folículo ovulatório no momento da inseminação artificial (BÓ et al., 1994). A presença de um folículo ovulatório de maior diâmetro ao final do protocolo de IATF, é responsável por maior concentração de estradiol e conseqüentemente, maior a possibilidade de ocorrência de estro entre a retirada do dispositivo intravaginal e à IATF,

resultando em maior taxa de concepção (KINDER et al., 1996; MENEGUETTI et al., 2009; SOUZA et al., 2016).

A manifestação de estro é um importante sinalizador para a melhor resposta ovariana (MARTINEZ et al., 2005) e está associado com o pico das concentrações circulantes de E2, e o pico pré-ovulatório de LH (ALLRICH, 1994). Vacas que apresentam estro, apresentam maior taxa de ovulação e maior função luteínica, produzindo altas concentrações de P4, no ciclo subsequente a IATF (SÁ FILHO et al., 2011).

Dada a escassez de informações correlacionando taxa de concepção, diâmetro folicular, ocorrência de estro e administração de GnRH no momento da IATF, o objetivo do presente estudo, foi avaliar o desempenho reprodutivo de vacas Nelore lactantes submetidas a IATF a partir do diâmetro folicular e manifestação de estro.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Dinâmica folicular em fêmeas bovinas

Estudos endocrinológicos e ultrassonográficos, possibilitaram estabelecer que o crescimento folicular ocorre na forma de ondas e que essa dinâmica é verificada em diversas fases da vida de uma fêmea desde duas semanas de vida até a pré-puberdade (BOLAMBA et al., 1994), puberdade, gestação (GINTHER et al., 1996) e no pós-parto (MURPHY et al., 1990, SAVIO et al., 1990). Dessa forma, o conhecimento da dinâmica folicular, através do comportamento das ondas de crescimento folicular, favorece a execução de programas de superovulação, sincronizações do ciclo estral e da ovulação (SILVA et al., 2001).

A dinâmica folicular é conhecida como o processo contínuo de crescimento e regressão folicular (BORGES et al., 2004), o qual envolve a sincronia de desenvolvimento de um grupo de folículos, denominado onda folicular (GINTHER et al., 1989). O ciclo estral dos bovinos tanto das raças zebuínas (*bos indicus*) como taurinas (*bos taurus*) dura 21 dias, em média, variando de 17 a 24 e apresenta, geralmente duas ou três ondas foliculares (GINTHER, et al. 1996, SARTORELLI et al., 2005; CASTILHO et al., 2007; GIMENES et al., 2008), e em menor frequência uma ou quatro ondas (VIANA, et al., 2000).

Em uma onda folicular, três fenômenos são morfológica e fisiologicamente caracterizados: emergência ou recrutamento, seleção ou desvio e dominância folicular.

A emergência da onda folicular, consiste na emergência simultânea no ovário de um grupo de folículos com diâmetro de aproximadamente 4 a 5 mm por cerca de 3 dias (GINTHER et al., 1996), estimulados por um aumento transitório do FSH (ADAMS et al., 1992; FORTUNE, 2001). Aproximadamente três dias após a emergência folicular, quando o maior folículo atinge o diâmetro médio de 8,5 mm para *Bos taurus* (GINTHER, et al., 1996; SARTORI, et al., 2001) e cerca de 6,0 mm para *Bos indicus* (SARTORELLI et al., 2005; GIMENES et al., 2008; ERENO, 2008) ocorre o evento denominado desvio ou seleção folicular, momento em que ocorre a maior diferença na taxa de crescimento entre os dois maiores folículos da onda (GINTHER et al., 1996).

Destes, apenas um continua seu desenvolvimento (folículo dominante), enquanto os outros entram em processo de atresia, folículos subordinados (LUCY et al. 1992), estabelecendo-se então, o fenômeno da dominância folicular. Após este período, e na presença de um corpo lúteo funcional e altas concentrações plasmática de progesterona, que promove redução da frequência na pulsatilidade do Hormônio Luteinizante (LH), o folículo dominante torna-se anovulatório.

Logo após, começa o processo de atresia e perda da dominância, iniciando uma nova onda de crescimento folicular (GINTHER et al, 1989). No entanto, quando o folículo dominante está presente no momento da regressão luteínica (17 a 20 dias após a ovulação), este resulta na ovulação (FORTUNE et al., 2004).

É sabido que para a manifestação, manutenção e suspensão destes eventos, as gonadotrofinas hipofisárias (FSH e LH) são necessárias (GINTHER et al., 1996)

O FSH permite que os folículos mantenham seu crescimento e proliferação celular, aumentando gradualmente sua capacidade esteroideogênica (ADAMS, et al. 1992), após atingir níveis máximos de concentração plasmáticas, o FSH diminui até níveis basais. Essa diminuição nos níveis de FSH, desde o início do declínio até o início da divergência, é influenciada pela presença dos folículos (GINTHER, et al., 2001). Estradiol e inibina são os principais produtos foliculares responsáveis pela supressão do FSH. A inibina produzida pelos folículos em crescimento da onda parece ser o supressor mais importante do FSH durante os dois primeiros dias da onda emergente, daí em diante o estradiol secretado pelo folículo dominante assume a função de supressor do FSH (ADAMS & JAISWAL, 2008).

Assim, a partir do momento da divergência, apenas o maior folículo (dominante) contribui para o decréscimo do FSH, mesmo sendo dependente deste hormônio para continuar o seu crescimento. No início da divergência ocorrem modificações no desenvolvimento do maior folículo que o torna responsivo a baixas concentrações de FSH, porém para os outros, essa quantidade é inadequada para o desenvolvimento (GINTHER, et al., 2001). De acordo com Mihm, et al. (1994) a diminuição transitória das concentrações do FSH, próximo a divergência, é considerada ponto chave do mecanismo de divergência folicular.

Segundo Bao & Garverick (1998), a expressão de receptores de LH em células da granulosa está relacionada à dominância folicular. Beg et al. (2001) e Simões et al. (2012), revelaram a expressão de RNAm do receptor de LH em maior concentração em futuros folículos dominantes em relação aos folículos subordinados antes do desvio folicular, onde sugeriu que a expressão precoce do receptor de LH em células da granulosa seria um evento importante para a seleção folicular, embora ainda não esteja esclarecido se o aumento na expressão do receptor de LH é a causa ou a consequência do processo de dominância (ADAMS & JAISWAL, 2008).

O mecanismo exato que diferencia e capacita um folículo a ultrapassar o processo de divergência, tornando-o dominante, é complexo e não está completamente compreendido (SIQUEIRA, 2007; SIMÕES et al., 2012). Porém, acredita-se que o sistema fator de crescimento semelhante a insulina (IGF) exerça um importante papel no processo,

“hipersensibilizando” o futuro folículo dominante às ações das gonadotrofinas e impossibilitando o mesmo com os subordinados.

Vários fatores afetam o desenvolvimento folicular entre eles: o nível nutricional, o estresse calórico e o anestro lactacional, além do estímulo da mamada (MENEGETTI et al, 2001) que podem alterar o padrão de desenvolvimento folicular.

A função ovariana é influenciada pela nutrição devido ao fato que a alta ingestão de matéria seca promove maior metabolismo dos hormônios esteróides (VASCONCELOS et al., 2003) e resultando em menores concentrações sanguíneas circulantes dos hormônios. Além disso, as concentrações sanguíneas de IGF-1 em bovinos são diretamente influenciadas pelo nível nutricional dos animais (HOUSEKNECHT et al., 1988). Segundo GONG et al. (1997) o IGF-1 e a insulina estimulam a proliferação e a esteroidogênese das células da granulosa dos folículos pequenos (2 a 5 mm) em sinergismo com as gonadotrofinas.

2.2 Sincronização de estro, controle da emergência folicular e da ovulação

Na sincronização do estro e ovulação, os fármacos mais usados são os agentes luteolíticos, tais como prostaglandina ($PGF_{2\alpha}$) e análogos sintéticos que podem ser associados a substâncias que prolongam artificialmente o estado funcional do corpo lúteo (CL), progesterona e/ou progestágenos, ou que induzam a ovulação, como o hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), gonadotrofina coriônica humana (hCG) e estrógenos (BARUSELLI, 2004; SÁ FILHO et al., 2011; BINELLI et al., 2014; WILTBANK & PURSLEY, 2014). Sabe-se, ainda que, a utilização de progesterona ou progestágenos em dispositivos intravaginais ou auriculares é a forma mais eficiente de sincronização do estro em bovinos.

A utilização da progesterona com o objetivo de sincronização do estros em bovinos provém dos anos 50, sendo, de início, administrados por períodos de 11-14 dias. Com o passar do tempo, este intervalo diminuiu para 7-9 dias, obtiveram melhores índices de gestação (COSTA 2006).

Fortune & Rivera (1999) esclarecem que períodos prolongados de utilização de P_4 levam à formação de folículos persistentes. Além disso, os oócitos oriundos destas ovulações não se desenvolviam plenamente em razão da ativação precoce da meiose, a qual em condições normais ocorre pela liberação pré-ovulatória de LH.

Dentre as diversas alternativas, os protocolos mais empregados para IATF na América do Sul são os que associam estrógeno e progesterona, no início do protocolo hormonal, e prostaglandina ($PGF_{2\alpha}$), estrógeno e gonadotrofina coriônica equina (eCG), no momento da retirada da fonte de P_4 (BÓ et al., 1995; MACMILLAN & BURKE, 1996; SÁ FILHO et al.,

2011, VERAS et al., 2017), permitindo a obtenção de taxas de concepção semelhantes à IA convencional (BÓ et al., 2002; BARUSELLI et al., 2004; BARUSELLI et al., 2012).

Nesses protocolos hormonais de sincronização, a associação entre estrógenos e P4 (liberado pelos dispositivos de P4), promovem a diminuição dos níveis circulantes de FSH e LH, promovendo regressão dos folículos dependentes de gonadotrofinas (BÓ et al., 2002), após a metabolização e diminuição dos níveis plasmáticos do E2, ocorre aumento subsequente das concentrações de FSH endógeno e conseqüente emergência de uma onda de crescimento folicular (MARTÍNEZ et al., 2005).

O mecanismo de ação é por meio da retroalimentação negativa que promove sobre a secreção de LH, modulando a frequência pulsátil (STOCK & FORTUNE, 1993; KINDER et al., 1996), mas não interfere na secreção de FSH, evitando a maturação folicular final, estro e a ovulação do folículo dominante (SÁ FILHO et al., 2011). Ao retirar a fonte de P4, e na ausência de um CL funcional pela aplicação de uma prostaglandina, o animal apresentará um folículo ovulatório capaz de responder à indução da ovulação. Portanto, associando-se ao final do tratamento com o P4 um GnRH ou estrógeno que irá promover a indução da ovulação em um tempo pré-determinado, independentemente, do momento em que se iniciou o protocolo (BÓ et al., 1994).

Esses protocolos permitem sincronizar a emergência da onda folicular, terminar a fase luteínica de forma uniforme e induzir a ovulação sincronizada do folículo dominante ao final do tratamento hormonal (MENEGUETTI et al., 2009), proporcionando adequadas taxas de sincronização de cio, entre 80 a 90% dos estros ocorrendo entre 24 e 28 horas após a remoção do dispositivo de P4 (SÁ FILHO et al., 2011; PEREIRA et al., 2015).

Nesse sentido, as pesquisas atuais, têm sido conduzidas sobre os fatores associados à resposta ovariana e a fertilidade de vacas de corte submetidas a esses protocolos (MENEGHETTI et al., 2009; PERES et al., 2009).

2.3 Diâmetro do folículo ovulatório e importância do estro em programas de IATF

Um fator importante que pode influenciar nas taxas de concepção e na eficiência reprodutiva dos programas de sincronização para IATF é o diâmetro do folículo ovulatório no final do programa (VERAS et al., 2017), sendo um importante indicador de fertilidade em fêmeas zebuínas submetidas ao protocolo de sincronização de estro e ovulação (SIMÕES et al., 2012; RIBEIRO FILHO et al., 2013). O diâmetro do folículo ovulatório está relacionado com maiores

concentrações de estradiol, maior probabilidade de ovulação e concepção (SÁ FILHO et al., 2011).

Os requisitos maternos para o estabelecimento de uma gestação normal incluem, a ovulação de um ócito competente, uma produção adequada de P4 e a promoção de um ambiente tubo-uterino apropriado (PERES et al., 2009). Só dessa forma, e através de uma sincronia perfeita entre o embrião e o útero, é que o mesmo pode encontrar as condições ideais para poder se desenvolver (PERRY et al., 2014).

Durante a fase final do crescimento folicular e durante o estro, fecundação e fase inicial do desenvolvimento embrionário, o oviduto, sob controle hormonal específico, contribui para a secreção de determinadas macromoléculas (oestrogen dependent glycoproteins – OGP) que otimizam o microambiente uterino para a maturação e transporte de gâmetas, para a fertilização e para o desenvolvimento embrionário. Estas funções complexas são dependentes da atividade do epitélio secretor, que reveste as pregas mucosas longitudinais do oviduto, e que é controlada por esteróides ovários: E2 e P4 (BUHI, 2002).

Sob ação do E2, o epitélio tubárico sintetiza e secreta OGPs. Estas macromoléculas, ao interagirem com os espermatozóides, aumentam a viabilidade espermática, participando também na capacitação e na reação acrossômica. Quanto aos ócitos, os seus efeitos incluem a otimização da capacidade de penetração do espermatozóide, a melhoria da taxa de fertilização e a diminuição da polispermia (BUHI, 2002).

Observa-se também, uma diminuição do pH uterino. Esta alteração no pH se assemelha à do plasma seminal (EROLD & BUTLER, 1993). Assim, a redução do pH uterino conduz a uma diminuição da motilidade espermática e do metabolismo, o que aumenta sua viabilidade e permanência no trato reprodutivo da fêmea até a ovulação, favorecendo a fertilização (JONES & BOVISTER, 2000; RICHARDSON et al., 2016).

