

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

LORRANY EVELYN TAVARES

**EFEITO DA APLICAÇÃO DO GNRH NO INÍCIO DOS PROTOCOLOS DE IATF,
À BASE DE ESTRÓGENO E PROGESTERONA, SOBRE A PREENHEZ POR IATF
DE VACAS LEITEIRAS MISTIÇAS**

UBERLÂNDIA

2023

LORRANY EVELYN TAVARES

**EFEITO DA APLICAÇÃO DO GNRH NO INÍCIO DOS PROTOCOLOS DE IATF,
À BASE DE ESTRÓGENO E PROGESTERONA, SOBRE A PRENHEZ POR IATF
DE VACAS LEITEIRAS MISTIÇAS**

Monografia apresentada à coordenação do curso de graduação em Zootecnia da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito parcial à obtenção do título de Zootecnista.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Ricarda Maria dos Santos.

UBERLÂNDIA

2023

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

T231 2023	<p>Tavares, Lorrany Evelyn, 1997- EFEITO DA APLICAÇÃO DO GNRH NO INÍCIO DOS PROTOCOLOS DE IATF, À BASE DE ESTRÓGENO E PROGESTERONA, SOBRE A PREENHEZ POR IATF DE VACAS LEITEIRAS MISTIÇAS [recurso eletrônico] / Lorrany Evelyn Tavares. - 2023.</p> <p>Orientadora: Ricarda Maria dos Santos. Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Uberlândia, Graduação em Zootecnia. Modo de acesso: Internet. Inclui bibliografia.</p> <p>1. Zootecnia. I. Santos, Ricarda Maria dos ,1972-, (Orient.). II. Universidade Federal de Uberlândia. Graduação em Zootecnia. III. Título.</p> <p>CDU: 636.08</p>
--------------	---

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus e aos meus Guias, pela proteção e por terem me guiado e me dado forças durante essa caminhada.

Agradeço incondicionalmente o meu avô (em memória), por todas as oportunidades e escolhas que me foram dadas, fazendo o possível para que eu tivesse uma educação de qualidade.

A minha mãe, Silvânia, que sempre acreditou nos meus sonhos e nunca mediu esforços para que eles fossem alcançados, lutando sempre ao meu lado. Ao meu irmão, Talysson, pelo auxílio sempre que necessário e companheirismo. A minha avó, Eni, pela criação e contribuição durante toda a minha graduação.

A Universidade Federal de Uberlândia – UFU e o Departamento de Zootecnia pela estrutura e oportunidade concedida para a realização da minha formação profissional.

A professora Dra. Ricarda Maria dos Santos pela orientação, por ter sido presente durante toda a realização deste trabalho, por estar sempre disposta a ensinar, por me inspirar e ser meu exemplo de profissional.

Agradeço ao grupo PET Zootecnia, o qual o presente trabalho está vinculado. Em particular a professora tutora Dra. Elenice Maria Casartelli, pelos conselhos, auxílios prestados e suporte durante toda a tutoria.

A todos os professores, técnicos e servidores que se dispuseram a compartilhar seus conhecimentos e prontificaram a sanar as minhas dúvidas, fornecendo uma excelente base curricular.

Aos meus amigos, que por diversas vezes me proporcionaram momentos felizes e de descontração, que foram de suma importância para que a minha caminhada acadêmica fosse mais fácil. Em especial, a minha companheira de vida, Luíza, pelo amor, paciência, e por caminhar ao meu lado, sempre me apoiando.

Muito obrigada!

RESUMO

A inseminação artificial em tempo fixo (IATF) é uma das biotecnologias de reprodução mais estudadas dos últimos anos, e a busca pelo equilíbrio entre a fisiologia animal e o controle hormonal fomenta uma série de estudos. Sendo assim, o objetivo com este trabalho foi avaliar a eficiência da aplicação do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) no dia zero (D0) do protocolo de IATF, a base de estrógeno e progesterona sobre a taxa de penhez por IATF. O experimento foi desenvolvido na Universidade Federal de Uberlândia (UFU), na Fazenda Experimental do Glória, localizada no município de Uberlândia, no estado de Minas Gerais. Foram avaliadas 69 inseminações de vacas leiteiras mestiças, divididas em dois grupos com diferentes protocolos; Controle: sem aplicação de GnRH e Tratamento: aplicação de GnRH no dia zero do protocolo. Todos os animais foram inseminados com sêmen previamente analisado. O diagnóstico de gestação foi realizado 32 dias após a inseminação, com aparelho de ultrassonografia equipado com probe linear transretal de 7,5 MHz. Os dados foram analisados por análise descritiva, sendo avaliado o efeito da relação protocolo e presença de corpo lúteo no início do protocolo e efeito da relação protocolo e ordem de IA Pós-Parto sobre a taxa de concepção. A taxa de concepção após a realização do Protocolo Tratamento foi de 53% (17/32) e do Protocolo Controle foi de 43% (16/37). Portanto, conclui-se que o protocolo de sincronização de vacas leiteiras mestiças com a aplicação de GnRH no dia zero do protocolo resultou em um aumento no número da taxa de concepção de vacas leiteiras mestiças.

Palavras-chave: biotecnologia; bovinocultura; hormônio; ovulação; reprodução.

ABSTRACT

The artificial insemination at fixed time (AIFT) is one of the most studied reproduction biotechnologies in recent years, and the search for a balance between animal physiology and hormonal control fosters a series of studies. Therefore, the objective of this work was to evaluate the efficiency of gonadotrofine hormone inducer (GnRH) on day zero (D0) of the AIFT protocol, an estrogen and progesterone base on an AIFT rate. The experiment was developed at the Federal University of Uberlândia (UFU), at the Experimental Farm of Glória, located in the municipality of Uberlândia, in the state of Minas Gerais. Were evaluated 69 inseminations of crossbred dairy cows divided into two groups with different protocols; Control: without application of GnRH and Treatment: application of GnRH on day zero of the protocol. All animals were inseminated with previously analyzed semen. The diagnosis of pregnancy was performed 32 days after insemination, with an ultrasound device equipped with a 7.5 MHz transrectal linear probe. The data were analyzed by descriptive analysis, evaluating the effect of the protocol relationship and the presence of corpus luteum at the beginning of the protocol and the effect of the protocol relationship and postpartum AI order on the conception rate. The conception rate after performing of the Treatment Protocol was 53% (17/32) and the Control Protocol was 43% (16/37). Therefore, it is concluded that the synchronization protocol of crossbred dairy cows with the application of GnRH on day zero of the protocol resulted in an increase in the number of conception rates of crossbred dairy cows.

