

FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE RONDÔNIA
CAMPUS ROLIM DE MOURA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA

JAMES DUARTE

**EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO DE eCG 2 OU 4 DIAS ANTES DA INSEMINAÇÃO
ARTIFICIAL EM VACAS NELORE (*Bos indicus*)**

ROLIM DE MOURA – RO
2018

**FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE RONDÔNIA
CAMPUS ROLIM DE MOURA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA**

JAMES DUARTE

**EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO DE ECG 2 OU 4 DIAS ANTES DA
INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM VACAS NELORE (*Bos indicus*)**

Trabalho de Conclusão de Curso,
apresentado como exigência em graduação no
curso de Bacharel em Medicina Veterinária na
Fundação Universidade Federal de Rondônia.

Orientadora: Profa. Dra. Evelyn Rabelo
Andrade.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

Fundação Universidade Federal de Rondônia

Gerada automaticamente mediante informações fornecidas pelo(a) autor(a)

D812 Duarte, James.

Efeitos da administração da eCG 2 ou 4 dias antes da inseminação artificial em vacas Nelore (*Bos indicus*) / James Duarte. -- Rolim de Moura, RO, 2018.

35 f. : il.

Orientador(a): Prof. PhD Evelyn Rabelo Andrade

Coorientador(a): Prof. PhD Guilherme Horta de Lima Marquezini.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina Veterinária) -
Fundação Universidade Federal de Rondônia

1.Bovinos. 2.IATF. 3.eCG. 4.Reprodução. I. Andrade, Evelyn Rabelo. II.
Título.

CDU 636.082.453.4

Bibliotecário(a) Nágila N. Chaves

CRB CRB 6/363

JAMES DUARTE

**EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO DE eCG 2 OU 4 DIAS ANTES DA INSEMINAÇÃO
ARTIFICIAL EM VACAS NELORE (*Bos indicus*)**

Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado como exigência em graduação no curso de Bacharel em Medicina Veterinária na Fundação Universidade Federal de Rondônia.

Rolim de Moura, 26 de JUNHO de 2018

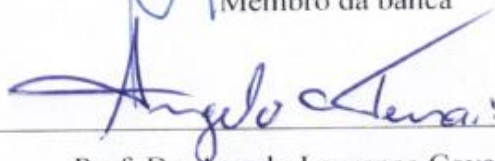
BANCA EXAMINADORA



Prof^a. Dra. Evelyn Rabelo Andrade
Orientadora e Presidente da banca



Prof. Me. Naychê Tortato Vieira
Membro da banca



Prof. Dr. Angelo Laurence Covatti Terra
Membro da banca

AGRADECIMENTOS

A Profa. Dra. Evelyn Rabelo Andrade, prestando todo tipo de auxílio em todas as etapas da escrita deste trabalho como orientadora;

A minha família, pela confiança e motivação;

Aos amigos e colegas, pela força e parceria em toda esta jornada;

Aos professores e colegas do Curso de Medicina Veterinária, pois juntos trilhamos uma etapa importante de nossas vidas;

Ao Dr. Guilherme Marquezine, por auxiliar na elaboração e condução deste experimento;

A empresa Norte Genética Ltd. pelo apoio e oportunidade desde o início do curso;

Ao amigo Amerson Eler (John) pelo auxílio na configuração visual deste trabalho;

A todos que, com boa intenção, colaboraram para a realização e finalização deste trabalho;

Ao professor Dr. Igor Mansur, coordenador de TCC que sempre me incentivou a estudar mais para dar maior qualidade à este trabalho;

A estes, meus sinceros agradecimentos.

“Insanidade é fazer sempre a mesma coisa, e
esperar por resultados diferentes.”

Albert Einstein

RESUMO

A produção de bezerros é o setor inicial da pecuária de corte, e seu sucesso tem reflexos a médio e longo prazo em toda a cadeia da produção de carne mundial. Vários são os obstáculos desta atividade, como alto desafio nutricional das vacas em reprodução, tempo prolongado de anestro pós parto, e dificuldade na seleção genética de características interessantes para a reprodução. Para mitigar estes problemas, uma das principais estratégias é o uso da IATF, que permite, através da administração de hormônios com protocolos variáveis, sincronizar o ciclo estral de todo um lote de indivíduos, permitindo a inseminação de todos os animais em um único momento, garantindo maior controle, e produtividade do rebanho. Neste trabalho, foi testada a antecipação da aplicação de eCG de 2 para 4 dias antes da IA em um protocolo de IATF de 9 dias de progesterona em vacas Nelore. No primeiro dia do protocolo (D0) as vacas (n=137) receberam um implante contendo 1,9 g de progesterona (CIDR), e 2,0 mg de benzoato de estradiol, no sétimo dia (D7) foram aplicados 12,5 mg de prostaglandina (PGF2 α), o CIDR foi retirado no nono dia (D9), síncrono a administração de 0,3 mg de cipionato de estradiol; a inseminação ocorreu no décimo primeiro dia (D11). Os animais foram aleatoriamente destinados a receber 300 UI de eCG no D7 (grupo: eCGD7; n=64) ou D9 (grupo: eCGD9; n=73). O diâmetro folicular foi mensurado no D7, D9, e D11, através de ultrassonografia ovariana transretal (Mindray®, transdutor linear, 7,5 MHz). O crescimento folicular dos dias 7 para 9, 7 para 11, e 9 para 11 foi analisado pelo método ANOVA (Analysis of Variance) usando o GLIMMIX através do SAS. O grupo eCGD7 teve crescimento folicular geral maior (P = 0,08) do que o grupo eCGD9 (4,9 \pm 0,2 vs. 4,4 \pm 0,2 mm). O crescimento folicular do D7 para o D9 foi de 2,6 \pm 0,2 mm para o grupo eCGD7, e de 2,0 \pm 0,2 mm para o grupo eCGD9, apresentando diferença estatística (P < 0,01), a mesma diferença não foi observada (P = 44) no crescimento do D9 para o D11, os grupos eCGD7 e eCGD9 apresentaram 2,3 \pm 0,2 e 2,4 \pm 0,1 mm de crescimento folicular respectivamente. Diâmetro folicular no D9 foi maior (P < 0,01) no grupo eCGD7 (12,5 \pm 0,2 mm) do que no grupo eCGD9 (9,8 \pm 0,2 mm). O diâmetro folicular foi clinicamente diferente (P = 0,08) no D11 (eCGD7 = 14,7 \pm 0,3 mm e eCGD9 = 14,0 \pm 0,2 mm). A antecipação da aplicação de 300 UI de eCG de 2 para 4 dias antes da inseminação, melhorou o crescimento folicular e aumentou a média geral do diâmetro do folículo ovulatório no momento da inseminação em vacas Nelore submetidas ao protocolo de IATF.

Palavras-chave: bovino, reprodução, IATF, eCG

ABSTRACT

The production of calves is the initial segment of beef cattle, and its success has medium and long-term repercussions throughout the meat production around the world. There are many obstacles on the activity, such as the nutritional challenge to the cows, the prolonged post-partum anestrous, and the difficulties in the genetic selection of characteristics interesting for reproduction. Among the strategies to mitigate that, the TAI is one of the most used, allowing, through a hormonal protocol, to synchronize the ovulation of several animals, thereby, inseminating the whole group at the same time, enhancing the control and productivity of the herd. In this experiment, we tested the anticipation of the eCG administration from 2 to 4 prior to TAI 9-day progesterone protocol in Nellore cows. On the first day of the protocol (D0) the cows (n = 137) received an implant containing 1.9 g of progesterone (CIDR), and 2.0 mg of estradiol benzoate; at day 7 (D7), 12.5 of prostaglandin (PGF2 α) were administrated, CIDR was withdrawn on the ninth day (D9), with a 0.3 mg estradiol cypionate application; insemination occurred on the eleventh day of the protocol (D11). Animals were randomly assigned to receive 300 UI of eCG at D7 (group: eCGD7; n = 64) or D9 (group: eCGD9; n = 73). Follicular diameter for at D7, D9, and D11 were measured by transretal ovarian ultrasonography (7.5 MHz linear transducer, Mindray®). Follicular growth from days 7 to 9, 7 to 11, and 9 to 11 was analyzed by the ANOVA (Analysis of Variance) method using GLIMMIX through SAS. The eCGD7 group had greater overall follicular growth (P = 0.08) than the eCGD9 group (4.9 \pm 0.2 vs. 4.4 \pm 0.2 mm). The follicular growth from D7 to D9 was 2.6 \pm 0.2 mm for the eCGD7 group, and 2.0 \pm 0.2 mm for the eCGD9 group, being the eCGD7 group significantly superior (P < 0.01), however, no difference (P = 0.44) was observed between treatments from D9 to D11, the eCGD7 and eCGD9 groups had 2.3 \pm 0.2 and 2.4 \pm 0.1 mm of follicular growth respectively. The follicular diameter at D9 was greater (P < 0.01) in the eCGD7 group (12.5 \pm 0.2 mm) than in the eCGD9 group (9.8 \pm 0.2 mm). The follicular diameter were clinically different (P = 0.08) at D11 (eCGD7 = 14.7 \pm 0.3 mm and eCGD9 = 14.0 \pm 0.2 mm). The anticipation of 300 IU of eCG administration from 2 to 4 days prior insemination improved follicular growth and increased the mean ovulatory diameter at the time of insemination in Nellore cows submitted to the TAI protocol.