Dados atuais indicam que um maior diâmetro do folículo ovulatório e uma maior duração do pró-estro, bem como concentrações mais elevadas de E2 antes da ovulação e, de P4 após a ovulação, têm efeitos benéficos sobre a fertilidade de bovinos de corte (PERRY et al., 2005, 2007; RAMOS et al., 2015). Concentrações adequadas de P4 após a ovulação são necessárias para estimular a secreção endometrial, o desenvolvimento embrionário, o reconhecimento materno e a manutenção da gestação (PERES et al., 2009; LONERGAN et al., 2013).

O E2 desempenha um papel importante no estabelecimento da receptividade uterina (PERRY et al., 2014). O controle do ambiente uterino, por parte dos esteróides sexuais, parece estar envolvido no processo de receptividade uterina (RAMOS et al., 2015). No seu estudo, estes autores concluíram que o ambiente intra-uterino de vacas pertencentes ao grupo LF-LCL

(grande folículo – grande CL) exibiu maior atividade antioxidante do que o de vacas pertencentes ao grupo SF-SCL (pequeno folículo – pequeno CL). Sugerindo que a receptividade uterina e a fertilidade estavam associadas a um ambiente ótimo, tal como o evidenciado nos animais do grupo LF-LCL.

Ainda segundo esses autores, a regulação da capacidade de redução, fornecida principalmente por enzimas antioxidantes, como a superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT), e a glutathione peroxidase (GPx), desempenha um papel importante, pois os metabólitos do processo oxidativo participam em diversos processos celulares, tais como a fosforilação proteica, a hidrólise de fosfolípidos, a ativação de fatores de transcrição e a inibição das fosfatases. Estudos com E2 e P4 têm demonstrado que estes dois esteróides ovários regulam a atividade e os níveis da GPx em ratos, bem como a actividade da SOD, CAT e GPx em ovinos (RAMOS et al., 2015).

Elevadas concentrações de E2 na fase pré-ovulatória, promovem aumento no peso uterino e na síntese protéica no útero de ovelhas. Ocorre inicialmente uma hipoplasia seguido por hiperplasia do epitélio glandular, assim como aumento das organelas citoplasmáticas produtoras de proteínas, aumento do complexo de Golgi, além do aumento do retículo endoplasmático rugoso e dispersão da cromatina no núcleo das células, indicativos de elevação da síntese protéica (JOHNSON et al., 1997a, b).

Além do efeito sobre o desenvolvimento folicular e uterino, o E2 tem papel sistêmico, estimulando positivamente o hipotálamo e hipófise (FORDE et al., 2011). Com a redução da P4 a níveis basais, após a luteólise, possibilita aumento da pulsatilidade de LH, seguido do crescimento folicular e a produção de E2, que ao atingir determinada concentração são desencadeadas duas principais vias de sinalização em áreas específicas no cérebro. Na primeira, o E2 estimula centros comportamentais provocando o estro (MOENTER et al., 1990), enquanto na segunda, o E2 estimula o pico pré-ovulatório de GnRH/LH. A onda pré-ovulatória é resultado do aumento da amplitude e da frequência da liberação dessa gonadotrofina, suficiente para estimular a maturação final do folículo dominante e ovulação (FORDE et al., 2011). Aproximadamente 28 horas é o intervalo entre o início do estro e ovulação (WALKER et al., 1996).

Ferraz et al. (2017), em estudo recente, mostrou que a intensidade da expressão do estro entre a remoção do dispositivo de progesterona e o momento da IATF foi um indicador importante do aumento do diâmetro folicular em fêmeas Nelore, associados a concentrações elevadas de estradiol e conseqüentemente uma alta incidência de expressão de estro. Com base em seus resultados, houve diferenças significativas na taxa de concepção entre os diferentes

grupos experimentais: não expressão de estro (32,1 %), baixa intensidade de expressão de estro (37,9 %) e alta intensidade de expressão do estro (62,2 %).

Sá Filho et al. (2011), relataram que vacas submetidas a IATF e que apresentaram estro entre a retirada do dispositivo de P4 e o momento da inseminação, resulta em maior taxa de concepção, 3,3 vezes mais chance de se tornar gestante, em comparação com as que não expressaram estro. Além disso, vacas que demonstraram estro apresentaram maior taxa de ovulação e maior funcionalidade do corpo lúteo (mensurada pela concentração plasmática de progesterona).

2.4 Hormônio Liberador de Gonadotrofinas (GnRH)

O Hormônio Liberador de Gonadotrofinas (GnRH) é produzido no hipotálamo e atua na hipófise sobre a síntese e secreção dos principais hormônios gonadotróficos, o LH (Hormônio Luteinizante) e FSH (Hormônio Folículo Estimulante), que nas fêmeas, agem no controle da fisiologia ovariana.

O GnRH é um hormônio protéico decapeptídeo (JEONG & KAISER, 2006), e atualmente os principais agonistas sintéticos são a Buserelina e Deslorelina, sendo um hormônio muito utilizado em protocolos de sincronização de estro e ovulação. Inicialmente, era indicado apenas para bovinos com cistos ovarianos (SEGUIN et al., 1978). Posteriormente, foi descoberta a valiosa utilidade deste hormônio para o controle da dinâmica folicular e luteal.

Twagiramungu et al. (1992) relataram que uma injeção de buserelina (agonista do GnRH), 6 dias antes da PGF2 α aumentou a taxa de sincronização em bovinos de corte. Além disso, o uso de GnRH 7 dias antes da PGF2 α também melhorou a taxa de sincronização em vacas leiteiras em lactação (THATCHER et al., 1993).

As consequências do uso do GnRH em programas de reprodução foram melhor esclarecidas após o desenvolvimento do protocolo de inseminação programada “OVSYNCH”, onde se combinam tratamentos que visam o controle tanto da dinâmica folicular como luteal, fazendo com que o tempo de ovulação possa ser sincronizado com exatidão (PURSLEY et al., 1995). Após a sua criação, este protocolo vem sendo utilizado largamente (WILTBANK & HAUGHIAN, 2003).

Os análogos sintéticos ao GnRH quando administrados nas fêmeas, exerce uma função fisiológica, induzindo o pico pré-ovulatório de LH e conseqüentemente a ovulação e/ou a luteinização do folículo, induzindo uma nova onda de crescimento folicular (GOTTSCHELL et al., 2008). Segundo Lucy e Stevenson (1986), o GnRH aplicado antes da inseminação pode

aumentar fertilidade por sua ação direta ou indireta (por secreção de LH) agindo sobre o folículo ovulatório, resultando em uma ação semelhante a que ocorre depois do estro espontâneo.

Estudos prévios têm demonstrado que a administração do GnRH por ocasião da IATF pode melhorar a taxa de concepção em vacas de corte e leite (KAIM et al., 2003; SÁ FILHO et al., 2011; GOTTSCHALL et al., 2012; HILL et al., 2016; NOGUEIRA et al., 2016; OLIVEIRA et al., 2017) enquanto outros não encontraram efeitos favoráveis (PERRY & PERRY, 2009; CAMPOS et al., 2016).

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, G.P.; JAISWAL, R. Dinamica follicular em bovinos: Visão geral da história e atualização. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 36 (supl. 2). P. 377-396, 2008.

ADAMS, G.P.; METTERI, R.L; KASTELIC, J.P.; KO, J.C., GINTHER, O.J. Association between surges of follicle-stimulating hormone and the emergence of follicular waves in heifers. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 94, p.177-188, 1992.

ALLRICH, R.D. Endocrine and neural control of estrus in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 77, p. 2738–44, 1994.

BAO, B; GARVERICK, H.A. Expression of steroidogenic enzyme and gonadotropin receptor genes in bovine follicles during ovarian follicular waves: a review. **Journal of Animal Science**. v. 76. P. 1903-1921, 1998.

BARUSELLI, P. S.; SÁ FILHO, M. F.; FERREIRA, R. M.; SALES, J. N.; GIMENES, L. U.; VIEIRA, L. M. et al. Manipulation of follicle development to ensure optimal oocyte quality and conception rates in cattle. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 47, p. 134–141, 2012.

BARUSELLI, P. S.; REIS, E. L.; MARQUES, M. O.; NASSER, L. F.; BO, G. A. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrus beef cattle in tropical climates. **Animal Reproduction Science**, v.82-83, p.479-486, 2004.

BEG, M.A.; BERGFELD, D.R.; KOT, K., WILTBANK, M.C; GINTHER, O.J. Follicular-fluid factors and granulosa-cell gene expression associated with follicle deviation in cattle. **Biology of Reproduction**, v. 64, p.432-441, 2001.

BINELLI, M., R.; SARTORI, J. L. M.; VASCONCELOS, M. H. C.; PEREIRA, P. L. J.; MONTEIRO J. R.; RAMOS, R. S. 2014. Evolution in fixed-time: From synchronization of ovulation to improved fertility. **Reproduction in Domestic Ruminants VIII**. Vol. 1. 1st ed. J. L. Juengel, A. Miyamoto, C. Price, L. P. Reynolds, M. F. Smith, and R. Webb, ed. Context, Ashby de la Zouch, UK, p. 493–506, 2014.

BUHI, W. C. Characterization and biological roles of oviduct-specific, oestrogen-dependent glycoprotein. **Reproduction**, v. 123(3), p. 355–362, 2002.

BÓ, G. A.; ADAMS, G. P.; PIERSON, R. A.; MAPLETOFT, R. J. Exogenous control of follicular wave emergence in cattle. **Theriogenology**, v.43, p.31-40, 1995.

BÓ, G. A.; BARUSELLI, P. S.; MORENO, D.; CUTAIA, L.; CACCIA, M.; TRÍBULO, R.; TRÍBULO, H.; MAPLETOFT, R. J. The control of follicular wave development for self-appointed embryo transfer program in cattle. **Theriogenology**, v. 57, n. 1, 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 of Reproduction and Fertility Supplement**, v. 64 p. 223–36, 2007.

BOLAMBA, D.; MATTON, P.; ESTRADA, R. et al. Ovarian follicular dynamics and relationship between ovarian types and serum concentrations of sex steroids and gonadotrophin in prepubertal gilts. **Animal of Reproduction Science**, v.36, p.291-304, 1994.

BORGES, A.M., TORRES, C.A.A., ROCHA JÚNIOR, V.R., RUAS, J.R.M., GIOSSO, M.M. FONSECA J.F., CARVALHO G.R., MAFFILI V.V. Dinâmica folicular e momento da ovulação em vacas não lactantes das raças Gir e Nelore durante duas estações do ano **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.56, n.3, p.346-354, 2004.

CAMPOS, C. C.; OLIVEIRA, M.; MOHALLEM, R. F. F.; SANTOS, R. M. Gonadorelin at the outset and/or end of an ovulation synchronization progesterone estradiol benzoate-based protocol in Nelore females. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 37, n. 1, p. 173-182, 2016.

COSTA, A. N. L. **Sincronização do estro e da ovulação em novilhas girolandas: comparação entre dois protocolos hormonais “CIDR-B” e “Ovsynch”**. Universidade Federal do Ceará, 2006. 92p. Dissertação (Mestrado em Reprodução Animal). 2006.

CASTILHO, C.; GARCIA, J.M.; RENESTO, A.; NOGUEIRA, G.P.; BRITO, L.F.C. Follicular dynamics and plasma FSH and progesterone concentrations during follicular deviation in the

first post-ovulatory wave in Nelore (*Bos indicus*) heifers. **Animal of Reproduction Science**, v.98, n.3, p.189-193, 2007.

ERENO R.L. Gene expression of luteinizing hormone receptor (LHR) isoforms in granulosa cells of follicles from Nelore heifers before, during and after follicular deviation. Botucatu: **University of Sao Paulo State**, 2008.

EROLD, C.C.; BUTHER W. R. Reduction of fertility and alteration of uterine pH in heifers fed excess ruminally degradable protein. **Journal of Animal Science**. v. 71, p. 694–701, 1993.

FERRAZ, P. A; LOIOLA, M. V. G.; RODRIGUES, A. S.; LIMA, M. C. C.; BITTENCOURT, T. C. B. S. C.; RIBEIRO FILHO, A. L. The effect of the intensity of estrus expression on the follicular diameter and fertility of Nelore cows managed under a FTAI program. **Ciência Animal Brasileira**, v. 18, p. 1-9, e-37643, 2017.

FORDE, N.; BELTMAN, M. E.; LONERGAN, P.; DISKIN, M.; ROCHE, J. F.; CROWE, M. A. Oestrus cycles in Bos Taurus cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 124, n. 3-4, p. 163-169, 2011.

FORTUNE J.E., RIVERA G.M., EVANS A.C., TURZILLO A.M. Differentiation of dominant versus subordinate follicles in cattle. **Biology of Reproduction**, 2001.

FORTUNE, J.E.; RIVERA, G.M. Folículo dominante persistente em bovinos: aspectos básicos e aplicados. **Arquivo da Faculdade de Veterinária UFRGS**, v.27, p.22-34, 1999.

FORTUNE J.E., RIVERA G.M.; YANG, M. Y. Follicular development: the role of the follicular microenvironment in selection of the dominant follicle. **Animal of Reproduction Science**, v. 82-83, p.109-126, 2004.

GALINA, C. S.; ORIHUELA, A; RUBIO I. Behavioural trends affecting oestrus detection in Zebu cattle. **Animal Reproduction Science**. v. 42, p. 465–470, 1996.

GIMENES, L.U.; SÁ FILHO, M.F.; CARVALHO, N.A.T.; TORRES-JUNIOR, J.R.S.; SOUZA, A.H.; MADUREIRA, E.H.; TRINCA, L.A.; SARTORELLI, E.S.; BARROS, C.M.;

CARVALHO, J.B.P.; MAPLETOFT, R.J.; BARUSELLI, P.S. Follicle deviation and ovulatory capacity in *Bos indicus* heifers. **Theriogenology**, v.69, p.852-858, 2008.

GINTHER, O.J.; KASTELIC, J.P.; KNOFF, L. Composition and characteristics of follicular waves during the bovine estrous cycle. **Animal Reproduction Science**, v. 20. P. 187-200, 1989.

GINTHER, O.J.; WILTBANK, M.C.; FRICKE, P.M. *et al.* Selection of the dominant follicle in cattle. **Biology of Reproduction** v.55, p.1187-1194, 1996.

GINTHER, O.J., BERG, M.A.; BERGFELT, D.R, DONADEU, F.X.; KOT, K. Follicle selection in monovular species. **Biology of Reproduction**, v.65, p.638-647, 2001.