Key words: biotechnology; cattle breeding; hormone; ovulation; reproduction.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	REVISÃO DE LITERATURA	11
2.1	Ciclo Estral	11
2.2	Hormônios Envolvidos no Ciclo Estral	12
2.2.1	Hormônio Liberador de Gonadotrofinas	12
2.2.2	Hormônio Folículo Estimulante.....	12
2.2.3	Hormônio Luteinizante	13
2.2.4	Estrógeno	13
2.2.5	Inibina.....	13
2.2.6	Progesterona	13
2.2.7	Prostaglandina	14
2.3	Dinâmica Folicular	14
2.4	Controle Endócrino do Ciclo Estral e Sistema Folicular	15
2.5	Inseminação Artificial	16
2.6	Inseminação Artificial em Tempo Fixo	16
2.7	Protocolo com associação entre BE e P4	17
2.8	Protocolo com associação entre GnRH, E2 e P4	17
3	METODOLOGIA	18
3.1	Local e Animais	18
3.2	Protocolo	18
3.3	Diagnóstico de Gestação	19
3.4	Análises Estatísticas	19
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	20
5	CONCLUSÃO	22
	REFERÊNCIAS	23

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Representação Esquemática do Protocolo Controle sem aplicação de GnRH no D018
- Figura 2** - Representação Esquemática do Protocolo Tratamento com 2mL de GnRH no D0 **Erro! Indicador não definido.**

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Taxa de concepção de acordo com a interação protocolo (Controle e Tratamento) e presença de corpo lúteo no momento do início do protocolo. **Erro! Indicador não definido.**

Tabela 2 - Taxa de concepção de acordo com a interação protocolo (Controle e Tratamento) e ordem da inseminação pós parto..... **Erro! Indicador não definido.**

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BE	Benzoato de Estradiol
CL	Corpo Lúteo
D0	Dia zero
D10	Dia dez
D11	Dia onze
D7	Dia sete
D8	Dia oito
D9	Dia nove
DIV	Dispositivo Intravaginal de Liberação Lenta
E2	Estrógeno
FSH	Hormônio Folículo Estimulante
g	grama
GnRH	Hormônio Liberador de Gonadotrofinas
IA	Inseminação Artificial
IATF	Inseminação Artificial em Tempo Fixo
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
LH	Hormônio Luteinizante
mg	Miligrama
MHz	Megahertz
ml	Mililitro
ng/ml	Nanograma por mililitro
P4	Progesterona
PGF2 α	Prostaglandina F2 α
PPM	Pesquisa da Pecuária Municipal

1 INTRODUÇÃO

A cadeia produtiva do leite cresceu significativamente nas últimas décadas e é considerada atualmente uma das principais atividades econômicas do Brasil. Além da sua importância nutritiva, o leite desempenha um relevante papel social, atuando como uma atividade geradora de renda, tributos e empregos.

Em 2021, a produção de leite foi estimada em 35,3 bilhões de litros de acordo com a Pesquisa da Pecuária Municipal (PPM), divulgada pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE).

Cerca de 70% da produção do leite provêm de vacas mestiças, ou seja, animais derivados do cruzamento de uma raça pura de origem europeia, especializada na produção de leite, com uma raça pura de origem indiana, adaptada ao clima tropical. Esses animais apresentam menor desempenho produtivo quando comparadas às vacas de alta produção, porém, considerando as características dos sistemas de produção do Brasil, a produção de leite a partir de rebanhos mestiços é economicamente viável devido aos menores custos de produção (CARVALHO, 2009; RUAS et al., 2014).

Apesar de todos esses dados e do aprimoramento dos animais mestiços devido à heterose, o período de anestro prolonga-se mais do que o desejado em grande parte das propriedades, propiciando o aumento do período de serviço, prolongado intervalo entre partos e conseqüentemente baixa eficiência reprodutiva do rebanho (ATANASOV et al., 2012).

Nesse âmbito, durante os últimos anos muitas são as biotecnologias disponíveis para aumentar os índices reprodutivos, destacando-se a inseminação artificial em tempo fixo (IATF), que exclui a necessidade de detecção do estro da fêmea através de protocolos hormonais. Tais protocolos induzem e sincronizam o ciclo estral dos animais, e possibilitam que a inseminação seja realizada em um momento pré-determinado, através de drogas que agem ao nível hipotalâmico-hipofisário gonadal (BÓ et al., 2003; PONCIO, 2021).

Os protocolos mais utilizados atualmente para sincronizar a ovulação baseiam-se no uso do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) ou de ésteres de estradiol combinados com a administração de progesterona (P4) exógena por dispositivos intravaginais (DIV) de liberação lenta (D'AVILA et al., 2019).

Diante disso, o objetivo com o presente trabalho foi avaliar o efeito da aplicação do GnRH no D0 em protocolos de IATF, a base de estrógeno e progesterona sobre a taxa de prenhez por IATF de vacas leiteiras mestiças.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Ciclo estral

O ciclo estral da fêmea bovina é controlado por uma complexa interação neuroendócrina, coordenada pelo eixo hipotálamo, hipófise, ovário e útero. Dura em média 21 dias com variações fisiológicas de 17 a 24 dias, e ocorre durante todo o ano, independentemente da estação (CALLEJAS, 2001; GINTHER et al., 1996).