Keywords: bovine, reproduction, TAI, eCG

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	8
2. OBJETIVOS.....	9
2.1 Objetivo geral:	9
2.2 Objetivos específicos:	9
3. REVISÃO DE LITERATURA	10
3.2 Fisiologia reprodutiva da fêmea bovina.....	10
3.3 Inseminação artificial em tempo fixo (IATF).....	12
3.4 Hormônios utilizados na IATF	15
3.4.1 Progestágenos.....	15
3.4.2 Estrógenos	16
3.4.3 Prostaglandina	16
3.4.4 Gonadotrofina coriônica equina (eCG).....	17
3.5 Fisiologia do pós-parto	18
3.6 Efeitos da eCG na dinâmica folicular	20
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	23
4.1 Animais.....	23
4.2 Experimento.....	23
5. RESULTADOS	24
6. DISCUSSÃO	26
7. CONCLUSÃO.....	28
REFERÊNCIAS	29

1. INTRODUÇÃO

A inseminação artificial (IA) é uma técnica consagrada e viável para acelerar o avanço genético e aumentar o retorno econômico da bovinocultura. Entretanto, o sucesso da técnica depende de grande eficiência na detecção do estro das matrizes e esse problema é especialmente importante em propriedades com grande número de animais. Para evitar esses problemas em rebanhos de cria, foram desenvolvidos protocolos que permitem sincronizar o estro de todos os animais em um dia programado, possibilitando a inseminação síncrona do lote. Estes tratamentos são conhecidos como protocolos de sincronização de estro/ovulação para inseminação artificial em tempo fixo (IATF).

Os protocolos de IATF possuem a finalidade de intervir no ciclo estral dos animais, sincronizando assim a onda folicular de todos os indivíduos em um mesmo lote. Existem dois tipos de protocolos, os baseados em Hormônio Liberador de Gonadotrofinas (GnRH), e os baseados em Estrógenos (E2), que são amplamente utilizados em rebanhos zebuínos brasileiros. Seu mecanismo baseia-se na atresia folicular causada pela administração de benzoato de estradiol (BE) ou GnRH associada a administração de P4 no primeiro dia do protocolo, e na subsequente emergência de uma nova onda de crescimento folicular simultânea em todas as fêmeas, visando a ovulação de todos os animais no mesmo dia (BARUSELLI *et al.*, 2016).

A gonadotrofina coriônica equina (eCG) é um hormônio produzido nos cálices endometriais da égua. Na vaca a eCG se liga a receptores foliculares provocando crescimento folicular e ovulação, por este, sendo amplamente utilizado em protocolos de IATF (BARUSELLI *et al.*, 2008).

Uma das principais problemáticas destes tratamentos é que animais submetidos a IATF comumente apresentam folículos ovulatórios relativamente pequenos, resultando em baixa produção de progesterona (P4), menor estímulo para manutenção da gestação e por consequência, baixa taxa de prenhez ao final da estação de monta (PERRY *et al.*, 2003).

O objetivo deste trabalho foi testar a administração da eCG em um momentos distintos do protocolo de IATF, quatro dias antes do momento da inseminação artificial (IA), ao contrário de dois dias antes do momento da IA como feito em protocolos tradicionais.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral:

Comparar o diâmetro do folículo ovariano de fêmeas multíparas *Bos indicus* em resposta a administração da gonadotrofina coriônica equina no nono (D9) ou sétimo dia (D7) do protocolo longo de IATF.

2.2 Objetivos específicos:

- Mensurar o a taxa de crescimento folicular em vacas submetidas a IATF após a aplicação da gonadotrofina coriônica equina (eCG);
- Verificar se há diferença nas taxas de crescimento folicular entre vacas que receberam a aplicação de eCG no sétimo e no nono dia do protocolo de IATF;
- Avaliar o diâmetro do folículo dominante no dia da inseminação em vacas tratadas com eCG 4 ou 2 dias antes da IA em protocolo longo de IATF.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Aspectos gerais da pecuária no Brasil

O Brasil possui o segundo maior rebanho bovino comercial do mundo com cerca de 215,2 milhões de cabeças, composto em sua maior parte por raças zebuínas que possuem melhor adaptação ao ambiente tropical. Com um sistema de produção basicamente a pasto, a atividade pecuária predominante é a de gado de corte (IBGE, 2016).

Devido ao crescimento da população e do padrão de consumo que aumenta conforme a renda do consumidor, a pecuária cresce mais rápido do que outros setores da agricultura. Portanto, transformações no sistema de produção ocorrem com o intuito de elevar a eficiência econômica e produtiva deste setor (MILAZZOTTO *et al.*, 2008).

O aumento na demanda pressiona o país no sentido de melhoramento do rebanho e de técnicas que venham impactar na sua produtividade, e tornar a atividade mais eficiente e competitiva. Para isso, é necessário um rebanho melhorado geneticamente, com manejo eficiente de todas as categorias, capacitação de mão-de-obra, utilizando o gerenciamento de informações, forragens, estação de montas, calendário de vacinações, descarte dos animais inférteis, e realização do exame andrológico dos touros. Tudo isso nos leva a uma pecuária cada vez mais eficiente, aumentando-se a eficiência dos fatores terra, capital, e mão-de-obra, tornando-se, assim, uma atividade empresarial (SABELLA, 2008).

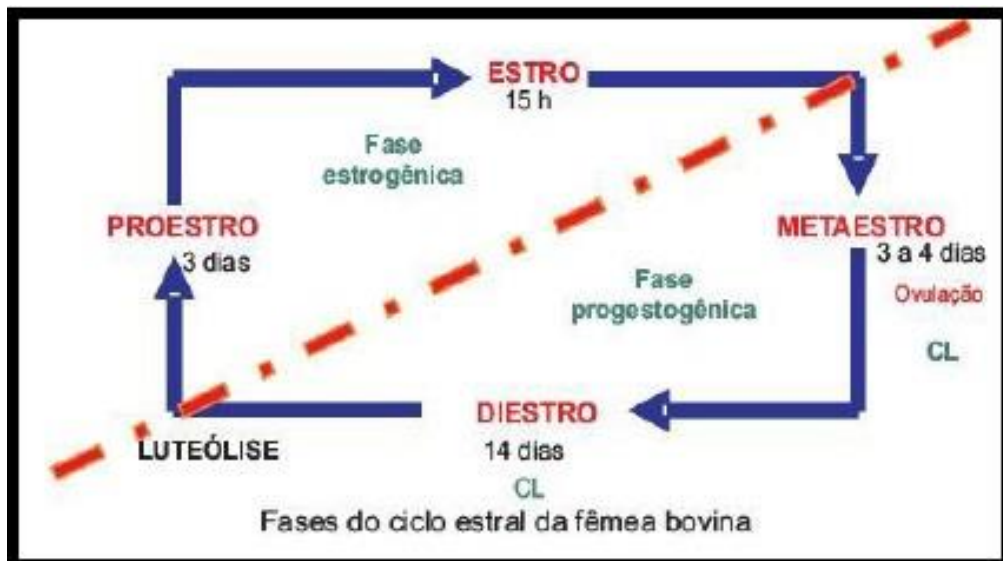
3.2 Fisiologia reprodutiva da fêmea bovina

As fêmeas bovinas são poliéstricas anuais, apresentando estros em intervalos regulares de 21 dias. Durante o ciclo estral ocorre uma cadeia de eventos que se repetem até o impedimento da luteólise pela gestação. O dia 0 é designado como o dia da ocorrência do estro, sendo que a ovulação ocorre no dia 1. O ciclo estral é dividido em quatro fases, sendo o pró-estro com duração de aproximadamente 3 dias, estro de 6 a 18 horas, metaestro de 2 dias e diestro de 15 dias. No decorrer de todas as fases do ciclo estral, ocorre o crescimento folicular em ondas, caracterizando a dinâmica folicular (JAUME; MORAES, 2002).

O ciclo estral também pode ser dividido em fase luteínica, que vai da ovulação até a luteólise, por volta do dia 17, e a fase folicular, que compreende o período que vai da luteólise até a formação de um novo corpo lúteo (HAFEZ, 2003).

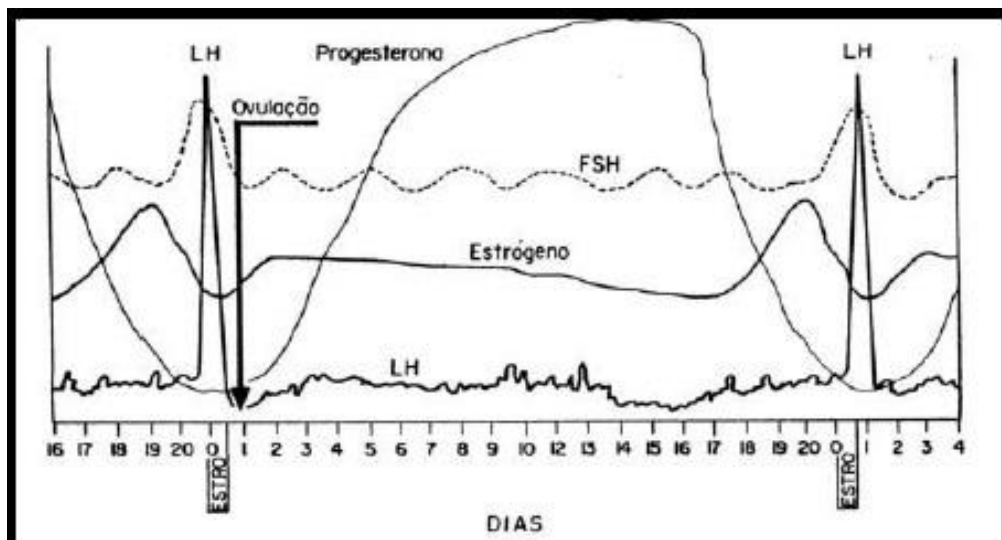
Segundo Prestes *et al.* (2017), a fase folicular tem início após a luteólise, promovida pela ação da prostaglandina F_{2α} (PGF_{2α}), com conseqüente queda nos níveis sanguíneos de progesterona (P₄), entre 12 e 36 horas após o início da regressão do corpo lúteo (CL).

Figura 1. Esquema da sequência de fases do ciclo estral da fêmea bovina, iniciando no proestro e terminando no diestro (FURTADO *et al.*, 2011).



As quantidades crescentes de estradiol secretadas pelos folículos ovarianos induzem o estro e através de retroalimentação positiva no eixo hipotalâmico-hipofisário, há um pico na concentração do hormônio luteinizante (LH), com consequente ovulação e posterior formação do corpo lúteo. A presença do corpo lúteo caracteriza a fase luteínica do ciclo estral. Nesta fase, o corpo lúteo produz progesterona em quantidades crescentes, do quarto ao décimo dia do ciclo estral, se mantendo estável até que ocorra a luteólise, entre o décimo quinto e o vigésimo dia (HAFEZ, 2003).