GONG, J. G.; BAXTER, G.; BRAMLEY, T. A.; WEBB, R. Enhancement of ovarian follicle development in heifers by treatment with recombinant bovine somatotrophin: a dose-response study. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 110, p. 91-97, 1997.

GOTTSCHALL, C. S. et al. Aspectos relacionados à sincronização do estro e ovulação em bovinos de corte. **A Hora Veterinária**, v.164, p.43-48, 2008.

GOTTSCHALL, C. S.; ALMEIDA, M. R.; TOLOTTI, F.; MEGERO, J.; BITTENCOURT, H. R. MATTOS, R. C.; GREGORY, R. M. Avaliação do desempenho reprodutivo de vacas de corte lactantes submetidas à IATF a partir da aplicação de GnRH, da manifestação estral, da reutilização de dispositivos intravaginal e da condição corporal. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 40, 1012, 2012.

HILL, S. L., D. M. GRIEGER, K. C. OLSON, J. R. JAEGER, C. R. DAHLEN, G. A. BRIDGES, F. DANTAS, J. E. LARSON, A. M. MUTH-SPURLOCK, J. K. AHOLA, M. C. FISCHER, G. A. PERRY, E. L. LARIMORE, T. L. STECKLER, W. D. WHITTIER, J. F. CURRIN, AND J. S. STEVENSON. Using estrus- detection patches to optimally time insemination improved pregnancy risk in suckled beef cows in a fixed-time artificial insemination program. **Journal of Animal Science**, v. 94, p. 3703-3710, 2016.

HOUSEKNECHT, K., L.; BOGGS, D. L.; CAMIOM, D. R.; SARTIN, J. L.; KISER, T. E.; RAMPACEK, G. B.; AMOS, H. E. Effect of dietary energy-source and level on serum growth-

hormone, insulin-like growth factor-i, growth and body-composition in beef heifers. **Journal of Animal Science**, v. 66, p. 2913-2923, 1988.

JEONG, K. H.; KAISER, U. B. Gonadotropin-releasing hormone regulation of gonadotropin biosynthesis and secretion. In: JIMMY, D. N. et al. (Ed.). **Knobil and Neill's physiology of reproduction**. 3^o ed. Saint Louis: Academic, p. 1335-1701, 2006.

JOHNSON, M. L.; REDMER, D. A; REYNOLDS, L. P. Uterine growth, cell proliferation and c-fos proto-oncogene expression throughout the estrous cycle in ewes. **Biology of Reproduction**, v. 56, n. 2, p. 393-401, 1997a.

JOHNSON, M. L.; REDMER, D. A; REYNOLDS, L. P. Effects of ovarian steroids on uterine growth, morphology, and cell proliferation in ovariectomized, steroid-treated ewes. **Biology of Reproduction**, v. 57, n. 3, p. 588-596, 1997b.

JONES, J. M., BAVISTER, B. D. Acidification of Intracellular pH in Bovine Spermatozoa Suppresses Motility and Extends Viable Life. **Journal of Andrology**. v. 21 (5), p. 616–624, 2000.

KINDER, J. E.; KOJIMA, F. N.; BERGFELD, E. G.; WEHRMAN, M. E.; FIKE, K. E. Progesterin and estrogen regulation of pulsatile LH release and development of persistente ovarian follicles in cattle. **Journal Animal Science**. v. 74, n. 6, p. 1424-40, 1996.

LONERGAN, P.; O'HARA, L.; FORDE, N. Papel da progesterona do diestro na função endometrial e desenvolvimento do concepto em bovinos. **Animal Reproduction**, v.10, n. 3, p. 119-123, 2013.

LUCY, M. C. SAVIO, J.D.; BADINGA, L.; DE LA SOTA, R.L.; THEACHER, W.W. Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. **Journal of Animal Science**, v. 70, p. 3615-3626, 1992.

LUCY, M. C.; STEVENSON, J. S. Gonadotropin-Releasing Hormone at Estrus: Luteinizing Hormone, Estradiol, and Progesterone during the Peri-estrus and Postinsemination Periods in Dairy Cattle. **Biology of Reproduction**, v.35, p.300-311, 1986.

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

MARTINEZ, M. F.; KASTELIC, J. P.; BÓ, G. A.; CACCIA, M.; MAPLETOFT, R. J. Effects of oestradiol and some of its esters on gonadotrophin release and ovarian follicular dynamics in CIDR-treated beef cattle. **Animal Reproduction Science**, v.86 p. 37–52, 2005.

MENEGHETTI, M.; VILELA, E. R.; VASCONCELOS, J. L. M.; CERRI, R. L. A.; FERREIRA Jr., N. Efeito da remoção dos bezerros no folículo dominante e na taxa de ovulação ao primeiro GnRH em protocolos de sincronização em vacas Nelore em anestro. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 25, n.3, p.286-288, 2001.

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.

MIHM, M.; BAGUISI, A. BOLAND, M. P.; ROCHE, J.F. Association between the duration of dominance of the ovulatory follicle and pregnancy rate in beef heifers. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 102, p. 123-130, 1994.

MOENTER, S. M.; CARATY, A.; KARSCH, F. J. The estradiol-induced surge of gonadotropin-releasing hormone in the ewe. **Endocrinology**, v. 127, n. 3, p. 1375-1384, 1990.

MURPHY M.G.; BOLAND M.P.; ROCHE J.F. Pattern of follicular growth and resumption of ovarian activity in post-partum beef suckle cows. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.90, p.523-533, 1990.

NOGUEIRA E, RODRIGUES WB, SILVA AS, BORGES JC, SILVA KC, ANACHE NA et al. GnRH application in cows with low or no estrus expression evaluated with tail-chalk increases the pregnancy rate in beef cows submitted to TAI. **Animal Reproduction**, v. 13 p. 457, 2016.

ODDE, K. G. A review of synchronization of estrus in postpartum cattle. **Journal of Animal Science**, v. 68, n. 3, p. 817-830, 1990.

OLIVEIRA, L. S. R.; SOUZA, A. L. B.; KOZICHI, L. E.; SEGUI, M.; PEDROSA, V. B.; DELL'AQUA JUNIOR, J. A.; WEISS, R. R.; ABREUS, A. C. M. R. Potencial da deslorelina como agente indutor da ovulação em vacas primíparas *bos taurus indicus* na inseminação artificial em tempo fixo. **Veterinária e Zootecnia**, v. 24, p. 363-372, 2017.

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.

PERES, R. F. G.; CLARO, 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(5), p. 681–689, 2009.

PEREIRA, M. H. C., M. C. WILTBANK, L. F. S. P. BARBOSA, W. M. COSTA JR., M. A. P. CARVALHO, AND J. L. M. VASCONCELOS. Effect of adding a gonadotropin-releasing-hormone treatment at the beginning and a second prostaglandin F-2 alpha treatment at the end of an estradiol-based protocol for timed artificial insemination in lactating dairy cows during cool or hot seasons of the year. **Journal Dairy Science**, v. 98, p. 947–959, 2015.

PERRY, G. A.; PERRY B. L. GnRH treatment at artificial insemination in beef cattle fails to increase plasma progesterone concentrations or pregnancy rates. **Theriogenology**, v. 71, p. 775-779, 2009.

PERRY, G. A.; SMITH, M. F.; LUCY, M. C.; GREEN, J. A.; PARKS, T. E.; MACNEIL, M. D.; ROBERTS, A. J.; GEARY, T. W. Relationship between follicle size at insemination and pregnancy success. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 102, n. 14, p. 5268-5273, 2005.

PERRY, G. A.; SMITH, M. F.; ROBERTS, A. J.; MACNEIL, M. D.; GEARY, T. W. Relationship between size of the ovulatory follicle and pregnancy success in beef heifers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 85, n. 3, p. 684-689, 2007.

PERRY, G. A.; SWANSON, O. L.; LARIMORE, E. L.; PERRY, B. L.; DJIRA, G. D.; CUSHMAN, R. A. Relationship of follicle size and concentrations of estradiol among cows exhibiting or not exhibiting estrus during a fixed-time AI protocol. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 48(1), p. 15–20, 2014.

PURSLEY, J.R.; MEE, M.O.; WILTBANK, M.C. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF2 and GNRH. **Theriogenology**, v. 44, p.915-923, 1995.

RAMOS, R. S.; OLIVEIRA, M. L.; IZAGUIRRY, A. P.; VARGAS, L. M.; SOARES, M. B.; MESQUITA, F. S., et al. The periovulatory endocrine milieu affects the uterine redox environment in beef cows. **Reproductive Biology and Endocrinology**, v. 13(1), p. 39, 2015.

RIBEIRO FILHO AL, FERRAZ PA, RODRIGUES AS, BITTENCOURT TCBSC, LOIOLA MVG, CHALHOUB M. Diâmetro do folículo no momento da inseminação artificial em tempo fixo e taxa de concepção em vacas Nelore. **Ciência Animal Brasileira**. v. 14, p. 501–507, 2013.

RICHARDSON, B. N., S. L. HILL, J. S. STEVENSON, G. D. GEMECHIS, AND G. A. PERRY. Expression of estrus before fixed-time AI affects conception rates and factors that impact expression of estrus and the repeatability of expression of estrus in sequential breeding seasons. **Animal Reproduction Science**. v. 166, p. 133–140, 2016.

RODRIGUEZ-MARTINEZ, H. Assisted reproductive techniques for cattle breeding in developing countries: A critical appraisal of their value and limitations. **Reproduction in domestic Animals**, v. 47, p. 21-26, 2012.

SÁ FILHO, M. F.; CRESPILO, A. M.; SANTOS, J. E. P.; PERRY, 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 progestinbased protocols in suckled *Bos indicus* cows. **Animal Reproduction Science**, v. 120, p. 23-30, 2010.

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

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.; GINTHER, O. J.; WILTBANK, M. C. Follicular deviation and acquisition of ovulatory capacity in bovine follicles. **Biology of Reproduction**, v. 65 p. 1403-1409, 2001.

SAVIO, J.D.; BOLAND M.; ROCHE J.F. Development of dominant follicles and length of ovarian cycles in post-partum dairy cows. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.88, p.581-591, 1990.

SEGUIN, B.E.; GUSTAFSON, B.K.; HURTGEN, J.P.; MATHER, E.C.; REFSAL, K.R.; WESCOTT, R.A.; WITHMORE, H.L. Use of the Use of the prostaglandin F_{2α} analog cloprostenal in dairy cattle with unobserved estrus. **Theriogenology**, v.10, p.55-64. 1978.

SIQUEIRA LC. **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. 77f. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, 2007.

SIMÕES, R. A. L.; SATRAPA, R. A.; ROSA, F. S.; PIAGENTINI, M.; CASTILHO, A. C. S.; ERENO, R. L.; TRINCA, L. A.; NOGUEIRA, M. F. G.; BURATINI JR, J.; BARROS, C. M. Ovulation rate and its relationship with follicle diameter and gene expression of the LH receptor (LHR) in Nelore cows. **Theriogenology**, v. 77, p.139-147, 2012.

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, 1989.

SOUZA, A. H.; VIECHNIESKI, S.; LIMA, F. A.; SILVA, F. F.; ARAÚJO, R.; BÓ, G. A. et al. Effects of equine chorionic gonadotropin and type of ovulatory stimulus in a timed-AI protocol on reproductive responses on dairy cows. **Theriogenology** v. 72, p. 10–21, 2009.

SOUZA, A.L.B.; SEGUI, M.S.; KOZICK, L.E. et al. Impact of Equine Chorionic Gonadotropin Associated with Temporary Weaning, Estradiol Benzoate, or Estradiol Cypionate on Timed Artificial Insemination in Primiparous Bos Indicus Cows. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.59, e16150389, 2016.

STOCK, A.E. & FORTUNE, J. E. Ovarian follicular dominance in cattle: relationship between prolonged growth of the ovulatory follicle and endocrine parameters. **Endocrinology** v. 132, p. 1108-1114, 1993.

TWAGIRAMUNGU, H.; GUILBAULT, L.A.; PROULX, J.; DUFOUR, J.J. Synchronization of estrus and fertility in beef cattle with two injections of buserelin and prostaglandin. **Theriogenology**, v.38, p.11-31. 1992.

THATCHER, W.W.; DROST, M.; SAVIO, J.D.; MACMILLAN, K.L.; ENTWISTLE, K.W.; SCHMITT, E.J.; DE LA SOTA, R.L.; MORRIS, G.R. New clinical uses of GnRH and its analogues in cattle. **Animal Reproduction Science**, v.33, p.27-49, 1993.

VASCONCELOS, J. L. M.; SANSRITAVONG, S.; TSAI, S. J.; WILTBANK, M. C. Acute reduction in serum progesterone concentrations after feed intake in dairy cows. **Theriogenology**, v. 60, p. 795-807, 2003.

VERAS, G. A.; SOUTO, P. F. M. P.; FERREIRA-SILVA, J. C.; NASCIMENTO, P. S.; GUIDO, S. I.; SANTOS FILHO, A. S.; OLIVEIRA, M. A. L.; BARTOLOMEU, C. C. Efeito de diferentes concentrações de progesterona em dispositivos vaginais sobre a dinâmica folicular de novilhas holandesas (*Bos taurus*) submetidas a IATF. **Medicina Veterinária (UFRPE)**, v.11, p. 203-209, 2017.

VIANA, J.H.M., FERREIRA, A.M., SÁ, W.F., CAMARGO, L.S.A. Follicular dynamics in zebu cattle. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.35, n.12, p.2501-2509, 2000.

WILTBANK, M. C., HAUGHIAN, J. M. GnRH: Bases fisiológicas para entender sua utilização em protocolos de sincronização. IN: Novos enfoques na produção e reprodução de bovinos 7. **Anais...** Passos, CONAPEC Jr. & CBRA, p 121-131, 2003.

WALKER, W. L.; NEBEL, R. L; MCGILLIARD, M. L. Time of ovulation relative to mounting activity in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 79, n. 9, p. 1555-1561, 1996.

WILTBANK, M. C. & PURSLEY, J. R. The cow as an induced ovulator: timed AI after synchronization of ovulation. **Theriogenology**, v. 81, n. 170-185, 2014.