Este ciclo é constituído de quatro fases; proestro e estro (fase folicular), metaestro e diestro (fase lútea), marcadas por características evidentes através de modificações na genitália interna e externa, assim como no comportamento da fêmea (REECE, 2006).

O proestro é a primeira fase do ciclo estral, possui duração média de 2 a 3 dias. Um evento hormonal característico desta etapa é o aumento da frequência dos pulsos de secreção do hormônio luteinizante (LH) que levam à maturação final do folículo e ao aumento do estradiol, que irá desencadear o estro. Os sinais principais que a vaca apresenta que permite identificar essa fase são; cauda erguida, vulva edemaciada, liberação de muco, agrupamento com outros animais e monta em outras fêmeas (OLIVEIRA, 2006; SILVA, 2020).

Estro é a fase que a fêmea apresenta sinais de receptividade sexual, caracterizada pela manifestação do cio e por ser uma fase de curta duração, 11 a 18 horas. O estro é provocado pelo aumento significativo das concentrações de estradiol produzido pelo folículo pré-ovulatório. As glândulas uterinas, cervicais e vaginais secretam grande quantidade de muco de consistência viscosa, a vagina e a vulva apresentam-se edemaciadas e dilatadas e a cérvix relaxada (BARROS et al., 1995; VALLE, 1991).

O metaestro é a fase posterior ao estro, considerada como a fase mais difícil de ser identificada. Durante esta etapa ocorre a ovulação e o corpo lúteo (CL) se desenvolve a partir do processo de luteinização das células remanescentes do folículo. As concentrações de progesterona (P4) aumentam até atingirem níveis superiores a 1ng/ml, momento a partir do qual considera-se que o corpo lúteo atingiu sua competência. Após 5 dias a fase se encerra (HAFEZ; HAFEZ, 2004; SILVA, 2020).

Por fim, o diestro é a fase mais longa do ciclo estral, dura em torno de 12 dias. Nesta fase o CL está em plena funcionalidade, o que se reflete em níveis elevados de progesterona. Devido a atuação do esteroide, o endométrio fica mais espesso e com maior atividade glandular, a cérvix regride, a musculatura do genital relaxa e ocorre uma diminuição da vascularização e hipertrofia do epitélio vaginal. Após 12 dias, quando não há o reconhecimento materno fetal o

endométrio começa a secretar de forma pulsátil prostaglandina ($PGF2\alpha$) encadeando a lise do CL. Dessa forma, a fase se encerra e inicia-se um novo ciclo fisiológico (MARTIN, 2008; SILVA, 2020).

2.2 Hormônios envolvidos no ciclo estral

Os hormônios são mensageiros químicos, produzidos e secretados pelas glândulas endócrinas localizados em diferentes áreas do corpo, que regulam e controlam os processos fisiológicos do organismo animal.

A ação do hormônio no tecido alvo depende de estruturas conhecidas como receptores, no qual o hormônio deve se ligar para exercer sua função. Os receptores geralmente são moléculas glicoprotéicas presentes no citoplasma ou em membranas plasmáticas das células alvo.

O conhecimento do papel desempenhado por cada hormônio envolvido no controle do ciclo estral é de suma importância para realizar a escolha de qual, como e quando utilizar cada uma das alternativas disponíveis no mercado, afim de otimizar o manejo reprodutivo dos bovinos (FERREIRA, 2010).

2.2.1 Hormônio liberador de gonadotrofinas

O hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) é um peptídeo produzido em neurônios especializados do hipotálamo a partir de um polipeptídeo precursor do processamento enzimático e empacotado em grânulo de armazenamento que são transportados pelos axônios (FINK et al., 1988).

A liberação do GnRH ocorre de forma pulsátil pelo hipotálamo ou pode ser controlada por hormônios esteróides (estradiol e progesterona) e peptídicos (inibina), cujo alvo são sítios específicos localizados na hipófise anterior, responsáveis por estimular ou inibir a liberação das gonadotrofinas: FSH e LH, segundo Palhano (2008).

2.2.2 Hormônio folículo estimulante

O hormônio folículo estimulante (FSH) é um hormônio glicoproteico, chamado de gonadotrofina, produzido e secretado pelas células gonadotróficas na hipófise anterior. Sua

principal função é estimular o crescimento e desenvolvimento dos folículos ovarianos para produzirem estrógeno (E2) (HAFEZ; HAFEZ, 2004).

2.2.3 Hormônio luteinizante

O hormônio luteinizante (LH), assim como o FSH, é um hormônio glicoproteico, também chamado de gonadotrofina, produzido e secretado pelas células gonadotróficas na hipófise anterior. É responsável por estimular a ovulação e a luteinização, para que estas se diferenciem em células lúteas produtoras de progesterona (P4) (ROBINSON et al., 2008).

2.2.4 Estrógeno

Denominado de estradiol, o estrógeno (E2) é um hormônio esteroide, carregado via circulação sanguínea por proteínas ligadoras, distribuídas por todo o organismo. Nos bovinos sua síntese ocorre principalmente nos folículos dominantes (HAFEZ; HAFEZ, 2004).

O E2 atua nos centros controladores da onda pré-ovulatória, provocando o efeito de feedback positivo, uma vez, que na ausência da progesterona sua concentração plasmática elevada estimula a liberação de GnRH e LH, propiciando a indução da manifestação do estro e posteriormente a ovulação do folículo dominante (BURATINI, 2007).

2.2.5 Inibina

A inibina é um hormônio glicoproteico secretada pelas células da granulosa dos folículos ovarianos, possui ação inibidora sobre a secreção do FSH pela hipófise, através do feedback negativo.

2.2.6 Progesterona

A progesterona (P4) assim como o estrógeno é um esteroide, produzida e secretada principalmente pelas células luteínicas do corpo lúteo. A P4 age no útero, aumentando a secreção das glândulas do endométrio e inibindo a motilidade do miométrio, preparando o ambiente uterino para a eventual implantação e a consequente manutenção da prenhez (HAFEZ; HAFEZ, 2004).