Figura 1. Representação esquemática das variações na concentração dos principais hormônios que regulam o ciclo estral em bovinos (FURTADO *et al.*, 2011).



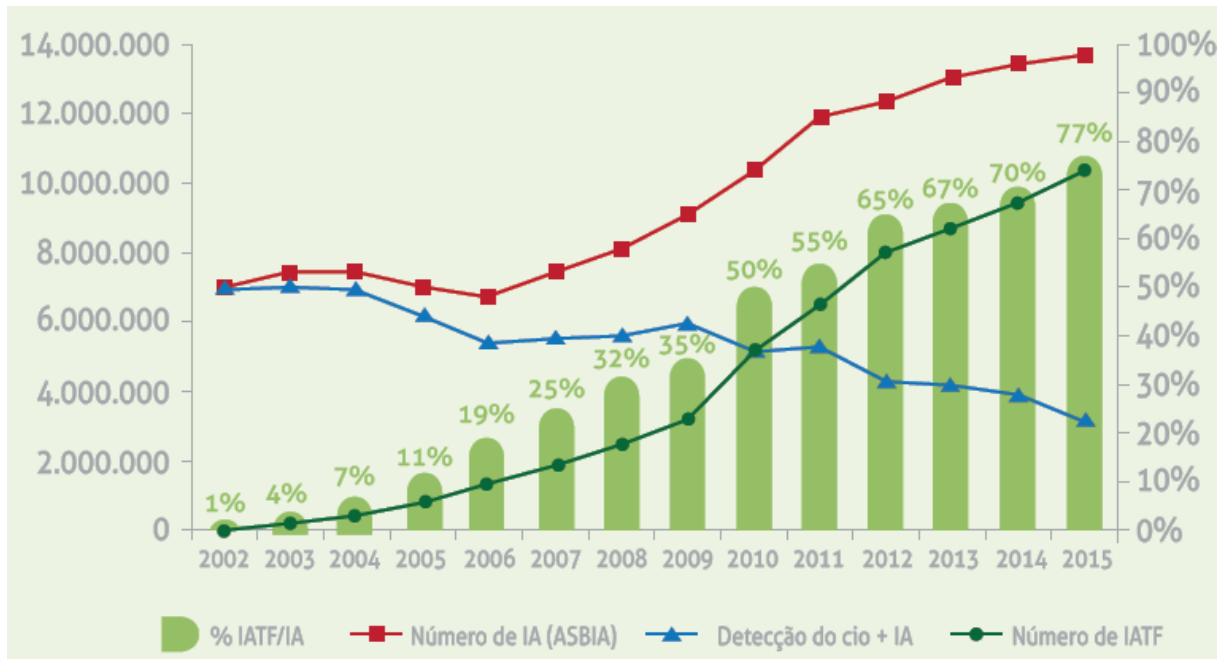
O estro é um complexo de sinais fisiológicos e comportamentais que nos bovinos ocorre momentos antes da ovulação. Estes sinais são induzidos pela elevação da concentração de estradiol na circulação, proveniente do folículo pré-ovulatório. A ação do estradiol é potencializada pela pré-exposição à progesterona, fato esse, que é lógico e não traz maiores consequências quando em um ciclo estral normal, mas que tem implicações quando na indução de estro, notadamente durante períodos de anestro (JAUME; MORAES, 2002).

No período de 21 dias, os eventos ovarianos são dinâmicos e caracterizados pela ocorrência de 2 ou 3 ondas foliculares, em que um grupo de folículos antrais, estimulados pelo hormônio folículo estimulante (FSH), crescem em média 3 dias (emergência folicular), até que o futuro folículo dominante emerge e os demais entrem em atresia (divergência folicular) (GONÇALVES, 2002).

3.3 Inseminação artificial em tempo fixo (IATF)

A inseminação artificial (IA) é a biotécnica mais utilizada em todo o mundo para disseminar material genético superior nos rebanhos bovinos. Apesar de no Brasil essa biotecnologia ainda ser pouco empregada (13,7 milhões de doses de sêmen comercializadas, frente a 80,6 milhões de fêmeas em idade reprodutiva), o percentual de matrizes bovinas inseminadas aumentou consideravelmente de cerca de 5% em 2002 para aproximadamente 10% no ano de 2012 (BARUSELLI *et al.*, 2012), chegando a 12% em 2016, estimando-se que 91% destas foi pelo uso da IATF (BARUSELLI, 2016). Com a intensificação do uso da IA, o país vem acelerando o avanço do melhoramento genético do rebanho pelo incremento do número de bezerros nascidos de touros geneticamente superiores. Assim, o uso de biotecnologias da reprodução, tais como a IA, possibilita incremento da quantidade e da qualidade de bezerros nascidos no mesmo rebanho, proporcionando significativo aumento da produtividade e da rentabilidade da atividade agropecuária (BARUSELLI, 2016).

Figura 3. Mercado da inseminação artificial no Brasil (BARUSELLI, 2016).



Um dos principais inibidores da expansão no uso da IA em rebanhos de corte é a dificuldade na observação do cio que se faz necessária para o sucesso da técnica, principalmente porque as vacas zebuínas de maneira geral têm um estro de curta duração (11 horas) e também pelo fato da alta incidência de estro durante a noite (PINHEIRO *et al.* (1998).

Com o intuito de sanar este problema foi desenvolvida a Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF) que elimina a necessidade de observação de cio, merecendo destaque pela facilidade de manejo e por aumentar a eficiência reprodutiva e o ganho genético dos rebanhos. A IATF alcançou a marca de aproximadamente 10,5 milhões de procedimentos em 2015, que representa crescimento de 11,2% em relação ao ano anterior, segundo levantamento realizado com base no número de protocolos comercializados para IATF o número de doses de sêmen comercializadas (ASBIA, 2017).

Atualmente, a IATF corresponde a 77% das inseminações realizadas no Brasil, comprovando que a técnica ocupa cada vez mais espaço no mercado de IA. O forte avanço verificado nos últimos anos é indicativo de que a tecnologia se consolidou no mercado por apresentar resultados positivos para pecuária e pela presença de profissionais qualificados para sua execução (ASBIA, 2017). O restante das fêmeas foi inseminado de forma convencional, por meio da detecção do estro. A utilização mais extensiva da IATF em rebanhos corte se justifica pela dificuldade de manejo diário para detecção de cio e pelo maior percentual de matrizes em anestro (BARUSELLI *et al.*, 2004; SÁ FILHO *et al.*, 2013). Em contrapartida, as

matrizes de leite são manejadas diariamente e apresentam nutrição diferenciada, o que aumenta a velocidade de reestabelecimento da ciclicidade pós-parto e a eficiência de detecção do cio para inseminação convencional. Entretanto, mesmo em rebanhos leiteiros, estudos evidenciaram aumento da eficiência reprodutiva e produtiva com a utilização da IATF como procedimento de manejo em comparação à inseminação convencional após detecção de cio (TEIXEIRA *et al.*, 2010).

Do total de vacas inseminadas com utilização dos protocolos de IATF em 2015 (10,5 milhões de protocolos comercializados), calcula-se que foram inseminadas em tempo fixo 8,2 milhões de fêmeas de corte e 2,3 milhões de fêmeas de aptidão leiteira. Esse total representa o uso de IATF em 91% das matrizes de corte e 50% das matrizes de leite inseminadas no Brasil (BARUSELLI, 2016).

Há basicamente dois tipos de protocolos de IATF comumente utilizados: protocolos a base de hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH), que podem ou não ser associados a um dispositivo liberador de progesterona (P4), e protocolos a base de estrógeno (E2) e P4. A adoção de determinado protocolo pelos profissionais da área está relacionada com a disponibilidade dos hormônios em cada país, ao custo destes hormônios e a categoria dos animais a serem protocolados. Protocolos nos quais se utiliza E2 são amplamente utilizados na América do Sul e em rebanhos de corte da Austrália, enquanto protocolos baseados no uso de GnRH são mais utilizados na América do Norte, Europa e Nova Zelândia (SÁ FILHO *et al.*, 2010).

Os protocolos a base de GnRH foram desenvolvidos para vacas de leite em lactação, mas são também amplamente utilizados em gado de corte na América do Norte (DAY, 2015). O primeiro relato da técnica que permitiu a IA em diversos animais sem a necessidade da observação do estro (IATF) foi publicado por Pursley *et al.* (1995). Este autor desenvolveu o protocolo Ovsynch, que consiste na aplicação de GnRH no primeiro dia de tratamento (D0; dia aleatório do ciclo estral) para induzir o pico de LH e a ovulação do folículo dominante (quando presente) com consequente emergência de uma nova onda de crescimento folicular 1,5 a 2,0 dias após o tratamento. Sete dias após (D7), administra-se um análogo da prostaglandina F_{2α} (PGF) para induzir a regressão luteínica e um segundo tratamento com GnRH é realizado 48 horas após (D9), para que ocorra um novo pico de LH e a ovulação sincronizada do novo folículo dominante. A IATF é realizada 16 horas após o tratamento com GnRH (VASCONCELOS *et al.*, 1999). Em gado de corte, o segundo GnRH é administrado no momento da IA, aproximadamente 60 horas após a aplicação da PGF, o que confere ao protocolo o nome de Co-Synch (GEARY *et al.*, 2001).

Os protocolos nos quais se utiliza P4 e E2 consistem na inserção de um dispositivo liberador de P4 associado ao tratamento intramuscular com E2 no D0. Esse tratamento, em fase aleatória do ciclo estral, promove a atresia dos folículos em crescimento e induz a emergência de uma nova onda de crescimento folicular entre $2,5 \pm 0,2$ (SÁ FILHO *et al.*, 2011) e $4,3 \pm 0,2$ dias (BÓ *et al.*, 1995) após o tratamento. O mecanismo pelo qual o E2 associado a P4 suprime o crescimento folicular parece envolver o bloqueio na liberação de FSH e de LH, interrompendo o estímulo para o crescimento folicular. No momento da retirada do dispositivo de P4 (no D7, 8 ou 9), a administração de um análogo de PGF é necessária para garantir a luteólise (reabsorção do corpo lúteo) e a redução dos níveis sanguíneos de P4. Nesse momento, podem ser administrados também um indutor de crescimento folicular (gonadotrofina coriônica equina, eCG) e um indutor de ovulação (BURKE *et al.*, 1996; O'ROURKE *et al.*, 2000).