4. ARTIGOS CIENTÍFICOS

4.1 Artigo 1.

Importância do diâmetro folicular na ocorrência de estro e taxa de concepção de vacas Nelore submetidas à IATF

G. A. Veras^{a*}, M. C. Farias^a, R. A. Silva Júnior^a, M. Maturana Filho^b, C. C. Bartolomeu^a, M. A. L. Oliveira^a

^aDepartamento de Reprodução Animal, UFRPE, Pernambuco, Brasil.

^bDepartamento de Reprodução Animal, FMVZ/USP, São Paulo, Brasil.

*Autor para correspondência. Tel. +55 87 981408670.

Endereço de E-mail: guilhermeveras.vet@hotmail.com (G. A. Veras).

Resumo

O objetivo foi avaliar as associações entre o diâmetro folicular, na ocorrência de estro e taxa de concepção de vacas Nelore submetidas a IATF. Foram utilizadas 203 vacas Nelore que, no dia 0, receberam um dispositivo intravaginal contendo 1,0 g de P₄, associado a 2 mg de benzoato de estradiol im. No dia 8, os dispositivos foram removidos e administrado 150 µg de D-Cloprostenol, 300 UI de eCG e 1 mg de cipionato de estradiol im., inseminadas em tempo fixo entre 48 - 52 h. As fêmeas tiveram a base da cauda pintada no momento da remoção do dispositivo intravaginal, com bastão marcador e foram consideradas em estro quando não apresentaram a base da cauda marcadas no momento da IA. A atividade ovariana foi avaliada por ultrassonografia, no momento da retirada do dispositivo intravaginal, na IATF e 30 dias após para diagnóstico de gestação. A taxa de ocorrência de estro foi de 58% e a taxa de concepção de 51%. O diâmetro médio do folículo dominante, no momento da IATF, foi maior ($P < 0,05$) nas vacas que apresentaram estro ($11,70 \pm 0,19$ mm) em comparação com as que não apresentaram estro ($10,31 \pm 0,23$ mm). O diâmetro folicular médio, das vacas gestantes foi maior ($P < 0,05$) que as vacas não gestantes, tanto no momento da remoção do dispositivo de P₄ ($9,62 \pm 0,24$ versus $8,15 \pm 0,22$ mm), quanto no momento da IATF ($12,21 \pm 0,22$ versus $10,31 \pm 0,22$ mm). Vacas categorizadas por apresentar folículo ovulatório entre 11,1 e 14 mm, apresentaram taxa de concepção similar daquelas com folículos $> 14,1$ mm, mas ambas foram melhores do que aquelas que apresentaram diâmetro folicular $< 11,1$ mm. A média do diâmetro folicular no momento da IATF foi de 11,4 mm. Vacas Nelore lactantes submetidas a IATF com folículo de maior diâmetro, no momento da IATF, foram mais propensas a manifestarem estro e de se tornarem gestantes.

Palavras chave: Estro; Ovulação; *Bos indicus*; Dinâmica folicular; Reprodução.

Artigo formatado segundo as normas da Theriogenology

1. Introdução

A inseminação artificial em tempo fixo (IATF) é uma biotecnologia difundida e bastante utilizada na bovinocultura de corte no Brasil. O surgimento da IATF possibilitou o uso de protocolos hormonais que promovem a sincronização do estro e ovulação, permitindo que grupos de vacas sejam inseminadas em dia e horário pré-determinado e sem a necessidade de observação de estro [1,2].

Esses tratamentos permitem sincronizar a emergência da nova onda folicular, terminar a fase luteínica de forma uniforme e induzir a ovulação sincronizada do folículo dominante ao final do protocolo hormonal [3]. Resultando em adequadas taxas de sincronização de estro, entre 80 a 90% destes ocorrendo entre 24 e 28 horas após a remoção do dispositivo de P4 [4] e taxas de concepção entre 40 e 60%, semelhantes à IA convencional [5,6].

Porém, nos últimos 20 anos, a taxa de concepção de vacas submetidas a IATF parece ter estabilizado [3], havendo necessidade substancial de pesquisas para melhorar a eficácia desses protocolos [7].

Um dos fatores que pode influenciar a fertilidade de fêmeas bovinas leiteiras [8,9] e de corte [10,4] submetidas à IATF, é o diâmetro do folículo ovulatório no momento da inseminação [11]. A presença de um folículo ovulatório de maior diâmetro ao final do protocolo de IATF, é responsável por maior concentração de estradiol e conseqüentemente, maior a possibilidade de ocorrência de estro entre a retirada do dispositivo intravaginal e a IATF, resultando em maior taxa de concepção [10,12,13].

A ocorrência de estro é um importante sinalizador para a melhor resposta ovariana [14] e está associado com o pico das concentrações circulantes de E2, e o pico pré-ovulatório de LH [15]. Vacas que manifestam estro, apresentam maior taxa de ovulação e maior função luteínica, produzindo altas concentrações de P4, no ciclo subsequente à IATF [4].

Nesse contexto, o objetivo foi avaliar as associações entre o diâmetro folicular ao final do protocolo de sincronização, na ocorrência de estro e taxa de concepção de vacas Nelore lactantes submetidas à IATF.

2. Material e métodos

2.1. Animais e local do experimento

Esse experimento foi realizado em uma fazenda comercial, localizada no estado de Sergipe, Brasil (09° 38' 31" S 37° 47' 16" O). Foram utilizadas 203 vacas primíparas e multíparas da

raça Nelore (*Bos indicus*) lactantes, em agosto de 2016. Foram mantidas conforme manejo da fazenda, sob pastejo em pastagem de *Brachiaria decumbens*, com livre acesso a água e suplementação mineral. Esse estudo obteve parecer favorável da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), da Universidade Federal Rural de Pernambuco com a licença nº 082/2017 CEPE/UFRPE.

O Escore de Condição Corporal (ECC) foi avaliado no primeiro dia do protocolo de sincronização da ovulação usando a escala de 1 a 5, onde 1 corresponde a um animal caquético e 5 a um animal obeso [17].

Previamente ao início do protocolo, todas as fêmeas foram submetidas ao exame clínico-ginecológico e ultrassonografia transretal, com auxílio do aparelho *DP 2200 Vet, Mindray*[®], acoplado ao transdutor linear com frequência de 6,0 MHz, sendo consideradas aptas a participar do experimento as fêmeas que não apresentaram, no momento da avaliação, anormalidades do trato reprodutivo.

2.2. Tratamento hormonal

Em um dia aleatório do ciclo estral denominado dia 0 (D0), as vacas receberam um dispositivo intravaginal contendo 1,0 g de P₄ (CRONIPRES Mono Dose M-24, Biogénesis Bagó Saúde Animal, São Paulo, Brasil), associado à 2 mg de benzoato de estradiol intramuscular (BIOESTROGEN, Biogénesis Bagó, Saúde Animal, São Paulo, Brasil). No dia 8 (D8), o dispositivo intravaginal foi removido e administrados 150 µg de D-Cloprostenol intramuscular (CRONIBEN, Biogénesis Bagó Saúde Animal, São Paulo, Brasil), aplicado 300 UI de eCG intramuscular (ECEGON, Biogénesis Bagó Saúde Animal, São Paulo, Brasil), além da aplicação de 1 mg de cipionato de estradiol intramuscular (CRONI-CIP, Biogénesis Bagó Saúde Animal, São Paulo, Brasil). As fêmeas foram inseminadas em tempo fixo entre 48 - 52 horas após a retirada do dispositivo intravaginal, utilizando sêmen criopreservado em central de inseminação artificial.

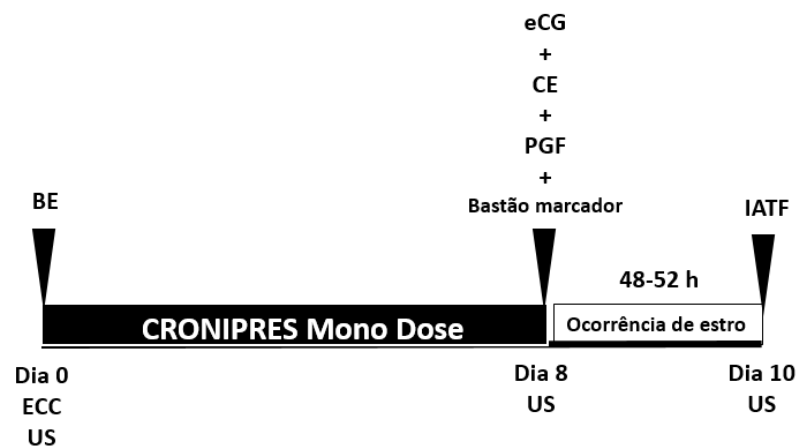


Fig. 1. Diagrama esquemático do tratamento hormonal para sincronização do estro e ovulação e avaliações ultrassonográficas em vacas Nelore lactantes. BE = 2 mg de benzoato de estradiol; PGF = 150 µg D-Cloprostenol; eCG = 300 UI de eCG; CE = 1 mg de cipionato de estradiol; Bastão marcador = base da cauda pintada (entre a tuberosidade sacral e a inserção da cauda) na remoção do dispositivo de P4; IATF = realizada entre 48-52 h após a remoção do dispositivo de P4; US = Ultrassonografia ovariana.

2.3 Expressão do estro

As fêmeas tiveram a base da cauda pintada (entre a tuberosidade sacral e a inserção da cauda) no momento da remoção do dispositivo intravaginal, com bastão marcador (Raidl-Maxi, RAIDEX GmbH, Dettingen/Erms, Alemanha). Foram consideradas em estro as fêmeas que não apresentaram a base da cauda marcadas 48 horas após a remoção do dispositivo de P4.

2.4 Ultrassonografia ovariana e diagnóstico de gestação

A atividade ovariana foi avaliada por ultrassonografia, com auxílio do aparelho *DP 2200 Vet, Mindray*[®], acoplado ao transdutor linear com frequência de 6,0 MHz. Foram realizados exames no momento da retirada do dispositivo intravaginal e no momento da IATF. O diâmetro do maior folículo presente no momento da IATF foi identificado, mensurado e categorizado entre ≤ 8 mm, $> 8,1$ a 11 mm, $> 11,1$ a 14 mm, ou $> 14,1$ mm (média \pm erro padrão da média). Durante o exame, o transdutor foi movimentado sobre a superfície dos ovários e após a localização da imagem desejada, congelava-se para mensuração (VERAS et al., 2017). O diagnóstico de gestação foi realizado 30 dias após a IA.

2.5 Análise estatística

Os dados gerados foram analisados usando os procedimentos do pacote computacional SPSS 20.0 [25], Análise de Variância (ANOVA), Teste T e F para análises das variáveis paramétrica, e qui-quadrado para variáveis não paramétricas, sendo as diferenças entre os grupos consideradas estatisticamente significativas quando o valor de P foi menor ou igual a 0,05 ($P \leq 0,05$).

3. Resultados

A taxa de ocorrência de estro geral foi de 58% (118/203) e a taxa de concepção, após a IATF, de 51% (103/203).

Nesse estudo o diâmetro folicular influenciou a ocorrência de estro. O diâmetro médio do folículo dominante, no momento da remoção do dispositivo de P4, foi de $9,23 \pm 0,29$ mm nas vacas que não apresentaram estro, e $9,24 \pm 0,20$ mm nas vacas que apresentaram estro. Já no momento da IATF, o diâmetro médio do folículo foi maior nas vacas que apresentaram estro ($11,70 \pm 0,19$ mm, $P < 0,05$) em comparação com as que não apresentaram estro ($10,31 \pm 0,23$ mm, tabela 1).

Tabela 1

Ocorrência de estro após o protocolo de sincronização baseado em estradiol/progesterona na resposta folicular ovariana em vacas Nelore lactantes.

	Ocorrência de estro		valor de <i>p</i>
	Não	Sim	
Vacas (n)	84/203	119/203	
Diâmetro médio do folículo na remoção do dispositivo intravaginal (mm)	$9,23 \pm 0,29$	$9,24 \pm 0,20$	0,993
Diâmetro médio do folículo na IATF (mm)	$10,31 \pm 0,23$	$11,70 \pm 0,19$	<0,0001

O diâmetro folicular médio, das vacas gestantes foi significativamente maior que as vacas não gestantes ($P < 0,05$), tanto no momento da remoção do dispositivo de P4 ($9,62 \pm 0,24$ versus $8,15 \pm 0,22$ mm), quanto no momento da IATF ($12,21 \pm 0,22$ versus $10,31 \pm 0,22$ mm), respectivamente.

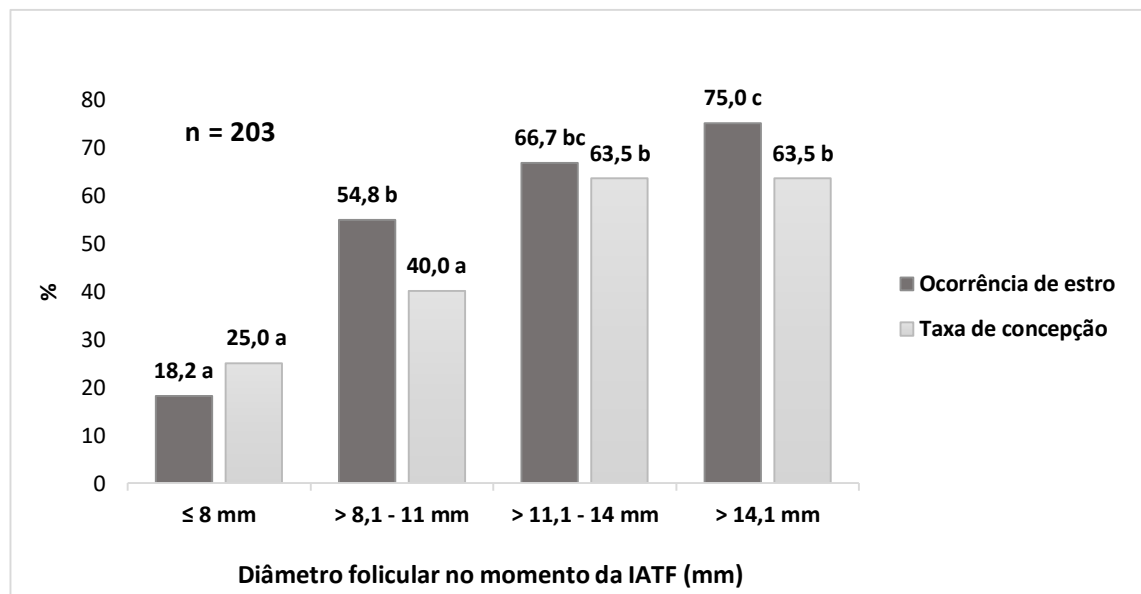
Tabela 2

Condição reprodutiva após o protocolo de sincronização baseado em estradiol/progesterona na resposta folicular ovariana em vacas Nelore lactantes.