A nível hipotálamo exerce um efeito de feedback negativo sobre a secreção de GnRH, inibindo o cio e o pico pré-ovulatório, impedindo a ovulação em casos de fase lútea ou gestação (HAFEZ; HAFEZ, 2004).

2.2.7 Prostaglandina

A prostaglandina (PGF₂α) é um ácido graxo não saturado, derivada do ácido araquidônico, a partir de diversas reações enzimáticas. É produzida e secretada de forma pulsátil pelo endométrio uterino e tem uma ação de curta duração devido a sua rápida metabolização e degradação (MOSES; BERTONE, 2002).

Sua principal função é auxiliar a contração da musculatura lisa no trato reprodutivo e gastrointestinal, ereção, ejaculação e transporte do ejaculado, parto e na ejaculação do leite (HAFEZ; HAFEZ, 2004). Além do mais, a PGF₂α é a principal luteolisina responsável por promover a luteólise (NAKAMURA; SAKAMOTO, 2001).

2.3 Dinâmica folicular

A dinâmica folicular em bovinos é um processo contínuo que envolve tanto o crescimento, quanto a regressão dos folículos, resultando em um folículo ovulatório (BORGES et al., 2004). Durante o ciclo estral, geralmente, ocorrem duas ou três ondas de crescimento folicular e cada onda é composta por três fases: recrutamento, seleção e dominância.

A fase de recrutamento, envolve o desenvolvimento de um grupo de folículos primordiais que iniciará o crescimento folicular estimulado pelo aumento das concentrações plasmáticas de FSH (BARROS et al., 1995).

Na fase de seleção ocorre uma redução no número de folículos que anteriormente foram recrutados, para que continuem o seu desenvolvimento. O principal mecanismo para este processo é a queda da concentração de FSH, que ocorre quando o folículo atinge de 4 a 5 mm (BEG; GINTHER, 2006).

Na última fase, chamada de dominância, o folículo de maior diâmetro se destaca e adquire capacidade de inibir o crescimento dos folículos remanescentes, ocasionando a atresia folicular através da produção de inibina que reduz as concentrações de FSH. A medida que o folículo cresce os receptores para o LH aumentam, tornando-se apto a ovular num momento posterior ao pico de LH (BEG; GINTHER, 2006).

Se tratando de animais mestiços o diâmetro máximo do folículo dominante chega a 12,67 mm na primeira onda e 13,33 mm na segunda onda, enquanto aqueles animais que manifestam três ondas foliculares apresentam 12,24 na primeira onda, 9,95 na segunda onda e 11,76 na terceira onda, segundo Borges (1999).

2.4 Controle endócrino do ciclo estral e sistema folicular

O ciclo estral é regulado pelos principais hormônios: GnRH, FSH, LH, estrógeno, progesterona, inibina e PGF2 α que atuam através de um sistema de feedback negativo e positivo.

O GnRH possui a sua liberação modulada pela kisspeptina, peptídeo hipotalâmico que tem sido denominado regulador central. Assim, o hormônio liberador de gonadotrofinas age sobre a hipófise anterior através do sistema porta hipotalâmico-hipofisário, estimulando a liberação das gonadotrofinas: FSH e LH, que por via circulação sanguínea chegam aos ovários, especificamente nos folículos, induzindo o seu desenvolvimento (BURATINI, 2007).

Com o desenvolvimento dos folículos ocorre a produção de estrógeno, que via circulação sanguínea chega ao hipotálamo causando um feedback positivo para a secreção de gonadotrofinas na hipófise (FORTUNE et al., 2004).

Quando a quantidade de estrógeno atinge um certo nível, ocorre a sensibilização das áreas superiores do sistema nervoso central, levando a fêmea a manifestar os sinais do cio (FURTADO et al., 2011). Nesta fase, os folículos começam a produzir inibina, que fará feedback negativo sobre a liberação de FSH na hipófise, impedindo o crescimento folicular (STABENFELDT; EDQVIST, 1996).

Em níveis basais de FSH, ocorre a diferenciação no crescimento e no desenvolvimento entre os folículos subordinados e o folículo dominante, sendo que o folículo dominante passa a apresentar receptores e ser dependente de LH e os folículos subordinados que antes estavam em crescimento, regridem, por serem dependentes de FSH (BURATINI, 2007).

Por essa razão, ocorre liberação de GnRH pelo hipotálamo, obtendo um pico de LH, que será responsável pela ovulação do folículo (BURATINI, 2007). Após a liberação do óvulo as células remanescentes do folículo sofrem um processo de luteinização, resultando na formação do corpo lúteo, que será responsável pela produção de progesterona.

Com a progesterona em níveis elevados na circulação, ocorre um feedback negativo para o hipotálamo, afim, de manter em níveis basais o GnRH, e conseqüentemente o FSH e o LH (FURTADO et al., 2011).

Quando as vacas não se apresentam gestantes, aproximadamente 17 dias após a ovulação, ocorre a síntese de $\text{PGF2}\alpha$ pelo endométrio uterino, responsável por causar a lise do CL, processo conhecido como luteólise. Com a lise do CL a concentração de P4 diminui e, portanto, deixa de fazer feedback negativo para o hipotálamo, viabilizando a liberação de GnRH, FSH e LH, retornando ao ciclo (BARUSELLI, 2000; BALL; PETERS, 2006).

2.5 Inseminação artificial

A inseminação artificial (IA) foi a primeira biotecnologia reprodutiva aplicada na multiplicação genética dos animais de fazenda e é a mais empregada em todo o mundo. No Brasil, considerando as doses importadas e coletas de sêmen, o mercado computou 35.898.394 doses em 2021. Comparando o ano anterior, de 2020, o mercado cresceu 40,4% (ASBIA, 2021).

Segundo Reichenbach et al. (2008), entende-se por IA o procedimento pelo qual o sêmen é manipulado e depositado artificialmente no aparelho reprodutor da fêmea, com o auxílio de materiais e instrumentos específicos. A técnica permite a utilização do sêmen de touros geneticamente superiores, acelerando o ganho genético e resultando em bezerros mais produtivos, além de possibilitar um melhor controle sanitário, evitando a transmissão de doenças venéreas.