3.4 Hormônios utilizados na IATF

3.4.1 Progestágenos

O tratamento com progestágenos estimula o desenvolvimento e maturação de folículos dominantes, em vacas em anestro, por aumentar a secreção de LH, estimular o desenvolvimento de receptores de LH e a síntese de estradiol (Rhodes *et al.*, 2003). Além disso, podem induzir à puberdade quando administrados próximos ao tempo em que esta ocorreria normalmente, sendo mais efetivos quando combinados a dietas com alto conteúdo energético (GREGORY; ROCHA, 2004).

Existem diferenças na fisiologia reprodutiva entre *Bos taurus* e *Bos indicus*, o que pode determinar melhor resposta à sincronização. Uma das diferenças marcantes está relacionada aos níveis de progesterona durante o ciclo estral. Fêmeas *Bos indicus* apresentam níveis de progesterona circulante inferiores às fêmeas *Bos taurus* (PATTERSON *et al.*, 1989).

Existem no mercado, dois tipos de implantes de progesterona para sincronização de cio e ovulação: os implantes vaginais e os auriculares (subcutâneos), estes, têm liberação lenta na circulação sanguínea, garantindo níveis constantes do hormônio no período em que o implante está inserido. Há também a progesterona injetável, que tem meia vida na circulação limitada, pois é administrado o total da dosagem em um único momento. Nos protocolos atuais de sincronização do estro, a utilização da progesterona está sempre associada a outros hormônios, como por exemplo, valerato de estradiol (VE), benzoato de estradiol (BE), cipionato de estradiol (ECP), prostaglandina e eCG (COLAZO *et al.*, 2006).

3.4.2 Estrógenos

Os estrógenos são indutores da ovulação e naturalmente produzidos pelos folículos ovarianos. Existem várias moléculas de estrógenos disponíveis no mercado para utilização em protocolos de sincronização de cio. Os principais são: 17β estradiol, benzoato de estradiol (BE), valerato de estradiol (VE) e o cipionato de estradiol (ECP). Cada um apresenta metabolização diferente, alterando sua meia vida (BINELLI *et al.*, 2001).

A associação de estrógenos aos tratamentos com progestágenos e/ou progesterona, provoca atresia do folículo dominante e induz a emergência de uma nova onda de crescimento folicular, 3 a 4 dias após sua aplicação (BÓ *et al.*, 2003). Além disso, impede a formação de folículos persistentes, que interferem na eficiência do tratamento (BARUSELLI *et al.*, 2004).

Nos protocolos de IATF, normalmente o benzoato de estradiol é aplicado junto com a colocação do implante de progesterona, podendo também ser utilizado sete a oito dias após, no momento da retirada do implante. Geralmente induz a ovulação entre 24 a 32 horas após sua aplicação (MAPLETOFT *et al.*, 2002).

3.4.3 Prostaglandina

As prostaglandinas foram inicialmente detectadas no líquido seminal de carneiros, possivelmente secretadas pela próstata. São sintetizadas por inúmeras células, quando requisitadas, não são armazenadas e tem meia vida biológica muito curta (FONSECA *et al.*, 2012).

A prostaglandina é um hormônio muito utilizado para controle do ciclo estral, atuando por meio da regressão do corpo lúteo. É aplicada por via intramuscular entre os dias 6 a 17 do ciclo estral. Entretanto a $PGF2\alpha$ controla somente a regressão do corpo lúteo, sem alteração do crescimento folicular (VASCONCELOS *et al.*, 2000).

Os análogos sintéticos são mais potentes que as prostaglandinas naturais e funcionam como agentes luteolíticos em vacas que estão ciclando normalmente, determinando a queda dos níveis de progesterona, o desenvolvimento do folículo terminal e o pico de LH dentro de três dias (FONSECA *et al.*, 2012).

Quando a luteólise é induzida por tratamento com $PGF2\alpha$, o começo do cio é distribuído por um período de seis dias. Essa variação é devida ao nível folicular dos ovários na hora do tratamento (MAPLETOFT, 2002). Colazo *et al.* (2006), afirmaram que o estro decorrente da aplicação de $PGF2\alpha$ depende da fase de desenvolvimento do folículo no momento da aplicação.

3.4.4 Gonadotrofina coriônica equina (eCG)

A eCG é produzida nos cálices endometriais da égua prenha e se liga aos receptores de LH do corpo lúteo. A eCG cria condições de crescimento folicular e de ovulação e é um fármaco cuja meia vida na circulação pode chegar a três dias. Seu uso tem se mostrado compensador em rebanhos de baixa taxa de ciclicidade, animais recém-paridos (período pós-parto inferior a 60 dias) e animais com condição corporal comprometida. Animais com boas condições corporais apresentam alta taxa de ciclicidade, o que dispensa o tratamento com eCG (BARUSELLI *et al.*, 2004). Quando administrado em fêmeas bovinas a eCG se liga aos receptores de FSH e LH do folículo e aos receptores de LH do corpo lúteo, aumentando assim o crescimento do folículo ovulatório e o tamanho do corpo lúteo, diminuindo os problemas de reconhecimento de gestação que ocorrem até o décimo dia após a fecundação (STEWART; ALLEN, 1981).

A eCG é um fármaco de meia vida longa (até 3 dias), produzido nos cálices endometriais da égua prenha (MURPHY; MARTINUK, 1991), que se liga aos receptores de FSH e LH dos folículos e aos receptores de LH do corpo lúteo (STEWART; ALLEN, 1981). Em equinos, a eCG causa ovulação ou luteinização de folículos durante a gestação, com consequente aumento da progesterona circulante (MURPHY; MARTINUK, 1991).

A eCG é composta de duas subunidades (α - composta por 96 aminoácidos; e β - composta por 149 aminoácidos). Uma característica importante da molécula de eCG é a existência de grande quantidade de carboidratos (aproximadamente 45% de sua massa) principalmente a N-acetil neuramina (ou ácido siálico), primordialmente presente na subunidade β da molécula de eCG, o que proporciona uma grande meia vida a este composto químico (MURPHY; MARTINUK, 1991). Ainda, devido ao alto peso molecular e à presença de ácido siálico, a molécula de eCG é carregada negativamente, o que dificulta a sua filtração glomerular e aumenta ainda mais sua meia-vida. Devido a todos estes fatores, a meia-vida da eCG quando aplicado em bovinos é longa (SOUZA *et al.*, 2009).

Quando administrada vacas em anestro a eCG cria condições para estimular o crescimento folicular e a ovulação, mesmo em vacas que tenham comprometimento na liberação de gonadotrofinas. Seu uso tem apresentado efeito positivo em rebanhos com baixa taxa de ciclicidade, em animais recém paridos (pós-parto inferior a 2 meses), em animais com condição corporal comprometida e em animais que apresentam comprometimento no crescimento do folículo dominante devido à altos níveis de progesterona ao final do tratamento de sincronização da ovulação. Ainda, devido sua ação de LH e FSH e longa meia vida, a eCG pode ser utilizada em dose única em protocolos para superovulação em bovinos (BARUSELLI

et al., 2008). O emprego da eCG também tem sido relatado em receptoras de embrião. Receptoras que recebem eCG durante o tratamento de sincronização apresentam aumento da taxa de ovulação e de aproveitamento, além de possuírem maiores níveis de progesterona circulante no diestro (BARUSELLI *et al.*, 2000), diminuindo falhas no reconhecimento da gestação (BINELLI *et al.*, 2001) e aumentando a eficiência da transferência de embriões.

3.5 Fisiologia do pós-parto

Após o parto, a fêmea bovina precisa criar um bezerro saudável e estabelecer uma nova gestação. O padrão de desenvolvimento folicular ovariano que prevalece durante a gestação deverá agora ser substituído por uma sequência de eventos que resultará no crescimento de um folículo dominante que produz estrógeno suficiente para manifestação do estro, seguido de ovulação e formação de um corpo lúteo funcional. Esses requisitos são necessários para o restabelecimento da fertilidade no período pós-parto nos diversos tipos de criação (RHODES *et al.*, 2003). No entanto, o que se observa em muitos casos nas condições brasileiras de manejo é um longo período de anestro pós-parto, tanto em fêmeas *Bos indicus* quanto em *Bos taurus*, apesar de haver crescimento folicular durante essa fase (WILTBANK *et al.*, 2002). Existem pesquisas que indicam que logo após o parto, verifica-se baixa quantidade de LH armazenado na hipófise, sendo essa característica fisiológica limitante para o restabelecimento da atividade ovariana no período pós-parto diferentemente do que ocorre no mesmo período com o FSH, do qual os níveis de liberação continuam normais (YAVAS; WALTON, 2000).

No final da gestação ocorre diminuição da concentração de gonadotrofinas devido à intensa retroalimentação negativa da progesterona. Logo após o parto (cerca de 4 dias), nota-se elevação das concentrações de FSH e, conseqüentemente, emergência da primeira onda de folicular (WILTBANK *et al.*, 2002). No entanto, para que ocorra a ovulação do folículo dominante, a frequência dos pulsos de LH deve ser de aproximadamente 1 pulso por hora (revisado em Bó *et al.*, 2003). A ausência ou a inadequada pulsatilidade de LH faz com que o folículo dominante não se desenvolva muito além do diâmetro da divergência folicular. Wiltbank *et al.* (2002) especularam que zebuínos podem apresentar deficiência de FSH no período pós-parto com base em estudo (RUIZ-CORTES; OLIVERA-ANGEL, 1999) que identificou que folículos de vacas zebuínas não alcançavam diâmetros superiores a 6mm durante o anestro pós-parto. Contudo, estudos recentes sobre divergência folicular em Nelore constataram que o folículo de *Bos indicus* atinge a dominância com diâmetro inferior ao relatado para *Bos taurus* (8,5mm), com aproximadamente 6mm. Portanto, condições

anovulatórias frequentemente verificadas em zebuínos não parecem estar associadas à deficiência de FSH, que promove o crescimento até a divergência, e sim de LH, responsável pela continuidade do crescimento e indução da ovulação do folículo dominante. Sendo assim, especula-se que em fêmeas zebuínas em anestro severo, com comprometimento na liberação de LH, os folículos não atingem diâmetros superiores a 6mm. Já, em fêmeas taurinas nas mesmas condições de anestro os folículos crescem até 8,5mm de diâmetro (GIMENES *et al.*, 2005; SARTORELLI *et al.*, 2005; CASTILHO *et al.*, 2006).