Vacas (n)	Concepção		valor de <i>p</i>
	Não	Sim	
Diâmetro médio do folículo na remoção do dispositivo intravaginal (mm)	8,15 ± 0,22	9,62 ± 0,24	<0,0001
Diâmetro médio do folículo na IATF (mm)	10,31 ± 0,22	12,21 ± 0,22	<0,0001

As fêmeas que apresentaram folículo de maior diâmetro no momento da IATF, tiveram maior ocorrência de estro e de concepção. O folículo ovulatório deve apresentar no mínimo 11,1 mm de diâmetro para alcançar o máximo de concepção 30 dias após a IATF (Figura 2). Vacas categorizadas por apresentar folículo ovulatório entre 11,1 e 14 mm, apresentaram taxa de concepção similar daquelas vacas que apresentaram folículos > 14,1 mm, mas ambas as categorias foram melhores ($P < 0,05$) do que aquelas fêmeas que apresentaram diâmetro folicular < 11,1 mm. A média do diâmetro folicular no momento da IATF foi de 11,4 mm. A distribuição das vacas de acordo com a classe de folículo dominante no dia da IATF foi de 11,3% ≤ 8 mm, 36% entre 8,1 e 11 mm, 37% entre 11,1 e 14 mm, e 15,8% para > 14,1mm.

Fig. 2. Taxa de concepção de acordo com a ocorrência de estro após protocolo de sincronização baseado em estradiol/progesterona e o diâmetro folicular ovulatório no momento da IATF em vacas Nelore lactantes.



^{abc} Letras minúsculas iguais não diferem pelo teste de χ^2 ($P > 0,05$).

O ECC, avaliado no início do protocolo de IATF e categorizado entre ≤ 3 e >3 , não influenciou o diâmetro médio do folículo dominante ($P > 0,05$), mensurado no dia da IATF. O diâmetro folicular médio nas vacas não gestantes foi de $10,03 \pm 0,41$, ECC $\leq 3,0$ versus $10,07 \pm 0,26$, ECC $> 3,0$, e gestantes de $12,65 \pm 0,35$, ECC $\leq 3,0$ versus $11,79 \pm 0,26$, ECC $> 3,0$ (Tabela 3).

Tabela 3

Condição reprodutiva após o protocolo de sincronização baseado em estradiol/progesterona em relação ao escore de condição corporal e diâmetro do folículo ovulatório em vacas Nelore lactantes.

Diâmetro folicular ovulatório (mm)		
ECC	Não gestantes	Gestantes
$\leq 3,0$	$10,03 \pm 0,41$ (38/80) _{aA}	$12,65 \pm 0,35$ (42/80) _{bA}
$> 3,0$	$10,07 \pm 0,26$ (62/123) _{aA}	$11,79 \pm 0,26$ (61/123) _{bA}

Letras diferentes, minúsculas na mesma linha e maiúscula na mesma coluna diferem pelo teste de ANOVA ($P < 0,05$)

4. Discussão

O estudo demonstrou que o diâmetro folicular influenciou a ocorrência de estro e a concepção, confirmando a hipótese de que a presença de folículo com maior diâmetro ao final do protocolo de IATF, apresenta alta ocorrência de estro e maior taxa de concepção.

Esses resultados concordam com outros experimentos realizados em fêmeas *Bos indicus*, onde folículos ovulatórios maiores no momento da AI foram associados a concentrações elevadas de estradiol e conseqüentemente uma alta incidência de expressão do estro [18,4,10]. Da mesma forma, Atkins et al. [19] relataram uma correlação positiva entre a concentração de estradiol e o diâmetro folicular.

Forde et al. [20] relataram que, além do efeito local sobre o desenvolvimento folicular, o E2 possui um papel sistêmico por estímulos positivos no hipotálamo e hipófise. Em altas concentrações circulantes, estimula os centros comportamentais específicos no cérebro bovino, provocando o estro [21], e o desencadeamento do pico pré-ovulatório de GnRH/LH [20].

Com base nos resultados, houve associação positiva entre o diâmetro folicular ovulatório e taxa de concepção, corroborando relatos de outros estudos em *Bos indicus* [3,4,22].

Perry et al. [23] observaram que novilhas de corte (*Bos taurus*) que ovularam folículos $< 10,7$ mm de diâmetro, tiveram uma menor taxa de concepção comparada com novilhas que ovularam folículos $\geq 12,8$ mm. Assim como Sá Filho et al. [18], em vacas *Bos indicus*, verificaram que o diâmetro do folículo afetou positivamente a taxa de concepção, mostrando

que as vacas que apresentaram um maior folículo dominante no momento da inseminação artificial eram mais propensas a se tornarem gestantes.

O maior diâmetro do folículo ovulatório promove a formação de um corpo lúteo de maior diâmetro com elevada habilidade em manter a gestação por produzir elevados níveis de progesterona [24]. Por outro lado, Mussard et al. [25] demonstraram que a ovulação prematura de um folículo dominante reduz o diâmetro do folículo ovulatório, diminui a função luteínica no ciclo subsequente. Além disso, promove redução na taxa de concepção e aumento das perdas gestacionais [26,23].

Ribeiro Filho et al. [22], também observaram que, do total de 348 fêmeas, 200 ficaram gestantes, perfazendo uma taxa de concepção de 57,5 %. Os autores relataram que a média geral do diâmetro folicular foi de $12,43 \pm 2,84$ mm e que as vacas que ficaram gestantes apresentaram folículos com diâmetro de $13,33 \pm 2,40$ mm, valores significativamente superiores aos encontrados nas fêmeas não gestantes ($11,27 \pm 2,75$ mm).

Em nosso estudo, observamos que o folículo ovulatório deve apresentar no mínimo 11,1 mm de diâmetro para alcançar o máximo de concepção 30 dias após à IATF. Vacas categorizadas por apresentar folículo ovulatório entre 11,1 e 14 mm, apresentaram taxa de concepção similar daquelas vacas que apresentaram folículos $> 14,1$ mm, mas ambas as categorias foram melhores do que aquelas fêmeas que apresentaram diâmetro folicular $< 11,1$ mm.

Resultados similares [27], verificaram que a capacidade ovulatória é adquirida quando o folículo dominante atinge entre 7,0 a 8,4 mm de diâmetro em novilhas *Bos indicus* e aumenta significativamente quando o folículo alcança 8,5 mm de diâmetro. Confirmando que a capacidade ovulatória do folículo em um protocolo hormonal de IATF, depende do tamanho folicular quando o indutor da ovulação é aplicado, sendo essa uma das causas da grande variação de resposta aos protocolos hormonais.

Em complemento, Dias et al. [28] confirmaram o efeito positivo do diâmetro do maior folículo na probabilidade de concepção em novilhas Nelore sincronizadas para IATF, e justificaram tal achado ao aumento dos receptores de LH, melhor resposta à gonadotrofina e maturidade folicular, podendo elevar os índices de fertilidade em novilhas *Bos indicus*.

A expressão gênica de receptores de LH nas células da granulosa em vacas zebuínas ocorre quando o folículo atinge diâmetro maior ou igual a 7,0 mm, além disso, o número desses receptores aumenta concomitantemente com o aumento do diâmetro folicular [29].

Um estudo que reuniu dados de 22 experimentos (10.116 fêmeas), indicaram que vacas e novilhas submetidas a protocolos de IATF e detectadas em estro antes da IA, tiveram uma

melhoria de 27% na taxa de concepção em comparação as que não foram detectadas em estro [13].

Os níveis de estradiol na inseminação parecem favorecer a fertilização ao influenciar o transporte espermático [30,31] e promover mudanças positivas no ambiente uterino [32]. Sob a influência do estradiol, observa-se uma diminuição do pH uterino. Esta alteração no pH se assemelha à do plasma seminal [33]. Assim, a redução do pH uterino leva a uma diminuição da motilidade espermática e do metabolismo, o que aumenta sua viabilidade e permanência no trato reprodutivo da fêmea até a ovulação [34].

O ECC, não influenciou o diâmetro folicular entre vacas gestantes e não gestantes, no estudo. É provável que essa relação não tenha sido evidenciada, pois haviam poucas vacas com ECC entre 2,0 e 2,5 categorizadas como ≤ 3 . O menor ECC no início do protocolo de IATF tem sido associado à redução da reposição reprodutiva nas vacas *Bos indicus* [2,3].

Portanto, minimizar o balanço energético negativo no início da lactação, melhorando a nutrição durante os períodos pré e pós-parto objetivando maiores ECC, irá favorecer a taxa de concepção em programas de IATF de vacas Nelore [35].

5. Conclusões

Vacas Nelore lactantes submetidas à IATF com folículo de maior diâmetro, mensurado no momento da IATF, foram mais propensas a manifestar estro e de se tornarem gestantes. Assim, devem ser adotadas alternativas com o objetivo de aumentar o diâmetro do folículo ovulatório, favorecendo a eficiência dos protocolos de sincronização.

6. Agradecimentos

Os autores agradecem ao proprietário e equipe do Rancho do Vale Agropecuária (Canindé do S. Francisco, Sergipe) por permitir o uso de seus animais e instalações para este estudo e ao Dr. Reuel Gonçalves (Biogênese Bagó Saúde Animal, Curitiba, Paraná) pelo apoio a essa pesquisa.

Referências

- [1] Hill SL, Grieger KC, Olson JR, Jaeger CR, Dahlen GA, Bridges F, et al. Using estrus detection patches to optimally time insemination improved pregnancy risk in suckled beef cows enrolled in a fixed-time artificial insemination program. *J Animal Sci* 2016;94: 3703-10.
- [2] Bó GA, Cutaia L, Peres LC, Pincinato D, Maraña D, Baruselli PS. Technologies for fixed-time artificial insemination and their influence on reproductive performance of *Bos indicus* cattle. *Soc Reprod Fertil Suppl* 2007;64: 223–36.
- [3] Meneghetti M, Sá Filho OJ, Peres R, Lamb G, Vasconcelos JLM. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows I: Basis for development of protocols. *Theriogenology* 2009;72: 179–89.
- [4] Sá Filho MF, Santos JEP, Ferreira RM, Sales JNS, Baruselli PS. Importance of estrus on pregnancy per insemination in suckled *Bos indicus* cows submitted to estradiol/progesterone-based timed insemination protocols. *Theriogenology* 2011;76: 455-63.
- [5] Souza AH, Viechnieski S, Lima FA, Silva FF, Araújo R, Bó GA, et al. Effects of equine chorionic gonadotropin and type of ovulatory stimulus in a timed-AI protocol on reproductive responses on dairy cows. *Theriogenology* 2009;72: 10 –21.
- [6] Baruselli PS, Sales JN, Sala RV, Vieira LM, Sá Filho MF. History, evolution and perspectives of timed artificial insemination programs in Brazil. *Ani Reprod* 2012;9: 139-52.
- [7] Wiltbank MC & Purley JR. The cow as na induced ovulator: Timed AI after synchronization of ovulation. *Theriogenology*, 2014;81: 170-85.
- [8] Walsh SW, Williams EJ, Evans ACO. A review of the causes of poor fertility in high milk producing dairy cows. *Anim Reprod Sci*, 2011;123: 127-38.
- [9] Veras GA, Souto PFMP, Ferreira-Silva JC, Nascimento PS, Guido SI, Santos Filho AS, Oliveira MAL, Bartolomeu CC. Efeito de diferentes concentrações de progesterona em dispositivos

- vaginais sobre a dinâmica folicular de novilhas holandesas (*Bos taurus*) submetidas a IATF. *Medicina Veterinária (UFRPE)* 2017;11: 203-209.
- [10] Ferraz PA, Loiola MVG, Rodrigues AS, Lima MCCL, Bittencourt, TCBSC, Ribeiro Filho. The effect of the intensity of estrus expression on the follicular diameter and fertility of nellore cows managed under a ftai program. *Cienc Anim Bras* 2017;18: 1-9.
- [11] Bó GA, Baruselli PS, Moreno D, Cutaia L, Caccia M, Tribulo R, Tríbulo H, Mapletoft RJ. The control of follicular wave development for self-appointed embryo transfer program in cattle. *Theriogenology* 2002;57.1: 53-72.
- [12] Pfeifer LFM, Castro NA, Neves PMA, Cestaro JP. IATF em blocos: Uma nova alternativa para aumentar a taxa de prenhez de vacas de corte submetidas a protocolos de IATF. *Circular Técnica (Embrapa)*, 2015;141.
- [13] Richardson BN, Hill SL, Stevenson JS, Djira GD, Perry GA. Expression of estrus before fixed-time AI affects conception rates and factors that impact expression of estrus and the repeatability of expression of estrus in sequential breeding seasons. *Anim. Reprod. Sci* 2016;166: 133–140.
- [14] Martínéz MF, Kastelic JP, Bó GA, Caccia M, Mapletoft RJ. Effects of estradiol and some of its esters on gonadotrophin release and ovarian follicular dynamics in CIDR-treated beef cattle. *Anim Reprod Sci* 2005;86: 37-52.
- [15] Allrich RD. Endocrine and neural control of estrus in dairy cows. *J Dairy Sci* 1994; 77: 2738–44.
- [16] Sirois J, Fortune JE. Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in heifers monitored by real-time ultrasonography. *Biology of Reproduction* 1988;39: 308–317.
- [17] Ayres H, Ferreira RM, Torres-Júnior JRS, Demétrio CGB, De Lima CG, Baruselli, PS. Validation of body condition score as a predictor of subcutaneous fat in Nelore (*bos indicus*) cows. *Livestock Science* 2009;23: 175-79.