Todavia, falhas no diagnóstico do estro e o atraso da puberdade tornaram-se fatores limitantes para o emprego desta biotécnica em bovinos no Brasil (BERTAN; BINELLI; MADUREIRA, 2006).

2.6 Inseminação artificial em tempo fixo

A inseminação artificial em tempo fixo (IATF) é uma biotecnologia desenvolvida com o objetivo de eliminar a necessidade de detecção do estro, facilitando a IA e contornando os problemas de eficiência reprodutiva nas propriedades rurais (BARUSELLI et al., 2018).

Em bovinos a IATF se baseia na simulação de eventos reprodutivos fisiológicos com a manipulação hormonal exógena, que promovem a sincronização da ovulação e possibilita a aplicação da IA em dias pré-determinados, de modo que a reprodução fique sob controle do produtor e/ou técnico.

Essa biotecnologia apresenta inúmeras vantagens, como reduzir o intervalo entre partos (IEP), programar a inseminação e o nascimento dos bezerros, obter padronização racial e

zootécnica dos rebanhos e diminuir custos de manutenção e reposição de touros, que por fim, irão melhorar os índices zootécnicos da eficiência reprodutiva do rebanho (CASTILHO, 2015).

2.7 Protocolo com associação entre BE e P4

A utilização de protocolos com estrógeno e progesterona vem sendo muito utilizado na bovinocultura brasileira, devido ao seu menor custo. O protocolo inicia-se com a inserção de um dispositivo contendo P4 e na administração de benzoato de estradiol (BE) no dia zero (D0). Essa associação tem como finalidade regredir os folículos existentes, devido à alta concentração de estradiol na presença de progesterona, e conseqüentemente iniciar o crescimento de uma nova onda folicular (FURTADO et al., 2011).

No dia sete (D7) é aplicado a prostaglandina (PGF 2α), com a finalidade de induzir a luteólise e reduzir o nível de P4 circulante. No dia nove (D9) faz a remoção do dispositivo de P4 e administra uma fonte de cipionato de estradiol, com a finalidade de sincronização da ovulação, induzindo o pico de LH através do feedback positivo pré-ovulatório para o GnRH. No dia onze (D11), 30-36 horas após a aplicação do estradiol, realiza-se a IA (CAMPOS; SANTOS, 2015).

2.8 Protocolo com associação entre GnRH, E2 e P4

O GnRH possui uma atuação mais rápida na ovulação quando comparado a aplicação de estrógenos, pois atua diretamente na hipófise, liberando para circulação um pico de LH, que atuará no folículo pré-ovulatório (PURSLEY et al., 1995; WOLFENSON et al., 1994).

A primeira aplicação de GnRH induz a liberação de LH, que por consequência resultará em ovulação ou regressão de um provável folículo dominante, acarretando em uma maior taxa de sincronização do crescimento da nova onda folicular e altos níveis de P4 circulante, que será responsável por regular a pulsatilidade de LH.

3 METODOLOGIA

3.1 Local e animais

O experimento foi realizado na Universidade Federal de Uberlândia (UFU), na Fazenda Experimental do Glória, localizada no município de Uberlândia, no estado de Minas Gerais, com altitude média de 865 metros, latitude sul de 18°53'23'' e longitude oeste de 48°17'19'', com temperatura média anual de 22,3°C e pluviosidade média anual de 1342 mm (CLIMATE [200-]).

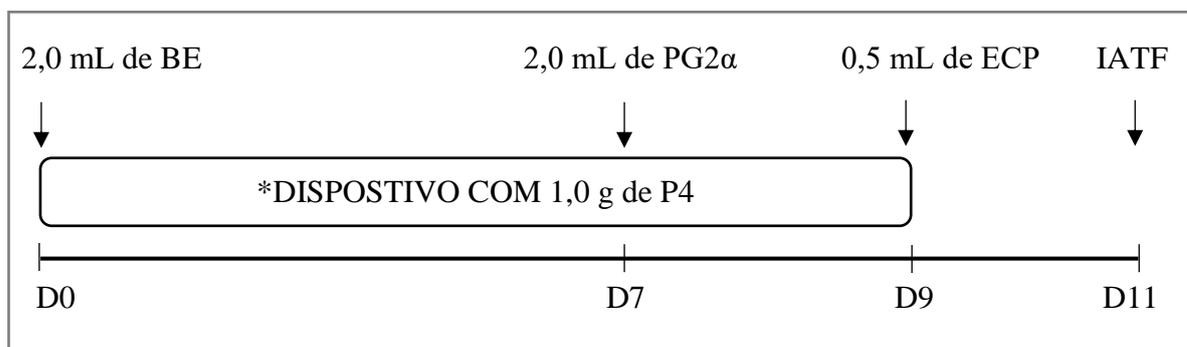
Foram realizadas 69 inseminações em vacas leiteiras de raça mestiça divididas em dois grupos: Controle e Tratamento, entre os meses de março de 2022 e janeiro de 2023.

3.2 Protocolo

No dia 0 dividiu-se as vacas aleatoriamente em dois grupos com diferentes protocolos: Controle: sem aplicação de GnRH e Tratamento: aplicação de 2,0 ml de GnRH.

As vacas foram submetidas ao seguinte protocolo: Dia (D)0: aplicou-se 2,0 mL via intramuscular (2,0 mg de benzoato de estradiol - BE) juntamente com a inserção de um dispositivo com 1,0 g de P4; D7: foi aplicado via intramuscular 2,0 mL de PGF2 α ; D9: retirou-se o implante contendo 1,0 g de P4, e aplicou 0,5 mL via intramuscular (0,5 mg de cipionato de estradiol - ECP); D11: realizou a IATF. Todos os animais foram inseminados com sêmen previamente analisado, pela manhã. Os protocolos foram realizados a cada 21 dias dentro do manejo reprodutivo da fazenda.