Existem indícios de que zebuínos e taurinos apresentem diferenças nas concentrações plasmáticas de LH. Em um experimento, D'Occhio *et al.* (1990) observaram que, aos 40 dias pós-parto, vacas *Bos taurus* (Hereford Shorthorn) apresentaram maior concentração plasmática de LH ($0,66 \pm 0,04$ ng/ml) do que vacas *Bos indicus* (Brahman) ($0,56 \pm 0,03$ ng/ml). Essa diferença foi maior em períodos mais distantes do parto. Nesse mesmo estudo, constatou-se que vacas *Bos taurus* tiveram maior secreção pulsátil de LH e taxa de prenhez entre 50 e 120 dias após o parto que vacas *Bos indicus*. Após o restabelecimento dos estoques hipofisários de LH, os principais fatores que comprometem a ovulação são a condição nutricional e a amamentação (MONTIEL; AHUJA, 2005).

Quanto à nutrição, sabe-se que animais criados em regiões tropicais apresentam comprometimento na atividade ovariana pós-parto devido principalmente ao inadequado conteúdo energético fornecido pelas pastagens. Dessa maneira, a energia ingerida pelo animal é priorizada para funções vitais de manutenção e de produção de leite, deixando em segundo plano as exigências reprodutivas no que se refere a preparação para uma próxima gestação (MONTIEL; AHUJA, 2005). Os efeitos resultantes do comprometimento nutricional são a supressão na liberação de GnRH e, conseqüentemente, diminuição na frequência dos pulsos de LH (SCHILLO, 1992), reduzindo o diâmetro máximo do folículo dominante e a duração da onda de crescimento folicular (RHODES *et al.*, 1995; WILTBANK *et al.*, 2002). Frente a esses dados, a avaliação do escore de condição corporal (ECC) e da nutrição do rebanho tornam-se importantes ferramentas do manejo reprodutivo (MONTIEL; AHUJA, 2005).

Outro fator que pode inibir a ovulação no pós-parto é a amamentação, por reduzir a liberação de GnRH e, por conseqüência, a secreção de LH (WILLIAMS *et al.*, 1996). Essa inibição é exercida pela secreção de um peptídeo opioide produzido no hipotálamo (β -endorfina) em resposta ao estímulo da amamentação. O efeito da amamentação na regulação da liberação tônica de LH é determinado pela habilidade da vaca em identificar seu bezerro. A visão e o olfato exercem um papel crítico no desenvolvimento da relação da mãe com o bezerro,

permitindo que a vaca identifique o seu bezerro. A remoção de ambos os sentidos atenua os efeitos negativos da amamentação na secreção de LH. Assim, existem trabalhos que apontam que a relação da vaca com o bezerro é responsável por prolongar o anestro pós-parto. Esse efeito supressivo é independente de estímulos neurosensoriais no úbere (MONTIEL; AHUJA, 2005).

Essas alterações fisiológicas podem afetar a maturação final e a ovulação do folículo dominante. Além do ato de amamentar, o olfato, a visão, o estímulo tátil e a audição podem também induzir essas alterações fisiológicas (WILLIAMS *et al.*, 1996). Montiel e Ahuja (2005) descreveram que para atenuar o efeito da presença do bezerro, realiza-se desmame total, parcial (permitir ao bezerro acesso à mãe uma ou duas vezes ao dia) ou temporário (remoção do bezerro durante 48 a 96h).

Cerca de 65% das perdas embrionárias em vacas ocorrem por falha no reconhecimento materno do embrião e este fenômeno pode ser justificado pela baixa produção de P4 pelo corpo lúteo, que resulta em um útero menos susceptível a implantação embrionária. Por isso, conclui-se que é importante ter um folículo dominante grande no dia da ovulação, para atingir uma produção de P4 maior posteriormente a ovulação (GONÇALVES *et al.*, 2002). Condições nutricionais associadas a pré-disposição do gado zebuino, causam baixa produção de LH pela hipófise, impossibilitando o crescimento normal de um folículo por meio de estímulo natural de LH. Uma alternativa para o estímulo do crescimento folicular é a eCG, que atua como indutor de crescimento ovulatório exógeno (BARUSELLI *et al.*, 2016).

3.6 Efeitos da eCG na dinâmica folicular

A eCG vem sendo amplamente utilizada no momento da retirada do implante de P4 para melhorar os índices de fertilidade no Brasil. Por apresentar a característica de “*booster*” no crescimento folicular, resulta em um folículo ovulatório maior (SOUZA *et al.*, 2009), o que tem impacto em dois pontos chaves da ovulação induzida pelo protocolo de IATF: taxa de ovulação folicular e níveis de P4 circulante após a ovulação (SÁ FILHO *et al.*, 2010).

A eCG, quando administrada em fêmeas, cria condições para estimular o crescimento folicular e a ovulação. Seu uso também tem apresentado efeito positivo em rebanhos com baixa taxa de ciclicidade (anestro), em animais recém-paridos (período pós-parto inferior a dois meses), em animais com condição corporal e em animais que apresentam comprometimento no crescimento do folículo dominante devido a altos níveis de progesterona ao final do tratamento de sincronização da ovulação (MARQUES *et al.*, 2005).

O tratamento com a eCG parece ter um efeito corretivo na fertilidade de fêmeas bovinas, já que sua administração só aumenta as taxas de ovulação, concepção, e prenhez em animais com debilidade em sua fertilidade. Porém a fertilidade de animais tratados com a eCG não se sobressai a fertilidade natural do animal, tendo efeitos positivos apenas em animais prejudicados pelo baixo escore de condição corporal, período de pós-parto inferior a 2 meses, e animais com baixa liberação de LH (SÁ FILHO *et al.*, 2010).

Em um estudo para avaliar o crescimento folicular, a ovulação e a fertilidade em fêmeas submetidas a um protocolo de IATF, vacas Nelores lactantes com bezerro ao pé e em anestro pós-parto foram divididas em três grupos (controle; FSH: 10mg no momento da remoção do dispositivo intravaginal de progestágeno; e eCG: 300 UI no momento da remoção do dispositivo intravaginal de progestágeno) e submetidas às avaliações ultrassonográficas do dia zero (D0) ao dia 12 (D12). Nesse estudo, os autores observaram um aumento no diâmetro do maior folículo no momento da IATF no dia 10 (D10; $12,9 \pm 0,3$ mm, $12,8 \pm 0,3$ mm e $13,9 \pm 0,2$ mm, $P = 0,006$) e na taxa de crescimento folicular do dia oito ao dia 10 ($0,95 \pm 0,1$ mm/dia, $0,90 \pm 0,1$ mm/dia e $1,40 \pm 0,1$ mm/dia, $P = 0,006$) nos animais tratados com eCG em relação aos tratados com FSH e ao grupo controle, sendo observada diferença estatística entre os grupos controle e eCG para ambos os parâmetros da dinâmica folicular (SALES *et al.*, 2011).

Sá Filho e colaboradores (2010) realizaram dois experimentos para se avaliar os efeitos da eCG na dinâmica folicular e nas taxas de prenhez em vacas Nelore lactantes e em anestro pós-parto. No experimento 1, as vacas que receberam 400UI de eCG no dia nove (dia da remoção do dispositivo auricular de progestágeno) apresentaram aumento na taxa de crescimento folicular do dia nove ao dia 11 ($1,53 \pm 0,1$ mm/dia e $0,48 \pm 0,1$ mm/dia; $P < 0,0001$), aumento do diâmetro do maior folículo no momento da IATF no dia 11 (D11; $11,4 \pm 0,6$ mm e $9,3 \pm 0,7$ mm; $P = 0,03$) e maior taxa de ovulação (80,0 e 50,0%; $P = 0,02$) em relação às vacas que não receberam eCG. No experimento 2, as vacas que receberam 400UI de eCG no dia nove apresentaram maior taxa de prenhez (47,7 e 27,6%; $P = 0,004$) em relação às vacas que não receberam eCG.

Wecker *et al.* (2012) avaliaram vacas não lactantes da raça Brangus e observaram que as tratadas com 400UI de eCG sete dias após a realização da IATF demonstraram maior número de corpos lúteos (CL) com área maior que 2 cm (21 e 13 , $80,8$ e $54,2\%$ dos animais; $P < 0,01$) em relação ao grupo não tratado com eCG, o que evidencia a ação luteotrófica da eCG.

Há relatos da existência de uma alta correlação entre o diâmetro do folículo ovulatório no momento da inseminação artificial e as concentrações séricas de progesterona após a

ovulação, podendo este ser determinante de uma subsequente gestação (SÁ FILHO *et al.*, 2010). As concentrações de progesterona exercem papel fundamental no momento da implantação do embrião no endométrio materno (KENYON *et al.*, 2013).

O diâmetro do folículo ovulatório foi mensurado dois e três dias após a administração de 400 UI de eCG em novilhas meio sangue, e se comparou com um grupo controle (que não recebeu eCG). Constatou-se que dois dias após a aplicação da eCG, os grupos controle e eCG, não diferiram em diâmetro folicular, no entanto, três dias após a administração do hormônio, o grupo eCG apresentou diâmetro folicular superior (14.7 ± 0.6 mm) ao grupo controle (13.5 ± 0.5 mm), sugerindo que a eCG apresente maior ação folículo estimulante, se aplicada mais de três dias antes da inseminação artificial (MARQUEZINE *et al.*, 2014).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Animais

Foram utilizadas vacas (n=137) multíparas lactantes ou não da raça Nelore (*Bos taurus indicus*) de uma mesma propriedade no município de Vilhena (Rondônia, Brasil). Os animais permaneceram sob regime extensivo de pastagem (*Brachiaria brizantha*) e tinham acesso a água e sal mineral *ad libitum*.