- [18] Sá Filho OJ, Meneghetti M, Peres R, Lamb G., Vasconcelos JLM. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows II: Strategies and factors affecting fertility. *Theriogenology* 2009;72: 210-18.
- [19] Atkins JA, Smith MF, Wells KJ, Geary TW. Factors affecting preovulatory follicle diameter and ovulation rate after gonadotropin-releasing hormone in postpartum beef cows. Part I: Cycling cows. *Journal Animal Science* 2010;88: 2300–310.
- [20] Forde N, Beltman ME, Lonergan P, Diskin M, Roche JF, Crowe MA. Oestrous cycles in *Bos taurus* cattle. *Animal Reproduction Science* 2011;124: 163-69.
- [21] Moenter SM, Caraty A, Karsch FJ. The estradiol-induced surge of gonadotropin-releasing hormone in the ewe. *Endocrinology* 1990;127: 1375-84.
- [22] Ribeiro Filho AL, Ferraz PA, Rodrigues AS, Bittencourt TCBSC, Loiola MV, Chalhoub M. Diâmetro do folículo no momento da inseminação artificial em tempo fixo e taxa de concepção em vacas nelore. *Ciência Animal Brasileira* 2013;14: 501-07.
- [23] Perry GA, Smith MF, Roberts AJ, Macneil MD, Greary TW. Relationship between size of the ovulatory follicle and pregnancy success in beef heifers. *Journal Animal Science* 2007; 85: 684–689.
- [24] Lonergan P, O'hara L, Forde N. Papel da progesterona do diestro na função endometrial e desenvolvimento do concepto em bovinos. *Animal Reproduction* 2013;10: 119-123.
- [25] Mussard ML, Burke CR, Behlke EJ, Gasser CL, Day ML. Influence of premature induction of a luteinizing surge with gonadotropin-releasing hormone on ovulation, luteal function, and fertility in cattle. *J Anim Sci* 2007;85: 937-43.
- [26] Lamb GC, Stevenson JS, Kesler DJ, Garverick HÁ, Brown DR, Salfer BE. Inclusion of an intravaginal progesterone insert plus GnRH and prostaglandin F₂α for ovulation control in postpartum suckled beef cows. *Journal of Dairy Science* 2001; 79: 2253-2259.

- [27] Gimenes LU, Sá Filho MF, Carvalho NAT, Torres-Júnior JRS, Souza AH, Madureira EH et al. Follicle deviation and ovulatory capacity in *Bos indicus* heifers. *Theriogenology* 2008;69: 852-58.
- [28] Dias CC, Wechsler FS, Day ML et al. Progesterone concentrations, exogenous equine chorionic gonadotropin, and timing of prostaglandin F2 α treatment affect fertility in postpuberal Nellore heifers. *Theriogenology* 2009;72: 378-85.
- [29] Simões RAL, Satrapa RA, Rosa FS, Piagentini M, Anthony CS et al. Ovulation rate and its relationship with follicle diameter and gene expression of the LH receptor (LHR) in Nellore cows. *Theriogenology* 2012;77: 139-47.
- [30] Perry GA, Perry BL. Effect of preovulatory concentrations of estradiol and initiation of standing estrus on uterine pH in beef cows. *Domest. Anim. Endocrinol* 2008;34: 333-38.
- [31] Hawk HW. Sperm survival and transport in the female reproductive tract. *Journal Dairy Science*. 1983;77: 2738–744.
- [32] Acott TS & Carr DW. Inhibition of Bovine Spermatozoa by Caudal Epididymal Fluid: II Interaction of pH and a Quiescence Factor. *Biology of Reproduction*. 1984;30: 926–935.
- [33] Erol CC, Butler WR. Reduction of fertility and alteration of uterine pH in heifers fed excess ruminally degradable protein. *Journal of Animal Science*. 1993;71: 694–701.
- [34] Jones JM, Bavister BD. Acidification of Intracellular pH in Bovine Spermatozoa Suppresses Motility and Extends Viable Life. *Journal of Andrology*. 2000; 21(5):616–624.
- [35] Sá Filho MF, Crespilho AM, Santos JEP, Perry GA, Baruselli PS. 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* cow. *Anim Reprod Sci* 2010;120: 23-30.

4.2 Artigo 2.

GnRH aumenta a taxa de concepção em vacas Nelore sem ocorrência de estro após a IATF

G. A. Veras^{a*}, M. C. Farias^a, R. A. Silva Júnior^a, M. Maturana Filho^b, C. C. Bartolomeu^a, M. A. L. Oliveira^a

^aDepartamento de Reprodução Animal, UFRPE, Pernambuco, Brasil.

^bDepartamento de Reprodução Animal, FMVZ/USP, São Paulo, Brasil.

*Autor para correspondência. Tel. +55 87 981408670.

Endereço de E-mail: guilhermeveras.vet@hotmail.com (G. A. Veras).

Resumo

O objetivo foi avaliar a importância da ocorrência de estro e da administração de GnRH no momento da IATF em vacas Nelore. Foram utilizadas 1.036 vacas, que no dia 0 receberam um dispositivo intravaginal com 1,9g de P₄, novos e reutilizados e 2 mg de benzoato de estradiol im. No dia 7 receberam 12,5 mg de dinoprost im, no dia 9 os dispositivos intravaginal foram removidos e administrado 300 UI de eCG e 1 mg de cipionato de estradiol im, e inseminadas em tempo fixo após 48 - 52 horas. No momento da IATF, foram distribuídas homogêneas de acordo com a ocorrência de estro e administrado 10,5 mcg de Acetato de Buserelina, GnRH: sem estro – sem GnRH, sem estro – com GnRH, com estro – sem GnRH e com estro – com GnRH. A base da cauda foi pintada com bastão marcador no momento da remoção do dispositivo, e foram consideradas em estro quando não apresentaram a base da cauda marcadas no momento da IA. O diagnóstico de gestação foi realizado 30 dias após a IATF. A taxa de ocorrência de estro e taxa de concepção (TC) foi 60 % e 50,2 %, respectivamente. Vacas que apresentaram estro tiveram maior TC em comparação as que não apresentaram (P < 0,05). Vacas tratadas com GnRH e que não apresentaram estro (46,1 %) apresentaram maior TC (P < 0,05) do que vacas controle (37,4). O ECC influenciou a TC (P < 0,05) no grupo controle ($\leq 2,5$ 42 % e $> 2,5$ 54,6 %). O N° de usos do dispositivo de P₄ afetou a manifestação de estro (P < 0,05), diferenciando o 2° uso (65,7 %) do 3° (57,7 %) e 4° (53,1 %), e a taxa de concepção. Vacas que não receberam GnRH apresentaram diferença (P < 0,05) entre 3° (58,1 %) e 4° usos (41,8 %). Houve influência do sêmen sobre a TC, no grupo controle o touro C (44,4 %) apresentou TC inferior (P < 0,05) aos touros A (54,0 %) e B (61,5 %), já no grupo GnRH o touro B (62,1 %) apresentou TC (P < 0,05) superior ao touro C (47,4 %). A ocorrência de estro foi fator importante associado a melhorias na TC em vacas Nelore lactantes, assim como, a administração de GnRH, em vacas que não exibiram estro.

Palavras chave: Estro; Ovulação; *Bos indicus*; Hormônio liberador de gonadotrofinas; Reprodução.

Artigo formatado segundo as normas da Theriogenology

1. Introdução

Apesar da adaptabilidade dos zebuínos às condições tropicais, na grande maioria dos rebanhos brasileiros observa-se comprometimento nos índices reprodutivos, mesmo com avanços nas biotecnologias de reprodução animal. Portanto, a melhoria genética do rebanho e o aumento da eficiência produtiva e reprodutiva, são necessários para aumentar o retorno econômico da indústria bovina de corte no Brasil.

Detecção de estro é um dos fatores limitantes para o sucesso da inseminação artificial (IA), pois requer tempo e pessoa treinada, além disso, é particularmente difícil nos zebuínos, devido à curta duração e alta incidência de estros noturno [1]. Nesse sentido, protocolos hormonais que controlam a dinâmica folicular e lútea para sincronização do estro e ovulação, foram desenvolvidos para permitir inseminação artificial em tempo fixo (IATF), possibilitando que grupos de vacas sejam inseminadas em horário pré-determinado sem a necessidade de observação de estro [2,3].

Os protocolos mais empregados para IATF na América do Sul são os que associam estrógeno e progesterona, no início do protocolo hormonal, e prostaglandina (PGF2 α), estradiol e gonadotrofina coriônica equina (eCG), no momento da retirada da fonte de P4 [4], permitindo a obtenção de taxas de concepção semelhantes a IA convencional [5,6].

Nesses protocolos hormonais de sincronização, a associação entre estrógenos e P4 (liberado pelos dispositivos de P4), promovem a diminuição dos níveis circulantes de FSH e LH, promovendo regressão dos folículos dependentes de gonadotrofinas [7], após a metabolização e diminuição dos níveis plasmáticos do E2, ocorre aumento subsequente das concentrações de FSH endógeno e consequente emergência de uma nova onda de crescimento folicular [8].

O mecanismo de ação é por meio da retroalimentação negativa que esta promove sobre a secreção de LH, modulando a frequência pulsátil [9,10], mas não interfere na secreção de FSH, evitando a maturação folicular final, estro e a ovulação do folículo dominante [4]. Ao retirar a fonte de P4, e na ausência de um CL funcional pela aplicação de uma prostaglandina, o animal apresentará um folículo ovulatório capaz de responder à indução da ovulação. Para tanto, associando-se ao final do tratamento com o P4 um hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) ou estrógeno que irá promover a indução da ovulação em um tempo pré-determinado, independentemente, do momento em que se iniciou o protocolo [11].

Esses protocolos permitem sincronizar a emergência da onda folicular, terminar a fase luteínica de forma uniforme e induzir a ovulação sincronizada do folículo dominante ao final

do tratamento hormonal [12], proporcionando adequadas taxas de sincronização de estro, entre 80 a 90% dos estros ocorrendo entre 24 e 28 horas após a remoção do dispositivo de P4 [13].

Vários fatores influenciam a eficiência do protocolo de IATF em vacas de corte lactantes [12,14], entre eles o diâmetro do folículo ovulatório (DFO), importante indicador de fertilidade em fêmeas zebu [15], a presença de um folículo ovulatório de maior diâmetro, aumenta a ocorrência de estro entre a retirada do dispositivo intravaginal e a IATF, resultando em maior taxa de concepção (TC) [16]. Estudos recentes demonstraram que vacas que apresentam estro ao final do protocolo de IATF, possuem maior concentração de estradiol e conseqüentemente, maior possibilidade em conceber do que aquelas sem ocorrência de estro [17,18,19].

Porém, mensurar o DFO no momento da IA requer auxílio da ultrassonografia [20]. Nesse cenário, métodos auxiliares foram desenvolvidos para aumentar a eficiência da detecção de estro em vacas, entre eles o bastão marcador que pode ser usado como uma ferramenta alternativa, prática e acessível para a detecção de estro entre a remoção da fonte de P4 e IATF, substituindo assim, métodos mais onerosos de difícil aplicabilidade em rebanhos bovinos de corte [19].

A administração do GnRH no momento da IATF pode ser uma opção para aumentar a TC em vacas de corte [2,21], especialmente em vacas que não apresentam estro entre a retirada do dispositivo de P4 e a IA [4]. O GnRH induz o pico pré-ovulatório do hormônio luteinizante (LH) sincronizando o momento da ovulação e auxiliando na fecundação do oócito [22, 23].

No entanto, são raros os relatos que tentam correlacionar taxas de concepção com ocorrência de estro, escore de condição corporal e administração de GnRH em vacas Nelore. Nesse contexto, o objetivo do nosso estudo foi avaliar a importância da ocorrência de estro e da administração de GnRH no momento da IATF em vacas Nelore lactantes.

2. Material e métodos

2.1. Animais e local do experimento

Esse experimento foi realizado em 3 fazendas comerciais, localizadas nos estados do Maranhão (01° 50' 38" S 46° 05' 31" O), Paraíba (06° 54' 54" S 35° 15' 07" O) e Sergipe (09° 38' 31" S 37° 47' 16" O), Brasil. Foram utilizadas 1.036 vacas primíparas e multíparas da raça Nelore (*Bos indicus*) lactantes, entre os meses de agosto de 2016 a abril de 2017. Mantidas conforme manejo da fazenda, sob pastejo em pastagem de *Brachiaria decumbens*, tendo livre acesso à água e suplementação mineral. Esse estudo obteve parecer favorável da Comissão de

Ética no Uso de Animais (CEUA), da Universidade Federal Rural de Pernambuco com a licença nº 082/2017 CEPE/UFRPE.

O Escore de Condição Corporal (ECC) de cada vaca foi avaliado no primeiro dia do protocolo de sincronização da ovulação usando a escala de 1 a 5, onde 1 corresponde a um animal caquético e 5 a um animal obeso [24].

Previamente ao início do protocolo, todas as fêmeas foram submetidas a exame clínico-ginecológico e ultrassonografia transretal, com auxílio do aparelho *DP 2200 Vet, Mindray®*, acoplado ao transdutor linear com frequência de 6,0 MHz, sendo consideradas aptas a participar do experimento as fêmeas que não apresentaram, no momento da avaliação, anormalidades do trato reprodutivo.

2.2. Tratamento hormonal

As vacas foram distribuídas em lotes de acordo com o mês de parição, onde no início do protocolo as vacas apresentavam entre 40 e 150 dias pós-parto.

Em um dia aleatório do ciclo estral denominado dia 0 (D0), as vacas receberam um dispositivo intravaginal contendo 1,9g de P₄ (CIDR, Zoetis Saúde Animal, São Paulo, Brasil) novos ou reutilizados (durante 9, 18 ou 27 dias), associado a 2 mg de benzoato de estradiol intramuscular (Gonadiol, Zoetis Saúde Animal, São Paulo, Brasil). No dia 7 (D7), receberam 12,5 mg de dinoprost intramuscular (Lutalyse, Zoetis Saúde Animal, São Paulo, Brasil) e no dia 9 (D9) o dispositivo intravaginal foi removido e administrados 300 UI de eCG intramuscular, além da aplicação de 1 mg de cipionato de estradiol intramuscular (ECP, Zoetis Saúde Animal, São Paulo, Brasil). As fêmeas foram inseminadas em tempo fixo entre 48 - 52 horas após a retirada do dispositivo intravaginal com sêmen criopreservado em central de inseminação artificial.