Figura 1 - Representação Esquemática do Protocolo Controle sem aplicação de GnRH no D0.



Fonte: Autoria própria

*Sincrogest - Cada dispositivo intravaginal de P4 (DIP4) foi utilizado por até três vezes

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A taxa de concepção após a realização do Protocolo Tratamento foi de 53% e do Protocolo Controle foi de 43%. A análise descritiva dos resultados, considerando a interação das variáveis protocolo e presença de CL no início do protocolo e protocolo e ordem de IA pós-parto, está escrita na Tabela 1 e 2, respectivamente.

A taxa de concepção para os animais com presença ou ausência de corpo lúteo no início do Protocolo Controle foi de 41,18% (7/17) para as vacas que não apresentaram CL no D0 e 45% (9/20) para as vacas que apresentaram CL D0. No Protocolo Tratamento a Taxa de Concepção foi de 46,67% (7/15) para as vacas que não apresentaram CL no D0 e 58,82% (10/17) para as vacas que apresentaram CL no D0 do protocolo (Tabela 1).

Tabela 1 - Taxa de concepção de acordo de acordo com a relação protocolo (Controle e Tratamento) e presença de corpo lúteo no momento do início do protocolo.

Protocolo	Presença de Corpo Lúteo	Taxa de Concepção % (n)
Controle	Não	41,18% (7/17)
	Sim	45,00% (9/20)
Tratamento	Não	46,67% (7/15)
	Sim	58,82% (10/17)

Fonte: Autoria própria

Com esses dados, pode-se dizer que a presença do CL observada no início do protocolo de IATF interferiu numericamente na taxa de concepção das vacas leiteiras mestiças, principalmente no Protocolo Tratamento. Estes resultados, provavelmente, foram decorrentes da maior concentração de P4 circulante durante o desenvolvimento folicular, o que é benéfico para a qualidade do ovócito.

Diferente dos resultados encontrados no presente trabalho, Barbosa et al. (2011), Martel (2008), Souza et al. (2009) e Yamada (2005), não encontraram diferença na taxa de concepção das vacas leiteiras com presença de CL no D0 do protocolo de IATF. A explicação para esse resultado encontrado pelos autores citados, possivelmente ocorreu, porque a progesterona no protocolo avaliado por eles foi suficiente para promover a produção de ovócito saudável, visto

que há correlação entre a concentração sérica de progesterona antes da inseminação artificial e a subsequente taxa de concepção, segundo Fonseca et al., (1983) e Folman et al. (1990).

No Protocolo Controle a taxa de concepção foi de 60% (9/15) para as vacas que receberam a primeira IA e 31,82% (7/22) para as vacas que receberam a segunda IA ou mais. No Protocolo Tratamento a taxa de concepção foi de 53,85% (7/13) para as vacas que receberam a primeira IA e 52,63% (10/19) para as vacas que receberam a segunda IA ou mais (Tabela 2).

Tabela 2 - Taxa de concepção de acordo com a relação protocolo (Controle e Tratamento) e ordem da inseminação pós parto.

Protocolo	Ordem IA Pós-parto	Taxa de Concepção % (n)
Controle	Primeira	60,00% (9/15)
	Segunda ou mais	31,82% (7/22)
Tratamento	Primeira	53,85% (7/13)
	Segunda ou mais	52,63% (10/19)

Fonte: Autoria própria

Neste estudo, como foi utilizado GnRH combinado com a administração de BE e P4 no início do Protocolo Tratamento, provavelmente houve melhor sincronismo do início da nova onda de crescimento folicular, beneficiando as vacas de segunda ou mais IA pós-parto, visto que numericamente a taxa de concepção após o Protocolo Tratamento não foi afetada pela ordem de IA pós-parto.

Chebel et al. (2004) e Demétrio et al. (2007) também observaram taxas de concepção menores em vacas com dias pós-parto mais avançado. Isso ocorre porque as vacas que não conceberam até 90 dias após o parto, certamente apresentaram algum tipo de problema não diagnosticado, ou subclínico.

5 CONCLUSÃO

A partir da análise dos resultados apresentados, conclui-se que a inclusão da aplicação de GnRH no dia zero do protocolo de sincronização de vacas leiteiras mestiças, baseado em progesterona e estrógeno resulta em maior taxa de concepção.

REFERÊNCIAS

- ATANASOV, A. S.; DINEVA, J. D.; YOTOV, S. A. Ultrasonic evaluation of uterine involution in Bulgarian Murrah buffalo after administration of oxytocin. **Animal Reproduction Science**, v.133, p.71-76, 2012.
- BALL, P. J. H.; PETERS, A. R. Reprodução em bovinos. São Paulo – SP, **Editora BARBOSA, C. F. et al.** Inseminação artificial em tempo fixo e diagnóstico precoce de gestação em vacas leiteiras mestiças. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, p. 79-84, 2011.
- BARBOSA, C. F. et al. Inseminação artificial em tempo fixo e diagnóstico precoce de gestação em vacas leiteiras mestiças. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 40, n. 1, pág. 79-84, 2011.
- BARROS, C. M.; FIGUEIREDO, R. A.; PINHEIRO, O. L. Estro, ovulação e dinâmica folicular em zebuínos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.19, p. 9-22, 1995.
- BARUSELLI, P. S. Controle farmacológico do ciclo estral em ruminantes. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. **Departamento de reprodução animal, Universidade de São Paulo, 2000.**
- BARUSELLI, P. S. et al. Review: Using artificial insemination v. natural service in beef herds. **Animal**, London, v. 12, p. 45-52, 2018.
- BEG, M. A.; GINTHER, O. J. Follicle selection in cattle and horses: role of intrafollicular factors. **Reproduction**, v. 132, pag. 365-377, 2006.
- BERTAN, C. M.; BINELLI, M.; MADUREIRA, E. H. Caracterização do estro de novilhas cruzadas (*Bos taurus indicus x Bos taurus taurus*) por radiotelemetria. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 43, n. 6, p. 816-823, 2006.
- BÓ, G. A.; BARUSELLI, P. S.; MARTINEZ, M. F. Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. **Animal Reproduction Science**, v.78, p.307-326, 2003.
- BO, G.; CUTAIA, P. S; BARUSELLI. Programas de inseminación artificial y transferencia de embriones a tiempo fijo. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUÇÃO APLICADA, 1., 2004, Londrina [**Trabalhos apresentados**] Cornélio Procópio: Geraembryo, 2004. p. 56-81. Disponível em: <http://www.geraembryo.com.br/artigos/programas-de-inseminacion-artificial-y-transferencia-de-embriones-tiempo-fijo>. Acesso em: 12 nov. 2022.
- BORGES, A. M. et al. 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**. Belo Horizonte, v.56, n.3, p.346-354, 2004.
- BORGES, A. M. Dinâmica folicular e superovulação em novilhas mestiças tratadas com somatotropina bovina (rBST) e efeito da temperatura na qualidade dos embriões. 1999. **Tese de Doutorado**. UFV.