4.2 Experimento

Todos os procedimentos realizados no presente experimento foram avaliados e aprovados pelo Comitê de Ética em Uso de Animais (CEUA) da Fundação Universidade Federal de Rondônia (UNIR), sob o número de protocolo 0013/2018.

Todos os animais foram submetidos ao protocolo de IATF de acordo com o seguinte esquema de tratamento: no primeiro dia os animais receberam 2 mg de benzoato de estradiol (GONADIOL, Pfizer Saúde Animal, São Paulo, SP, Brasil) e um dispositivo intravaginal de liberação de progesterona (CIDR, Pfizer Saúde Animal, São Paulo, SP, Brasil) contendo 1,9 mg de progesterona; no sétimo dia do protocolo receberam 12,5 mg de PGF2 α (LUTALYSE, Pfizer Saúde Animal, São Paulo, SP, Brasil); no D9 do protocolo, foi retirado o implante de progesterona, e foram aplicados 0,3 mg de cipionato de estradiol (E.C.P., Pfizer Saúde Animal, São Paulo, SP, Brasil); no D11 do protocolo, as vacas foram inseminadas.

Estes animais foram divididos aleatoriamente em dois grupos: o grupo eCGD7 (n=64), recebeu 300 UI de eCG (NOVORMON, Pfizer Saúde Animal, São Paulo, São Paulo, Brasil) no D7 do protocolo e; o grupo eCGD9 (n=73) recebeu 300 UI de eCG (NOVORMON) no D9 do protocolo. Todos os animais do experimento foram mantidos em um mesmo lote, e foi permitida a mamada dos bezerros sem restrição. Foi realizada avaliação ovariana no D7, D9, e D11 através de ultrassonografia transretal (Mindray®, transdutor linear na frequência de 5,0MHz) com o intuito de mensurar o diâmetro do folículo ovulatório.

O crescimento folicular dos dias 7 para 9, 7 para 11, e 9 para 11 foi analisado pelo método ANOVA (Analysis of Variance) usando o GLIMMIX através do SAS.

5. RESULTADOS

O diâmetro do folículo ovulatório no grupo eCGD7 (n=64) foi $14,72 \pm 0,29$ mm, e no grupo eCGD9 (n=73) foi de $14,03 \pm 0,26$ mm. O grupo eCGD7 teve diâmetro folicular clinicamente (visualmente) superior quando comparado ao grupo eCGD9, no entanto, não foi encontrada diferença estatística ($P = 0,07$). Houve um aumento na média geral do diâmetro folicular nos dias 7, 9 e 11 do protocolo de IATF, de $11,86 \pm 0,17$ mm, para $12,35 \pm 0,19$ mm, havendo diferença estatística entre os grupos ($P = 0,04$).

Tabela 1. Diâmetro do folículo dominante nos dias 7, 9 e 11 do protocolo, e média de todos os dias nas vacas tratadas com eCG no D7 (eCGD7) ou D9 (eCGD9).

Variável	Tratamentos		Valor P
	eCGD7	eCGD9	
	————— Diâmetro folicular (mm) —————		
Dia 7	$9,85 \pm 0,18$	$9,80 \pm 0,16$	NS
Dia 9	$12,48 \pm 0,21$	$11,74 \pm 0,19$	0,007
Dia 11	$14,72 \pm 0,29$	$14,03 \pm 0,26$	0,07
Média de diâmetro folicular	$12,35 \pm 0,19$	$11,86 \pm 0,17$	0,04

O efeito do tratamento foi demonstrado principalmente pelo crescimento folicular entre os grupos do dia 7 ao dia 9, sendo o mesmo de $2,6 \pm 0,2$ mm no grupo eCGD7 e de $2,0 \pm 0,2$ mm no grupo eCGD9 ($P < 0,001$), enquanto o crescimento do dia 9 para o dia 11 do protocolo não apresentou diferença entre os tratamentos, como demonstrado no gráfico 1.

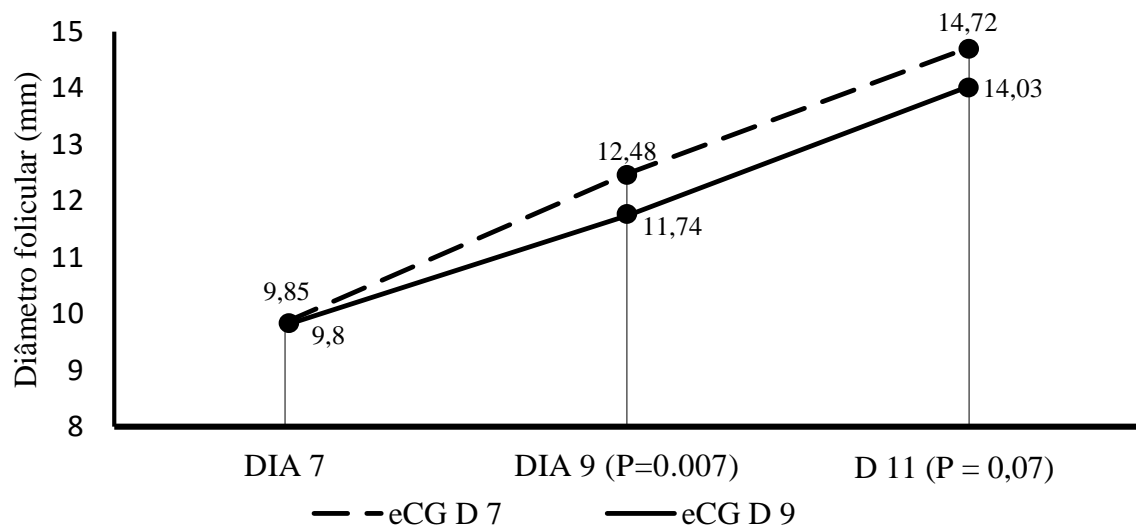


Gráfico 1. Crescimento folicular do dia 7 ao dia 11 do protocolo em vacas tratadas com eCG no dia 7 (eCGD7) e 9 (eCGD9).

Quando os indivíduos foram divididos em categorias foliculares, onde animais que possuíam folículo menor que 9 mm foram categorizados como de folículo pequeno e animais com folículo maior ou igual a 9 mm foram categorizados como de folículo grande, animais de folículos pequenos apresentaram maior diferença em crescimento folicular entre grupos (0,63 mm) do que animais com folículos grandes (0,38 mm), caracterizando um efeito do tratamento maior sobre folículos pequenos, como demonstrado no gráfico 2.

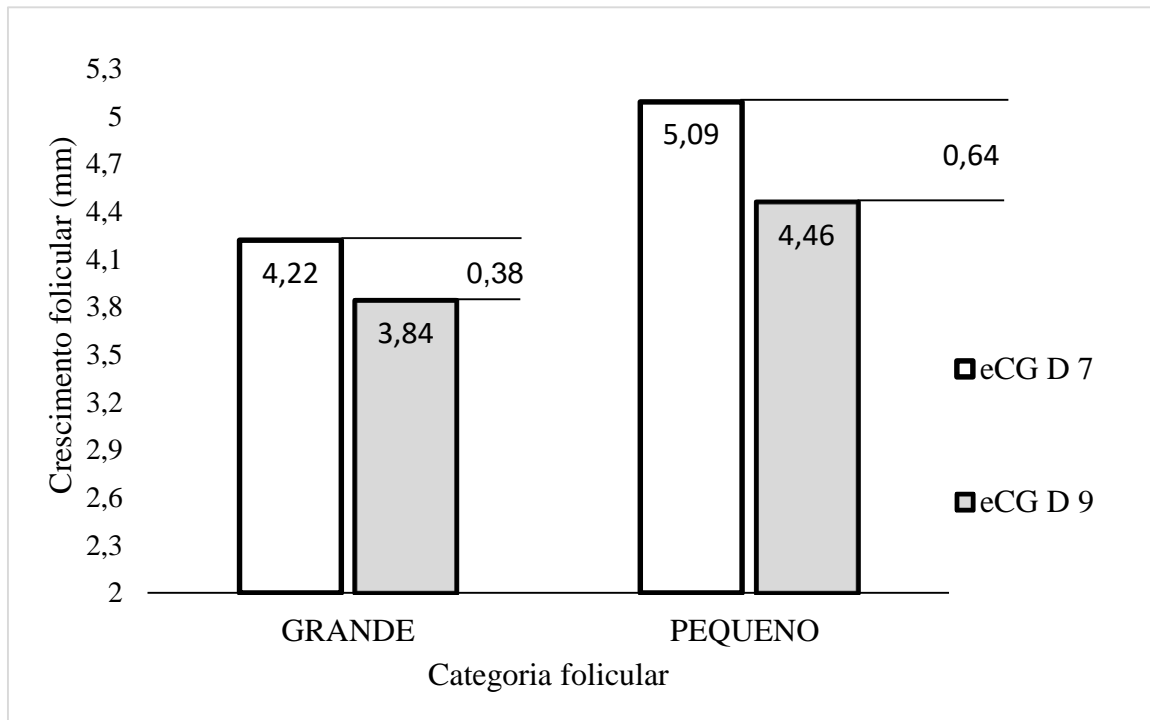


Gráfico 2. Efeito do tratamento sobre animais com folículo dominante pequeno (< 9 mm) ou grande (≥ 9 mm) sobre o crescimento folicular do dia 7 ao dia 11 do protocolo.

A média de crescimento folicular entre o D7 e o D11 foi superior ($P = 0,08$) no grupo tratado com eCG no D7 ($4,87 \pm 1,60$ mm) quando comparado ao grupo tratado com eCG no D9 ($4,35 \pm 1,63$ mm). As taxas de crescimento folicular diário nos grupos eCGD7 e eCGD9 foram de 1,21 mm/dia e 1,08 mm/dia, respectivamente.

6. DISCUSSÃO

O presente trabalho foi o primeiro a realizar a comparação entre a administração da gonadotrofina coriônica equina quatro e dois dias antes da inseminação artificial, sendo este o primeiro trabalho a relatar os resultados obtidos a partir destas observações.