No momento da IATF as fêmeas foram distribuídas homoganeamente de acordo com a ocorrência de estro e a administração de 10,5 mcg de Acetato de Buserelina, GnRH (Gonaxal, Biogênese Bagó Saúde Animal, Paraná, Brasil): sem estro – sem GnRH, sem estro – com GnRH, com estro – sem GnRH e com estro – com GnRH.

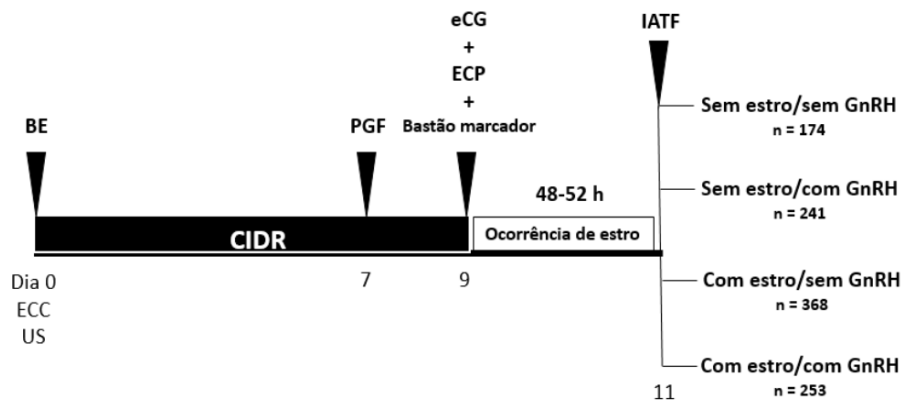


Fig. 1. Diagrama esquemático do tratamento hormonal para sincronização do estro e ovulação em vacas Nelore lactantes. BE = 2 mg de benzoato de estradiol; PGF = 12,5 mg de dinoprost; eCG = 300 UI de eCG; ECP = 1 mg de cipionato de estradiol; Bastão marcador = base da cauda pintada (entre a tuberosidade sacral e a inserção da cauda) na remoção do dispositivo de P4; GnRH = 10,5 mcg de Acetato de Buserelina; IATF = realizada entre 48-52 h após a remoção do dispositivo de P4.

2.3 Expressão do estro e diagnóstico de gestação

As fêmeas tiveram a base da cauda pintada (entre a tuberosidade sacral e a inserção da cauda) no momento da remoção do dispositivo intravaginal, com bastão marcador (Raidl-Maxi, RAIDEX GmbH, Dettingen/Erms, Alemanha). Foram consideradas em estro as fêmeas que não apresentaram a base da cauda marcadas 48 horas após a remoção do dispositivo de P4. O diagnóstico de gestação foi realizado aos 30 dias após a IATF, por ultrassonografia transretal, com auxílio do aparelho *DP 2200 Vet, Mindray®*, acoplado ao transdutor linear com frequência de 6,0 MHz.

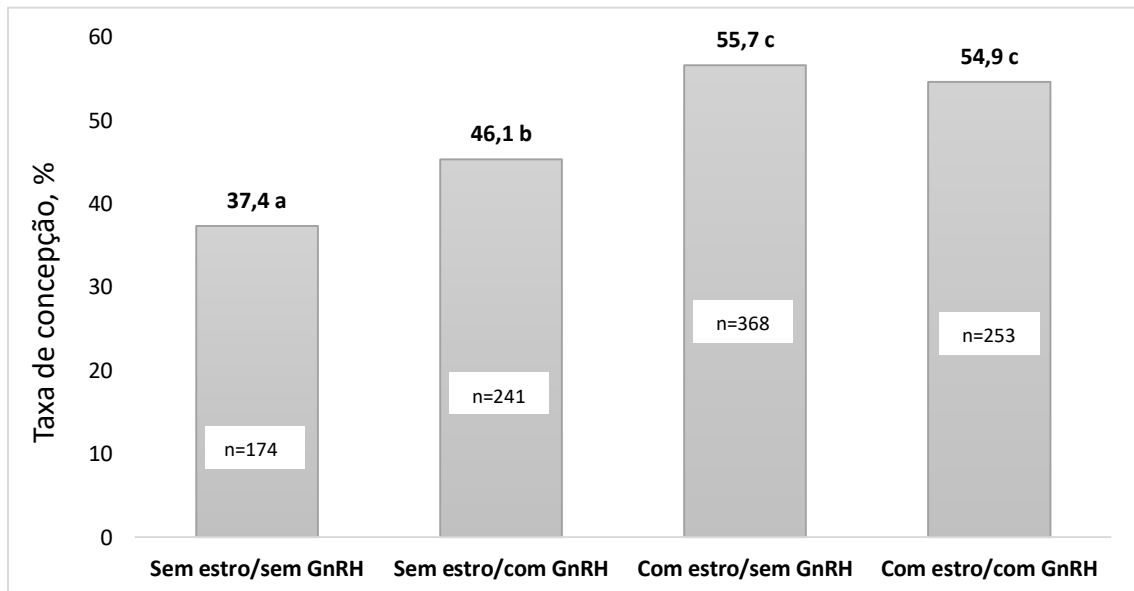
2.4 Análise estatística

Os dados gerados foram analisados usando os procedimentos do pacote computacional SPSS 20.0 [25], Análise de Variância (ANOVA), Teste T e F para análises das variáveis paramétrica, e qui-quadrado para variáveis não paramétricas, sendo as diferenças entre os grupos consideradas estatisticamente significativas quando o valor de P for menor ou igual a 0,05 ($P \leq 0,05$).

3. Resultados

Nesse estudo, a taxa de ocorrência de estro e concepção após a IATF foi de 60 % (621/1036) e 50,2 % (520/1036), respectivamente. As vacas que receberam GnRH no momento da IA, não apresentaram maiores TC (51 %; 252/494) do que as vacas que não receberam (49,8 %; 267/542).

Vacas que apresentaram estro após protocolo de sincronização tiveram maior TC quando comparadas as que não apresentaram estro ($P < 0,05$), no grupo controle (estro 55,7 %; 205/368 e não estro 37,4 %; 65/174) e no grupo GnRH (estro 54,9 %; 139/253 e não estro 46,1 %; 111/241). Vacas tratada com GnRH e que não apresentaram estro (46,1 %; 111/241) também tiveram maior TC ($P < 0,05$) do que vacas do grupo controle (37,4 %; 65/174, figura 2).



Letras minúsculas diferentes diferem pelo teste de χ^2 ($P < 0,05$); n = número de vacas.

Fig.2. Taxa de concepção por IATF de acordo com a ocorrência de estro e o tratamento com GnRH no momento da IA em vacas Nelore lactantes.

O escore de condição corporal (ECC) influenciou a TC ($P < 0,05$) no grupo controle ($\leq 2,5$ 42 %; 87/207 e $> 2,5$ 54,6 %; 183/335), com associação positiva entre o incremento do ECC e a TC, mas não influenciou a TC das vacas que receberam GnRH, conforme descrito na tabela 1.

Tabela 1

Taxa de concepção por IATF de acordo com o tratamento com GnRH e o escore de condição corporal em vacas Nelore lactantes.

Taxa de Concepção, %	Escore de condição corporal	
	≤2,5	>2,5
Controle	42,0 (87/207) _a	54,6 (183/335) _b
GnRH	48,4 (120/248) _a	52,8 (130/246) _a
Total	45,5 (207/455) _a	53,9 (313/581) _b

Letras diferentes, minúsculas na mesma linha diferem pelo teste de χ^2 ($P < 0,05$)

Na tabela 2 constam os dados referentes ao número de usos do dispositivo intravaginal de P4, sendo possível observar que afetou a manifestação de estro ($P < 0,05$), diferenciando o 2º uso (65,7 %; 299/455) do 3º (57,7 %; 169/293) e 4º (53,1 %; 139/262), assim como, o número de usos do dispositivo também afetou a TC. Vacas que não receberam GnRH apresentaram diferença ($P < 0,05$) entre o 3º (58,1 %; 68/117) e 4º usos (41,8 %; 51/122).

Tabela 2

Taxa de ocorrência de estro e concepção de acordo com número de usos do dispositivo intravaginal e o tratamento com GnRH entre a remoção do dispositivo intravaginal e IA em vacas Nelore lactantes.

Nº de usos	Taxa ocorrência de estro %	Taxa de concepção %	
		Controle	GnRH
1º	53,8 (14/26) _A	50,0 (6/12) _{aA}	42,9 (6/14) _{aA}
2º	65,7 (299/455) _{AB}	49,8 (145/291) _{aA}	47,0 (77/164) _{aA}
3º	57,7 (169/293) _{AC}	58,1 (68/117) _{aAB}	52,8 (93/176) _{aA}
4º	53,1 (139/262) _{AD}	41,8 (51/122) _{aAC}	52,9 (74/140) _{aA}

Letras diferentes, minúsculas na mesma linha e maiúscula na mesma coluna diferem pelo teste de χ^2 ($P > 0,05$)

Na avaliação de dias pós-parto, não foi evidenciado diferença significativa entre os grupos analisados em relação a taxa de ocorrência de estro e concepção (controle e GnRH, tabela 3).

Tabela 3

Taxa de ocorrência de estro e concepção de acordo com dias pós-parto (DPP) e o tratamento com GnRH entre a remoção do dispositivo intravaginal e IA em vacas Nelore lactantes.

DPP	Taxa ocorrência de estro %	Taxa de concepção %	
		Controle	GnRH
≤60	59,8 (259/433) _A	46,0 (103/224) _{aA}	48,8 (102/209) _{aA}
>60	60,0 (362/603) _A	52,5 (167/318) _{aA}	51,9 (148/285) _{aA}

Letras diferentes, minúsculas na mesma linha e maiúscula na mesma coluna diferem pelo teste de χ^2 ($P < 0,05$).

Podemos observar na tabela 4 que houve influência do touro sobre a taxa de concepção, no grupo controle o touro C (44,4 %; 118/266) apresentou taxa de concepção inferior ($P < 0,05$) aos touros A (54 %; 128/237) e B (61,5 %; 24/39). Já no grupo GnRH o touro B (62,1 %; 59/95)

apresentou taxa de concepção significativamente ($P < 0,05$) superior ao touro C (47,4 %; 153/323).

Tabela 4

Taxa de concepção por touro de acordo com o tratamento com GnRH entre a remoção do dispositivo intravaginal e IA em vacas Nelore lactantes.

Touro	Taxa de concepção %	
	Controle	GnRH
A	54,0 (128/237) _{aA}	50,0 (38/76) _{aA}
B	61,5 (24/39) _{aAB}	62,1 (59/95) _{aB}
C	44,4 (118/266) _{aC}	47,4 (153/323) _{aAC}

Letras diferentes, minúsculas na mesma linha e maiúscula na mesma coluna diferem pelo teste de χ^2 ($P < 0,05$)

4. Discussão

Nosso estudo demonstrou que a administração de GnRH, pode ser importante para obtenção de melhores taxas de concepção em vacas Nelore lactantes submetidas à IATF, baseado em estradiol/progesterona, e que não demonstraram estro entre a retirada do dispositivo de P4 e o momento da IA. Porém, em vacas com expressão de estro o GnRH não promoveu melhorias na taxa de concepção. É provável que vacas observadas em estro tenham sido expostas ao pico pré-ovulatório de LH induzido por GnRH endógeno, ovulando espontaneamente [26].

Em vacas de corte não lactantes que apresentam estro espontâneo, a ovulação ocorreu 31 h após o início do estro [26]. Administrando GnRH próximo do início do estro, pode induzir ou aumentar a magnitude do pico pré-ovulatório de LH [27], no entanto as concentrações circulantes de LH são apenas minimamente influenciadas pelo GnRH exógeno, após o aumento espontâneo de LH em vacas leiteiras [27,28].

O resultado desse experimento foi semelhante aos relatados na literatura em vacas de corte, *Bos indicus* [29] e cruzadas (*Bos indicus* x *Bos taurus*) [2], e outros relatos não evidenciaram melhorias na TC [4,23].

A ocorrência de estro determinado pela remoção do bastão marcador na base da calda no momento da IA, como demonstrado acima, foi um indicador importante de fertilidade, corroborando outros trabalhos [2,4,19]. Em estudo retrospectivo Richardson, et al. [18], reuniu dados de 22 experimentos (10.116 fêmeas), indicaram que vacas e novilhas submetidas a protocolos de IATF e detectadas em estro antes da IA tiveram uma melhoria de 27 % na taxa de concepção em comparação as que não foram detectadas em estro.

A melhoria da fertilidade está relacionada com as alterações ocorridas no trato reprodutivo promovido pelo aumento nas concentrações circulantes do estradiol, que na ausência de

progesterona atua sobre o hipotálamo desencadeando o comportamento de estro e promovendo o pico pré-ovulatório de LH [30]. O estro influencia positivamente no transporte espermático, alterando a composição e a quantidade de muco cervical secretado e aumentando as contrações da musculatura lisa na parede uterina [31]. Há relatos que o pH uterino diminui sob a influência do estradiol no estro, de cerca de 7,0 para 6,7 e é revertido para 7,0 antes da ovulação, o que leva a uma potencial diminuição da motilidade espermática, aumentando assim a vida útil até o momento da ovulação [32,33].

O ECC influenciou a TC no grupo controle, com associação positiva entre o incremento do ECC e a TC. A secreção pulsátil de LH está comprometida em vacas em anestro pós-parto, determinando insuficientes níveis dessa gonadotrofina para apoiar o desenvolvimento folicular e a ovulação [33,34]. Essa condição anovulatória limita a eficiência de protocolos de sincronização da ovulação para IATF [35].

Portanto, a administração de GnRH nas vacas com $ECC \leq 2,5$, pode ter favorecido a melhoria numérica na TC observada nesse estudo, e não diferenciando os animais com $ECC \leq 2,5$ dos que apresentaram $ECC > 2,5$. Hall, et al. [36], relataram não haver influência do ECC sobre a TC em vacas de corte *Bos taurus* cruzadas (Angus x Hereford), o que difere dos resultados aqui encontrados.