BURATINI, J. J. Controle endócrino e local da foliculogênese em bovinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. Belo Horizonte, v.31, n.2, p.190-196, 2007.

CALLEJAS, S. S.; FISIOLÓGIA, D. E. L.; CICLO ESTRAL BOVINO. *In*: Palma GA. *Biotechnología de la reproducción*. Mar del Plata: **Reprobiotec**, 2001. p.37-49.

CAMPOS, C. C.; SANTOS, R. M. Taxa de concepção e detecção do estro de retorno após a IATF em vacas Holandesas. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 36, n. 3, suplemento 1, p. 1945-1954, 2015. Disponível em: <https://www.redalyc.org/pdf/4457/445744149013.pdf>. Acesso em: 08 fev. 2022

CARVALHO, B. C. Parâmetros reprodutivos, metabólitos e produção de leite de vacas mestiças Holandês x Zebu submetidas a dois manejos pré-parto. **Tese** (Doutorado em Medicina Veterinária) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2009.

CASTILHO, E. F. IATF como ferramenta no melhoramento genético de bovinos de leite. *In*: CASTILHO, E. F. (org.). **Inseminação artificial em tempo fixo (IATF) em bovinos leiteiros**. 1. ed. Maringá: IEPEC, 2015. p. 148-191.

CHEBEL, R. C. *et al.* Factors affecting conception rate after artificial insemination and pregnancy loss in lactating dairy cows. **Animal Reproduction Science**, v.84, p.239-255, 2004.

CLIMATE DATA ORG. **Clima Uberlândia**. Disponível em: <https://pt.climate-data.org/america-do-sul/brasil/minas-gerais/uberlandia-2896/>. Acesso em: 08 fev. de 2022.

Curso de Transferência de Embriões, Uberlândia: **ASBIA**, 2021. Disponível em: <http://www.asbia.org.br/wp-content/uploads/2022/02/Index-Asbia-2021-M%C3%ADdia-3.pdf>. Acesso em: 08 fev. 2022.

D'AVILA, C. A. *et al.* Hormônio utilizados na indução da ovulação em bovinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. Belo Horizonte, v. 43, n. 4, p. 797-802, out./dez.2019. Disponível em: <http://www.cbra.org.br/portal/downloads/publicacoes/rbra/v43/n4/P797-802%20-%20RB821%20-%20Camila%20Amaral%20D%20Avila.pdf>. Acesso em: 25 de jan. 2022.

DEMÉTRIO, D.G.B. *et al.* Factors affecting conception rates following artificial insemination or embryo transfer in lactating Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v.90, p.5073-5082, 2007.

DUARTE JUNIOR, M. F. *et al.* Aspectos relacionados a fisiologia do anestro pós parto em bovinos. **Colloquium Agrariae**, Cuiabá, v.9, p.43-71, 2013.

DUKES, H. H.; SWENSON, M. J.; REECE, W. **Dukes fisiologia dos animais domésticos**. 12. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.

FERREIRA, A. M. **Reprodução da fêmea bovina**: fisiologia aplicada e problemas mais comuns (causas e tratamentos). Juiz de Fora: Edição do Autor, 2010.

FINK, G. Gonadotropin secretion and its control. *In*: KNOBIL, E.; NEILL, J. (ed.), **The physiology of reproduction**. New York: Raven Press, 1988. p. 1349-1377.

FOLMAN, Y. *et al.* Comparison of methods for the synchronization of estrous cycles in dairy cows. 2. Effects of progesterone and parity on conception. **Journal of Dairy Science**, v.73, p.2817-2825, 1990.

FONSECA, F. A. *et al.* Reproductive traits of Holsteins and Jerseys. Effects of age, milk yield, and clinical abnormalities on involution of cervix and uterus, ovulation, estrous cycles, detection of estrus, conception rate, and days open. **Journal of Dairy Science**, v.66, p.1128-1147, 1983.

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

FURTADO, D. A. *et al.* Inseminação Artificial em Tempo Fixo em Bovinos de Corte. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, n. 16, pag. 25, 2011.

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

GONZÁLEZ, F. H. D. Introdução à endocrinologia reprodutiva veterinária. Porto Alegre: UFRGS, 2002. 87p. Disponível em: https://www.ufrgs.br/lacvet/site/wp-content/uploads/2017/05/endocrino_rep_vet.pdf. Acesso em: 12 dez. 2022.

HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. Ciclos Reprodutivos. *In*: HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. **Reprodução Animal**, 7. ed. Barueri, SP: Ed. Manole, 2004. cap. 4, p. 55-67.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Produção de Leite. **IBGE**, 2021.

LOPES, P. F. R.; RICARDO, P. Y.; LUIZ, C. T. Custos e escala de produção na pecuária leiteira: estudo nos principais estados produtores do Brasil. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, 2007. v. 45, n. 3. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0103-20032007000300002>>. Acesso em: 08 fev. 2022.