A antecipação da aplicação da eCG para quatro dias antes da inseminação artificial só se faz possível em protocolos de quatro manejos (protocolos longos) nos quais o manejo quatro dias antes da inseminação é feito para a administração de prostaglandina; em protocolos de três manejos seria necessário um manejo adicional para a antecipação da eCG, inviabilizando a técnica.

O diâmetro do folículo dominante no momento da inseminação tanto do grupo eCGD7 ($14,72 \pm 0,29$ mm) quanto do grupo eCGD9 ($14,03 \pm 0,26$ mm), foram superiores, quando comparados com Peres *et al.*, (2009) que obteve $12,00 \pm 0,10$ mm utilizando 300UI de eCG, e Martínez *et al.*, (2015) que obteve $12,61 \pm 0,47$ mm utilizando 200UI de eCG.

Perry *et al.* (2005) comprovaram existir uma correlação linear entre diâmetro folicular no momento da inseminação e taxa de prenhez aos 60 dias, e a análise de regressão indicou máxima taxa de prenhez ($81\% \pm 17,6\%$) em animais com folículo dominante de diâmetro 15,2 mm. Dentre os tratamentos comparados neste experimento o que teve diâmetro folicular mais próximo de 15,2 mm foi o grupo que recebeu a eCG no D7 do protocolo, sugerindo que este tratamento resultaria em melhores taxas de prenhez aos 60 dias nesta categoria animal.

Este trabalho foi testada a mudança no dia da aplicação da eCG apenas com a dosagem de 300UI; em experimento realizado por Doroteu e colaboradores (2015), não foi identificada diferença nas taxas de cio (percentual de animais que apresentaram sinais de estro) e de prenhez em vacas Nelore tratadas com 300 ou 200UI de eCG no D9. Assim, se faz necessário testar o efeito da antecipação do eCG na dosagem de 200 UI, e verificar se a diminuição da dosagem afetará o resultado quando aplicada 4 dias antes da inseminação.

Animais com folículo ovulatório menor do que 11,3 mm no momento da inseminação neste trabalho, apresentaram menores taxas de prenhez em vacas submetidas a protocolo de IATF; o mesmo resultado não foi observado em animais que ovularam naturalmente sem indução de ovulação pelo protocolo de IATF (Perry *et al.*, 2005). Estes resultados sugerem que não há necessidade de induzir o crescimento folicular em animais que serão inseminados diante de observação de cio natural, não sendo necessário uso da eCG em inseminação convencional.

A secreção de estrógenos pelos folículos é dependente da ativação dos receptores de LH, localizados nas células da teca interna dos folículos ovarianos, e receptores de FSH, presentes nas células da granulosa dos mesmos folículos (HAFEZ, 2003). Tendo a eCG ação sobre estes receptores, ela desencadeia um aumento na secreção de estrógenos. O estrógeno por sua vez estimula a síntese de receptores uterinos para ocitocina (OXTR) no endométrio. A ocitocina, liberada de forma pulsátil pela neurohipófise, liga-se a estes receptores, provocando a liberação de prostaglandinas na corrente sanguínea; em contato com o corpo lúteo, a prostaglandina leva a lise do mesmo (PRESTES, 2017). Antecipando a aplicação da eCG, ela passa a ser realizada no momento da aplicação da prostaglandina exógena, podendo assim, potencializar a luteólise, resultando em uma queda mais abrupta da progesterona circulante, interrompendo assim o *'feedback'* negativo e consequentemente, antecipando a ocorrência do estro. Animais que apresentam estro mais cedo ($2,3 \pm 0,14$ dias após a retirada do implante) tiveram resultados melhores do que animais que apresentaram estro mais tarde ($4,06 \pm 0,38$ dias após a remoção do implante), com taxas de concepção de 79,0 % e 42,0 % respectivamente (OKOUYI *et al.*, 2015).

7. CONCLUSÃO

A antecipação da aplicação da gonadotrofina coriônica equina de 2 para 4 dias antes da inseminação aumentou significativamente o crescimento folicular do sétimo ao nono dia do protocolo. Também foi notado um aumento no diâmetro do folículo ovulatório no momento da inseminação, sendo a média geral do mesmo superior no grupo submetido a antecipação da eCG. Avaliados estes resultados recomenda-se a realização de mais experimentos, para avaliar o efeito da antecipação da eCG também sobre as taxas de ovulação, estro, e prenhez, bem como níveis séricos de estradiol e progesterona antes e após a ovulação.

REFERÊNCIAS

ASBIA. **Associação Brasileira de Inseminação Artificial**. Disponível em <<http://www.asbia.org.br/novo/relatorios/>>. Acesso em: outubro de 2017.

BARUSELLI, P. S.; MARQUES, M. O.; CARVALHO, N. A. T.; VALENTIM, R.; BERBER, R. C. A.; FILHO, A. F. C.; MADUREIRA, E. H.; COSTA NETO, W. P. Aumento da taxa de prenhez em receptoras de embrião bovino pela utilização do protocolo “Oovsynch” com inovulação em tempo fixo. **Arquivos da Faculdade de Veterinária UFRGS**, v. 28, p. 216, 2000.

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

BARUSELLI, P. S.; MARTINS, C. M.; SALES, J. N. S.; FERREIRA, R. M. Novos avanços na superovulação de bovinos. **Acta Scientiae Veterinariae**. v. 36-SUP. p. 433-448, 2008.

BARUSELLI, P. S. Importância do emprego da eCG em protocolos de sincronização para IA, TE e SOV em tempo fixo. III SIMPÓSIO DE REPRODUÇÃO ANIMAL APLICADA. Londrina, 2008.

BARUSELLI, P. S.; SALES, J. N. S.; SALA, R. V.; VIEIRA, L. M.; SÁ FILHO, M. F. Evolução e perspectivas dos programas de inseminação artificial em tempo fixo no Brasil. **Animal Reproduction**, v. 9, p. 30-43, 2012.

BARUSELLI, P. S. IATF supera dez milhões de procedimentos e amplia o mercado de trabalho. **Revista Conselho Federal de Medicina Veterinária**, v. 69, p. 57-60, abr. 2016.

BARUSELLI, P. S.; COLLI, M. H. A.; REZENDE, R. G.; MINGOTI, R. D.; MOTTA, J. C. L.; FREITAS, B.; TEIXEIRA, A. A.; VIEIRA, L. M.; FERREIRA, R. M. Situação atual, desafios e perspectivas para a reprodução programada de gado de corte e de leite. In: VII SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUÇÃO ANIMAL APLICADA. Londrina, 2016.

BINELLI, M.; THATCHER, W. W.; MATTOS, R.; BARUSELLI, P. S. Antiluteolytic strategies to improve fertility in cattle. **Theriogenology**, v. 56, p. 1451-1463, 2001.

BURKE, C. R.; MACMILLAN, K. L.; BOLAND, M. P. Oestradiol potentiates a prolonged progesterone-induced suppression of LH release in ovariectomised cows. **Animal Reproduction Science**, v. 45, p. 13-28, 1996.

BÓ, G. A.; ADAMS, G. P.; GARCCIA, M.; MARTINEZ, M.; PIERSON, R. A.; MAPLETOFT, R. J.; Ovarian follicular wave emergence after treatment with progestogen and estradiol in cattle, **Animal Reproduction Science**, v. 39, n. 3, p. 193-204, ago. 1995.

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.

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 postovulatory wave in Nelore (*Bos indicus*) heifers. **Animal Reproduction Science**, v. 98, p. 189-96, 2006.

COLAZO, M. G.; SMALL, J. A.; KASTELIC, J. P.; DAVIS, H.; WARD, D. R.; WILDE, R.; MAPLETOFT, R. J. Effects of CIDR based presynchronization and eCG on fertility to a GnRH-based timed-AI protocol in beef cattle. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 18, p. 114, 2006.

DAY, M. L. State of the art of GnRH - based timed AI in beef cattle. **Animal Reproduction**, v. 12, p. 473-478, 2015.

DOROTEU, E. M.; OLIVEIRA, R. A.; PIVATO, I. Avaliação de diferentes doses de eCG na resincronização da ovulação em vacas nelore lactantes submetidas à IATF. **Rev. Bras. Saúde Prod. Anim.**, Salvador, v. 16, n. 2, p. 449-457, abr./jun. 2015.

D'OCCHIO, M. J.; NEISH, A.; BROADHURST, L. Differences in gonadotrophin secretion post-partum between zebu and European breed cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 22, p. 311-317, 1990.

FONSECA, J. F.; MAFFILI, V. V.; SANTOS, A. D. F.; FÜRST, R.; PROSPERI, C. P.; HOVAY, H.; SOUZA, J. M. G.; TORRES, C. A. A. Effects of prostaglandin administration 10 days apart on reproductive parameters of cyclic dairy nulliparous goats. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 64, n. 2, p. 349-358, 2012.

FURTADO, D. A.; TOZZETTI, D. S.; AVANZA, M. F. B.; DIAS, L. G. G. G. Inseminação artificial em tempo fixo em bovinos de corte. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**. Ano 9, n. 16, 2011.

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

GIMENES L. U.; SÁ FILHO M. F.; MADUREIRA E. H.; TRINCA L. A.; BARROS C. M.; BARUSELLI P.S. Estudo ultra-sonográfico da divergência folicular em novilhas Nelore (*Bos indicus*). **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 33, supl. 1, p. 210, 2005.

GONÇALVES, Paulo Bayard Dias; FIGUEIREDO, José Ricardo; FREITAS, Vicente José de Figueirêdo Biotécnicas Aplicadas à Reprodução Animal. Eds. Varela Editora e Livraria Ltda, 2002.

GREGORY, R. M.; ROCHA, D. C. Protocolos de sincronização e indução de estros em vacas de corte no Rio Grande do Sul. **Anais Simpósio Internacional de Reprodução Aplicada**, p. 147-154, 2004.

HAFEZ, E. S. E. **Reprodução Animal**, sétima edição, São Paulo, Editora Manole, janeiro de 2003.

IBGE- Instituto Brasileiro de Geografia e estatística. **Pesquisa Pecuária Municipal de 2016. Estatística da Produção Pecuária, 2016.** Disponível em:

<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/producaoagropecuaria/abate-leite-couroovos_201404_publ_completa.pdf> Acesso em: 17 de outubro de 2017.