O grau de balanço energético negativo (BEN) é um fator que pode influenciar o intervalo entre o tratamento com progesterona/estradiol e o início da nova onda de emergência folicular, determinando menor taxa de sincronização [37], interferindo negativamente nos resultados da IATF.

Meneghetti, et al. [12], relataram que as taxas de concepção foram semelhantes entre vacas recebendo CIDR novos ou reutilizados. As concentrações séricas de progesterona foram superiores a 1,0 ng/mL em vacas sem CL, tratadas com CIDR reutilizados por até 4 vezes (9 dias cada uso). No entanto, a literatura disponível comparando tratamentos com CIDR usados anteriormente 3 ou 4 vezes é escassa. Desta forma, há preocupação sobre o 4º uso do CIDR, se fornece P4 suficiente para prevenir problemas com luteólise prematura em vacas em anestro pós-parto, após a primeira ovulação, podendo explicar a diminuição na TC das vacas do grupo controle e com CIDR de 4º uso no nosso estudo.

Em contraste aos nossos resultados Colazo, et al. [38], observaram que vacas *Bos taurus* tratados com CIDR de terceiro uso tiveram menor taxa de concepção do que aquelas tratadas com novo ou usado pela 2º vez. Uma possível explicação para essa diferença, seria devido a diferenças fisiológicas entre fêmeas *Bos indicus* e *Bos taurus*. Em outro estudo que comparou *Bos indicus*, *Bos taurus* e novilhas mestiças, verificaram que o tratamento com o CIDR nas

novilhas *Bos indicus* resultaram em maiores concentrações circulantes de progesterona e menores taxas de crescimento folicular e ovulação do que as outras raças [39].

No estudo não foi evidenciado efeito do DPP sobre a TC, corroborando outros estudos [14,36,37,40] que também não encontraram benefícios dos dias pós-parto sobre a TC em vacas de corte submetidas a IATF.

Quando programas de IATF são adotados, há a necessidade do uso de sêmen criopreservado de vários reprodutores e ainda de várias partidas de sêmen, assim a não avaliação ou mesmo a falta de critérios na avaliação das partidas poderá afetar sobremaneira a fertilidade de todo o lote de fêmeas, trazendo prejuízos econômicos [41].

As modificações geradas nas membranas espermáticas, durante as etapas de congelamento do sêmen, promovem uma “criocapacitação” do espermatozoide [42], frequentemente citada como um fator associado à redução da longevidade do espermatozoide criopreservado no trato reprodutivo da fêmea [43,44].

Em semelhança ao estudo, Hall, et al. [36], utilizaram vacas cruzadas (*Bos taurus*) submetidas a IATF, e também evidenciaram diferenças significativas na TC por touro, em acréscimo, sugeriram que diferenças mais aparentes na fertilidade entre os touros podem ser, na verdade, resultado de fatores relacionados à vaca, inseminadores ou do ambiente, em vez de verdadeiras questões de fertilidade do touro. E que para examinar e classificar os impactos induzidos pela fertilidade do touro, seria necessário experimento a campo em grande escala além de análises laboratoriais de precisão.

5. Conclusões

A ocorrência de estro, foi um fator importante associado a melhorias na TC em vacas Nelore lactantes, assim como, a administração de GnRH, em vacas que não exibiram estro, favoreceu o aumento da TC. O ECC influenciou a TC no grupo controle, mas não em vacas que receberam GnRH. O número de usos do dispositivo de P4 afetou a ocorrência de estro, assim como, a TC. Houve influência do touro sobre a TC.

6. Agradecimentos

Os autores agradecem aos proprietários e equipes da AgroMaratá (Junco do Maranhão, Maranhão), Rancho do Vale Agropecuária (Canindé do S. Francisco, Sergipe) e Fazenda Morιά (Cuité do Mamanguape, Paraíba) por permitir o uso de seus animais e instalações para este estudo. Em especial, agradecemos também ao Dr. Matheus Cavalcante (Maratá Agropecuária)

por sua ajuda na gestão dos animais e com protocolos de sincronização e ao Dr. Reuel Gonçalves (Biogênese Bagó Saúde Animal, Curitiba, Paraná) pelo apoio a essa pesquisa.

Referências

- [1] Pinheiro OL, Barros CM, Figueiredo RA, Do Valle ER, Encarnação RO, Padovani, C. R. Estrous behavior and the estrus-to-ovulation interval in Nelore cattle (*Bos indicus*) with natural estrus or estrus induced with prostaglandin F2 alpha or norgestomet and estradiol valerate. *Theriogenology* 1998;49:667– 81.
- [2] Hill SL, Grieger KC, Olson JR, Jaeger CR, Dahlen GA, Bridges F, et al. Using estrus detection patches to optimally time insemination improved pregnancy risk in suckled beef cows enrolled in a fixed-time artificial insemination program. *J Animal Sci* 2016;94: 3703-10.
- [3] Bó GA, Cutaia L, Peres LC, Pincinato D, Maraña D, Baruselli PS. Technologies for fixed-time artificial insemination and their influence on reproductive performance of *Bos indicus* cattle. *Soc Reprod Fertil Suppl* 2007;64:223–36.
- [4] Sá Filho MF, Santos JEP, Ferreira RM, Sales JNS, Baruselli PS. Importance of estrus on pregnancy per insemination in suckled *Bos indicus* cows submitted to estradiol/progesterone-based timed insemination protocols. *Theriogenology* 2011;76: 455-63.
- [5] Souza AH, Viechnieski S, Lima FA, Silva FF, Araújo R, Bó GA, et al. Effects of equine chorionic gonadotropin and type of ovulatory stimulus in a timed-AI protocol on reproductive responses on dairy cows. *Theriogenology* 2009;72:10 –21.
- [6] Baruselli PS, Sales JN, Sala RV, Vieira LM, Sá Filho MF. History, evolution and perspectives of timed artificial insemination programs in Brazil. *Ani Reprod* 2012;9:139-52.
- [7] Bó GA, Baruselli PS, Moreno D, Cutaia L, Caccia M, Tribulo R, Tribulo H, Mapletoft RJ. The control of follicular wave development for self-appointed embryo transfer program in cattle. *Theriogenology* 2002;57.1:53-72.

- [8] Martínéz MF, Kastelic JP, Bó GA, Caccia M, Mapletoft RJ. Effects of estradiol and some of its esters on gonadotrophin release and ovarian follicular dynamics in CIDR-treated beef cattle. *Anim Reprod Sci* 2005;86:37-52.
- [9] Stock AE, Fortune JE. Ovarian follicular dominance in cattle: relationship between prolonged growth of the ovulatory follicle and endocrine parameters. *Endocrinology* 1993;132.3:1108-14.
- [10] Kinder JE, Kojima FN, Bergfeld EG, Wehrman ME, Fike KE. Progestin and estrogen regulation of pulsatile LH release and development of persistent ovarian follicles in cattle. *J Animal Sci* 1996;74.6:1424-40.
- [11] Bó GA, Pierson RA, Tribulo HE, Caccia M, Mapletoft RJ. Follicular waves dynamic after estradiol 17 β treatment of heifers with or without progesterone implant. *Theriogenology* 1994;41:1555-69.
- [12] Meneghetti M, Sá Filho OJ, Peres R, Lamb G, Vasconcelos JLM. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows I: Basis for development of protocols. *Theriogenology* 2009;72:179–89.
- [13] Souza ALB, Kozicki LE, Pereira JFS, Segui MS, Weiss RR, Bertol MAF. Eficiência da gonadotrofina coriônica equina (eCG) e do desmame temporário (DT) em protocolos para a inseminação artificial em tempo fixo (IATF) em vacas Nelore, previamente tratadas com progesterona (P4) e Benzoato de Estradiol (BE). *Arch Vet Sci* 2015;20:22-9.
- [14] Sá Filho OJ, Meneghetti M, Peres R, Lamb G, Vasconcelos JLM. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows II: Strategies and factors affecting fertility. *Theriogenology* 2009;72:210–18.
- [15] Allrich RD. Endocrine and neural control of estrus in dairy cows. *J Dairy Sci* 1994; 77:2738–44.
- [16] Perry GA, Smith MF, Roberts AJ, Macneil MD, Greary TW. Relationship between size of the ovulatory follicle and pregnancy success in beef heifers. *Journal Animal Science*. 2007; 85:684–689.

- [17] Thomas JM, Pooock SE, Ellersieck MR, Smith MF, and Patterson DJ. Delayed insemination of non-estrous heifers and cows when using conventional semen in timed artificial insemination. *J Anim Sci* 2014;92:4189-4197.
- [18] Richardson, B. N., S. L. Hill, J. S. Stevenson, G. D. Gemechis, and G. A. Perry. 2016. Expression of estrus before fixed-time AI affects conception rates and factors that impact expression of estrus and the repeatability of expression of estrus in sequential breeding seasons. *Anim. Reprod. Sci* 2016;166:133–140.
- [19] Ferraz PA, Loiola MVG, Rodrigues AS, Lima MCCL, Bittencourt, TCBSC, Ribeiro Filho. The effect of the intensity of estrus expression on the follicular diameter and fertility of nellore cows managed under a ftai program. *Cienc Anim Bras* 2017;18:1-9.
- [20] Sirois J, Fortune JE. Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in heifers monitored by real-time ultrasonography. *Biology of Reproduction* 1988;39:308–317.
- [21] Oliveira LSR, Souza ALB, Kozicki LE, Segui M, Pedosa VB, Dell'Aqua Junior JA et al. Potencial da deslorelina como agente indutor da ovulação em vacas primíparas *Bos taurus indicus* na inseminação artificial em tempo fixo. *Vet e Zootec* 2017;24:363-72.
- [22] Gottschall CS et al. Aspectos relacionados à sincronização do estro e ovulação em bovinos de corte. *A Hora Veterinária* 2008;164:43-48.
- [23] Perry GA & Perry BL. GnRH treatment at artificial insemination in beef cattle fails to increase plasma progesterone concentrations or pregnancy rates. *Theriogenology* 2009;71:775-79.
- [24] Ayres H, Ferreira RM, Torres-Júnior JRS, Demétrio CGB, De Lima CG, Baruselli, PS. Validation of body condition score as a predictor of subcutaneous fat in Nelore (*bos indicus*) cows. *Livestock Science* 2009;23:175-79.
- [26] White FJ, Wettemann RP, Looper ML, Prado TM, Morgan GL. Seasonal effects on estrous behavior and time of ovulation in nonlactating beef cows. *J. Anim. Sci* 2002; 80:3053–59.

- [27] Lucy MC & Stevenson JS. Gonadotropin-releasing hormone at estrus: Luteinizing hormone, estradiol, and progesterone during the periestrual and postinsemination periods in dairy cattle. *Biol. Reprod* 1986;35:300–11.
- [28] Pulley, S. L., D. H. Keisler, and J. S. Stevenson. 2015. Concentrations of luteinizing hormone and ovulatory responses in dairy cows before timed artificial insemination. *J. Dairy Sci.* 98:6188–6201.
- [29] Nogueira E, Rodrigues WB, Silva AS, Borges JC, Silva KC, Anache NA et al. GnRH application in cows with low or no estrus expression evaluated with tail-chalk increases the pregnancy rate in beef cows submitted to TAI. *Anim. Reprod.* 2016;13:457.
- [30] Ireland JJ. Control of follicular growth and development. *J. Reprod. Fertil* 1987;34: 39–54.
- [31] Hawk HW. Sperm survival and transport in the female reproductive tract. *J. Dairy Sci* 1983;66:2645-60.
- [32] Perry GA, Perry BL. Effect of preovulatory concentrations of estradiol and initiation of standing estrus on uterine pH in beef cows. *Domest. Anim. Endocrinol* 2008;34:333-38.
- [33] Yavas Y & Walton, JS. Postpartum acyclicity in suckled beef cows: A review. *Theriogenology* 2000;54:25-55.
- [34] Wiltbank MC, Gumen A, Sartori, R. Physiological classification of anovulatory conditions in cattle. *Theriogenology* 2002;57:21-52.
- [35] Baruselli OS, Reis EL, Marques MO, Nasser LF, Bó GA. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrus beef cattle in tropical climates. *Anim Reprod Sci* 2004;82-83:479-486
- [36] Hall JB, Kasimanickam RK, Glaze Jr. JB, Roberts-Lew MC. Impact of delayed insemination on pregnancy rates to gender selected semen in a fixed-time AI system. *Theriogenology* 2017;102:154-61.

- [37] 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*, 2008;60:786-793.
- [38] Colazo MG, Kastelic JP, Whittaker PR, Gavaga QA, Wilde R, Mapletoft RJ. Fertility in beef cattle given a new or previously used CIDR insert and estradiol, with or without progesterone. *Anim Reprod Sci* 2004;81:25–34.
- [39] Carvalho JBP, Carvalho NAT, Reis EL, Nichi M, Souza AH, Baruselli PS. Effect of early luteolysis in progesterone-based timed AI protocols in *Bos indicus*, *Bos indicus*_ *Bos taurus* and *Bos taurus* heifers. *Theriogenology* 2008;69:167–75.
- [40] Penteado L, Marques MO, Silva RCP, Ayres H, Souza AH, Baruselli OS. Taxa de prenhez em vacas nelore inseminadas em tempo fixo em diferentes períodos pós-parto. *Acta Scientiae Veterinariae* 2006;34:402.
- [41] Severo NC. Influência da qualidade do sêmen bovino congelado sobre a fertilidade. *A hora veterinária* 2009;167:36-39.
- [42] Watson PF. The causes of reduced fertility with cryopreserved semen. *Anim Reprod Sci* 2000;60/61:481-92.
- [43] Pommer AC & Meyers AS. Tyrosine phosphorylation is na indicator of capacitation status in fresh and cryopreserved stallion spermatozoa. *Theriogenology* 2002;58:351-54.
- [44] Schembri MA, Major DA, Suttie JJ, Maxwell WMC, Evans G. Capacitattion-like changes in equine spermatozoa throughout the cryopreservation process. *Reproduction, Fertility and Development* 2002;14:225-33.