MADUREIRA, E. H. *et al.* Sincronização com prostágenos. *In*: **I Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada**. Londrina, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade de São Paulo, p. 117-128, 2004.

MARTEL, C. A. Fertility after timed AI insemination in response to a controlled internal drug release (CIDR) insert in lactating dairy cows. 2008. 48f. **Thesis (MS Science) Kansas State University**, Manhattan, Kansas, USA.

MARTIN, I. *et al.* Características ultrassonográficas do útero de vacas Nelore (*Bos taurus indicus*) ao longo do ciclo estral. **Veterinária e Zootecnia**, Botucatu, v.15, n.2, ago., p. 349-359, 2008.

- MIRANDA, J. E.C.; FREITAS, A. F. Raças e tipos de cruzamentos para produção de leite. Juíz de Fora: **Embrapa Gado de Leite**, 2009. Circular Técnica, 98. 12p.
- MOREIRA, R. J. C., Uso do protocolo Crestar® em tratamentos utilizando benzoato de estradiol, PGF2 α , PMSG e GnRH para controle do ciclo estral e ovulação em vacas de corte. 2002, 62f. **Dissertação de Mestrado**, Piracicaba, 2003.
- MOSES, V. S.; BERTONE, A. L. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs. **Veterinary Clinics of North America**, v.18, p.21-37, 2002.
- NAKAMURA, T.; SAKAMOTO, K. Reactive oxygen species up-regulates cyclooxygenase-2, p53, and Bax mRNA expression in bovine luteal cells. **Biochemical and Biophysical Research Communications**. v.284 p.203-210. 2001.
- NASSER, L. F. T. Resposta superovulatória na primeira onda de crescimento folicular em doadoras Nelore (*Bos taurus indicus*). 2006, 80f. Tese (Doutorado) - **USP. FMVZ. Departamento de reprodução animal**, São Paulo.
- OLIVEIRA, M. Fisiologia da reprodução bovina e métodos de controle do ciclo estral. 2006. 28 f. **Tese** (Especialização em Reprodução e Produção de Bovinos) -UNIVERSIDADE CASTELO BRANCO, Rio de Janeiro, 2006.
- PALHANO, H. B. **Reprodução em Bovinos**, LF livros de veterinária, 2 edição, 2008, 249p.
- PONCIO, V. A. P. EFICIÊNCIA DE DOIS PROTOCOLOS DE IATF UTILIZANDO BENZOATO DE ESTRADIOL OU GnRH. **Nova Odessa**. 2021. Disponível em: <<http://www.iz.sp.gov.br/pdfs/1332340766.pdf>> Acesso em: 25 de jan. 2022.
- PURSLEY, J. R.; MEE, M. O.; WILTBANK, M. C. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF2 α and GnRH. **Theriogenology**, v.44, p.915-923, 1995.
- REICHENBACH, H. D.; MORAES, J. C. F.; NEVES, J. P. 2008. Tecnologia do sêmen e inseminação artificial em bovinos. *In*: Gonçalves P. B. D.; Figueiredo J. R. e Freitas V. J. F. **Biotécnicas aplicadas à reprodução animal**. 2ª ed. São Paulo: Ed. Roca. 395 p.
- ROBINSON, R. S. *et al.* Corpus luteum-endometriumembryo interactions in the dairy cow: underlying mechanisms and clinical relevance. **Reproduction in Domestic Animals**, v.43, p.104-12, 2008. **Roca**, 3ª Edição, 232 p., 2006.
- RUAS, J. R. M. *et al.* Vacas F1 Holandês x Zebu: uma opção para sistema de produção de leite em condições tropicais. **Inf. Agropec.**, v.35, p.113-120, 2014.
- SARTORI, R. Manejo reprodutivo da fêmea leiteira. **Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.31, n.2, p.153-159, abr./jun. 2007. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/180602/1/SP19470ID29323.pdf> Acesso em: 08 fev. 2022.
- SILVA, A. T. N. *et al.* Efeito de diferentes estratégias de manejo na distribuição da prenhez em vacas de corte mestiças paridas. *In*: XVI Congresso Brasileiro de Reprodução Animal. (Goiânia, Brasil). Resumo 158, 2007.

SILVA, A.S. *et al.* Avaliação do custo benefício da inseminação artificial convencional e em tempo fixo de fêmeas bovinas pluríparas de corte. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.31, n.4, p.443-445, 2007.

SILVA, E. I. C. Fisiologia clínica do ciclo estral de vacas leiteiras: desenvolvimento folicular, corpo lúteo e etapas do estro. Belo Jardim: IFPE, 2020.

SOUZA, A. H. *et al.* Efeitos da gonadotrofina coriônica equina e do tipo de estímulo ovulatório em um protocolo de IA cronometrada sobre as respostas reprodutivas em vacas leiteiras. **Theriogenologia**, Stoneham, v. 72, n. 1, pág. 10-21, 2009.

STABENFELDT, G. H.; EDQVIST, L. E. Processos Reprodutivos da Fêmea. *In:* SWENSON, M. J.; REECE, W., **Dukes Fisiologia dos Animais Domésticos**, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. cap. 36, p. 615-644.

VALLE, E. R. O ciclo estral de bovinos e métodos de controle. Campo Grande: **EMBRAPA** – CNPGC, 1991. 24p. (EMBRAPA-CNPGC. Documentos, 48).

VISHWANATH, R. Artificial insemination: the state of the art. *Theriogenology*, v.59, p.571-584, 2003.

WOLFENSON, D. *et al.* The effect of a GnRH analogue on the dynamics of follicular development and synchronization of estrus in lactating cyclic dairy cows. **Theriogenology**, v.42, p.633- 644, 1994.

YAMADA, K. Desenvolvimento da sincronização da ovulação e inseminação artificial em tempo fixo em vacas leiteiras. **Jornal de Reprodução e Desenvolvimento**, Nagoya, v. 51, n. 2, pág. 177-186, 2005.