JAUME, Carlos Miguel; MORAES, José Carlos Ferrugem. Importância da condição corporal na eficiência reprodutiva do rebanho de cria. Bagé, **EMBRAPA**, V.43, p.1-30, 2002.

KENYON A. G.; MENDONÇA L. G.; LOPES G. J. R.; LIMA J. R. SANTOS J. E.; CHEBEL R. C. Minimal progesterone concentration required for embryo survival after embryo transfer in lactating Holstein cows. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, V. 136, n. 4, p. 223-230, jan. 2013.

MAPLETOFT, R. J.; STEWARD, K. B.; ADAMS, G. P. Recent advances in the superovulation in cattle. **Reproduction Nutrition Development**, v. 42, p. 601–611, 2002.

MARTÍNEZ, G. E. P.; GUTIÉRREZ-AÑEZ, J. C.; ONDIZ, A. D. Efecto de la Dosis de eCG sobre las Características Foliculares y Luteales, Momento y Tasa de Ovulación de Novillas Mestizas Cebú Sincronizadas con Progestágeno Intravaginal. **Reproducción Animal**. v. 56, p. 35-41. 2015.

MARQUES, M. O.; SÁ FILHO, M. F; GIMENES, L. U.; FIGUEIREDO, T. B.; SORIA, G. F.; BARUSELLI, P. S. Efeito do tratamento com PGF2 α na inserção e/ou tratamento com eCG na remoção do dispositivo intravaginal de progesterona na taxa de concepção à inseminação artificial em tempo fixo em novilhas Nelore. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 1, p. 287, 2005.

MARQUEZINE, G. H. L.; MERCADANTE, V. R. G.; OLSON, V. R. G.; JAEGER, V. R. G.; PERRY, G. A.; STEVENSON, J. S.; LAMB, G. C. Effects of equine chorionic gonadotropin on follicle development and pregnancy rates in suckled beef cows with or without calf removal. **Journal Animal Science**, n. 91, p. 1216-1224, dez. 2014.

MILAZZOTTO, M. P.; VISINTIN, J. A.; ASSUMPCÃO, M. E. O. A. Biotecnologias da Reprodução Animal - Biologia molecular aplicada à biotecnologia. **Ciência Veterinária Trópica**, Recife-PE, v. 11, s. 1, p.145-148, abr. 2008.

MONTIEL, F.; AHUJA, C. Body condition and suckling as factors influencing the duration of postpartum anestrus in cattle: a review. **Animal Reproduction Science**, v. 85, p. 1-26, 2005.

MURPHY B. D.; MARTINUK S. D. Equine chorionic gonadotrophin. **Endocrine Rev**, v. 12, p. 27-44, 1991.

OKOUYI, M. W. M.; DRION, P. V.; HANZEN, C. Preovulatory follicle diameter, growth rate and time of ovulation during induced oestrus using a CIDR® in trypanotolerant female *Bos taurus* N'Dama cattle. *Trop. Animal Health Prod.*. Liège, 2015.

O'ROURKE, M.; DISKIN, M. G.; SREENAN, J. M.; ROCHE, J. F. The effect of dose and route of oestradiol benzoate administration on plasma concentrations of oestradiol and FSH in long-term ovariectomised heifers. **Animal Reproduction Science**, v. 59, p.

1-12, 2000.

PATTERSON, D. J.; KIRACOFÉ, G. H.; STEVENSON, J. S.; CORAH, L. R. Control of the Bovine Estrous Cycle with Melengestrol Acetate (MGA): A Review. **Journal of Animal Science**, v. 67, n. 8, p. 1895-1906, jan. 1989.

PERES, R. F. G.; CLARO JÚNIOR, 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.

PERRY, G. A. et al. Effect of ovulatory follicle size at time of GnRH injection or standing estrus on pregnancy rates and embryonic/fetal mortality in beef cattle. **American Society of Animal Science**. Vol 54. 2003

PERRY, G. A.; SMITH, M. F.; LUCY, M. C.; GREEN, J. A.; PARKS, T. E.; MECNEIL, M. D.; ROBERTS, A. J.; GEARY, T. W. Relationship between follicle size at insemination and pregnancy success. **Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A.**, p. 5268–5273, 5 abr. 2005.

PINHEIRO, O.L.; BARROS, C.M.; FIGUEREDO, R.A.; VALLE, E.R.; ENCARNAÇÃO, R.; PADOVANI, C.R. Estrus behavior and the estrus-to-ovulation interval in Nelore cattle (*Bos indicus*) with natural estrus or estrus induced with prostaglandin F2a or norgestomet and estradiol valerate. **Theriogenology** vol: 49; p: 667–681. 1998.

PRESTES, Nereu Carlos; LADIM-ALVARENGA, Fernanda da Cruz. **Obstetrícia Veterinária**. Segunda edição. Rio de Janeiro. Editora Guanabara Koogan Ltd., 2017.

PURSLEY, J. R.; MEE, M. O.; WILTBANK, M. C. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF2alpha and GnRH. **Theriogenology**, v. 44, p. 915–923, 1995.

RHODES, F. M.; FITZPATRIK, L. A.; ENTWISTLE, K. W.; KINDER, J. E. Hormone concentrations in the caudal vena cava during the first ovarian follicular wave of the estrous cycle in heifers. **Journals of Reproduction and Fertility Ltd.**, p. 0022-4251, 1995.

RHODES, F. M.; MCDUGALL, S.; BURKE, C. R.; VERKERK, G. A.; MACMILLAN, K. L. Invited review: Treatment of cows with an extended postpartum anestrous interval. **Journal Dairy Science**, v.86, p.1876-1894, 2003.

RUIZ-CORTES, Z.T.; OLIVERA-ANGEL, M. Ovarian follicular dynamics in suckled zebu (*Bos indicus*) cows monitored by real time ultrasonography. **Animal Reproduction Science**, v. 54, p. 211-220, 1999.

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.; AYRES, H.; FERREIRA, R. M.; MARQUES, M. O.; REIS, E. L.; SILVA, R. C. P.; RODRIGUES, C. A.; MADUREIRA, E. H.; BÓ, G. A.; BARUSELLI, P. S. Equine

chorionic gonadotropin and gonadotropin-releasing hormone enhance fertility in a norgestomet-based, timed artificial insemination protocol in suckled Nellore (*Bos indicus*) cows. **Theriogenology**, v. 73, p. 651–658, 2010.

SÁ FILHO, M. S.; BALDRIGHI, J. M.; SALES, J. N. S.; CREPALDI, G. A.; CARVALHO, J. P. B.; BÓ, G. A.; BARUSELLI, P. S. Induction of ovarian follicular wave emergence and ovulation in progestin-based timed artificial insemination protocols for *Bos indicus* cattle. *Animal Reproduction Science*. V. 129, n. 3-4, p. 132-139, 2011

SÁ FILHO, M. F.; PENTEADO, L.; REIS, E. L.; REIS, T. A. N. P. S.; GALVÃO, K. N.; BARUSELLI, P. S. Timed artificial insemination early in the breeding season improves the reproductive performance of suckled beef cows. **Theriogenology**, v. 79, p. 625–632, 2013.

SABELLA, J. Entrevista concedida a AGRO LINK Notícias, abr. 2008. Disponível em: <https://www.agrolink.com.br/noticias/tecnologias-para-pecuaria-de-corte-sao-destaque-na-expozebu-2008-em-mg_66695.html> Acesso em: 05 de dezembro de 2017.

SALES, J. N. S.; CREPALDI, G. A.; GIROTTO, R. W.; SOUZA, A. H.; BARUSELLI, P. S. Fixed-time AI protocols replacing eCG with a single dose of FSH were less effective in stimulating follicular growth, ovulation, and fertility in suckled anestrus Nellore beef cows. **Anim Reprod Sci**, v. 124, p. 12-18, 2011.

SARTORELLI, E. S.; CARVALHO, L. M.; BERGFELT, D. R.; GINTHER, O. J.; BARROS, C. M. Morphological characterization of follicle deviation in Nellore (*Bos indicus*) heifers and cows. **Theriogenology**, v. 63, p. 2382-2394, 2005.

SCHILLO, K. K. Effects of dietary energy on control of luteinizing hormone secretion in cattle and sheep. **Journal Animal Science**, v. 70, p. 1271-1282, 1992.

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

STEWART, F.; ALLEN, W. R. Biological functions and receptor binding activities of equine chorionic gonadotrophins. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 62, p. 527-36, 1981.

TEIXEIRA, A. A. Impacto da IATF na eficiência reprodutiva de vacas de leite de alta produção. São Paulo, Dissertação (Mestre em Ciências), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

VASCONCELOS, J. L.; SILCOX, M. R. W.; PURSLEY, J. R.; WILTBANK, M. C. Synchronization rate, size of the ovulatory follicle, and pregnancy rate after synchronization of ovulation beginning on different days of the estrus cycle in lactating dairy cows. **Theriogenology**, Woburn, v. 52, n. 6, p. 1067-1078, 1999.

VASCONCELOS, J. L. M.; ARAUJO, T. P. B.; CERRI, R. L. A. Ovulation and synchronization rates in Holstein and crossbred lactating dairy cows during two seasons when

receiving the PGF_{2α} injection on d 6 or 7 of the Ovsynch protocol. **Journal Dairy Science**, v. 83, p. 214, 2000.

WECKER, F.; THEDY, D. X.; GONSIOROSKI, A. V.; BORGES, J. B. S. Efeito da aplicação de eCG ou hCG 7 dias após a IATF no desenvolvimento das estruturas ovarianas e nas taxas de prenhez de vacas de corte. **Acta Sci Vet**, v. 40, p. 1072, 2012.

WILLIAMS, G. L.; GAZAL, O. S.; GUZMÁN VEGA, G. A.; STANKO, R. L. Mechanisms regulating suckling-mediated anovulation in the cow. **Animal Reproduction Science**, v. 42, p. 289-297, 1996.

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

YAVAS, Y.; WALTON, J. S. Postpartum acyclicity in suckled beef cows: a review. **Theriogenology**, v. 54, p. 25-55, 2000.