

UNIVERSIDADE FEDERAL DE RONDÔNIA
Campus **ROLIM DE MOURA**
DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA

CARLOS HENRIQUE DE ANDRADE OLIVEIRA

**INFLUÊNCIA DO DIÂMETRO FOLICULAR NO DIA DA IA
SOBRE A TAXA DE PREENHEZ EM VACAS SUBMETIDAS A IATF**

UNIVERSIDADE FEDERAL DE RONDÔNIA
Campus **ROLIM DE MOURA**
DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA

**INFLUÊNCIA DO DIÂMETRO FOLICULAR NO DIA DA IA
SOBRE A TAXA DE PREENHEZ EM VACAS SUBMETIDAS A
IATF.**

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

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Fundação Universidade Federal de Rondônia
Gerada automaticamente mediante informações fornecidas pelo(a) autor(a)

O482i Oliveira, Carlos Henrique de Andrade Oliveira.
INFLUÊNCIA DO DIÂMETRO FOLICULAR NO DIA DA IA SOBRE A TAXA DE PREENHEZ EM VACAS SUBMETIDAS A IATF / Carlos Henrique de Andrade Oliveira Oliveira. – Rolim de Moura, RO, 2018.

45 f.

Orientador(a): Prof.ª Dra. Evelyn Rabelo Andrade

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

1.IATF,. 2.Reprodução,. 3.Folículos. I. Andrade, Evelyn Rabelo. II. Título.

CDU 636.082.4

Bibliotecário(a) Nágila N. Chaves

CRB 6/363

CARLOS HENRIQUE DE ANDRADE OLIVEIRA

**INFLUÊNCIA DO DIÂMETRO FOLICULAR NO DIA DA IA SOBRE A TAXA
DE PREENHEZ EM VACAS SUBMETIDAS A IATF.**

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

Rolim de Moura, 03 de Dezembro de 2019

BANCA EXAMINADORA



Profa. Dra. Evelyn Rabelo Andrade Oliveira

Orientadora e Presidente da banca. Universidade Federal de Rondônia



Dr. Guilherme Horta Lima Marquezini

Membro da banca



Prof. Dr. Wilson Gomez

Membro da banca. Universidade Federal de Rondônia.

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho a toda minha família, amigos e a DEUS.

AGRADECIMENTOS

Agradeço imensamente a Deus e a Nossa Senhora da Aparecida por ter me dado força, e por ter chegado até aqui com êxito.

Agradeço à minha mãe Luciana, ao meu pai Carlos Alberto, ao meu irmão Gabriel aos meus avós, aos meus padrinhos “Rosinha” e “Nenzão” por toda a força e amparo nessa trajetória.

Agradecer à minha Família que sempre me deu muito amparo.

Agradecer aos meus amigos, Elson Alisson, Geraldo Júnior, Victor Guerreiro, Gibrann, James, Igor Emanuel, Jhennifer, Amanda, Juliana, bidy, Vaguinho, Marcos (Meia noite), Roger, Rhaul, Soffa, Wellington, Amanda irmã do palyto, Gideon, Brainer e Romer, Rafael, Wallyson Rafael Felipe, por sempre estar comigo nessa trajetória facilitando em muito o dia a dia.

Agradeço ao Drº Guilherme Horta Lima Marquezini, pelas oportunidades e ensinamentos que colaboraram grandiosamente o desenvolvimento com o conhecimento adquirido até então.

Agradecer aos meus amigos que residem em Vilhena minha cidade natal que sempre se fizeram presente Jackson, Luiz, Tales, Magno, André, Lucas Donato.

Agradecer os meus amigos do IFRO de Colorado do Oeste que apesar do tempo nossa amizade nunca enfraqueceu, Júlio, Diego, Sady, Esquerda, Dennis, Rubinho.

Agradecimento à empresa Norte Genética, por abrir suas portas para realização de meus estágios.

À minha professora e orientadora Evelyn Rabelo Andrade por acreditar em meu potencial e depositar sua confiança para o desenvolvimento de atividades extracurriculares.

A todos professores de Medicina Veterinária do Campus de Rolim de Moura.

EPIGRÁFE

Sempre, Orar, Crer e Acreditar.

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar a correlação entre diferentes tamanhos do diâmetro do folículo ovulatório (DFOL) no momento da IA sobre a taxa de prenhez de vacas submetidas ao protocolo de IATF. Foram avaliadas 452 vacas primíparas e múltiparas da raça Nelore (*Bos taurus indicus*) localizados em diferentes propriedades no estado de Rondônia. Todos os animais foram submetidos a exame clínico-ginecológico e ultrassonografia transretal, sendo considerados aptos a participar da avaliação, os animais que não apresentassem, no momento da avaliação, anormalidades do trato reprodutivo. A média entre as medidas verticais e horizontais do diâmetro folicular (DFOL) foi mensurada, através de ultrassonografia (US) transretal, no dia da IATF (D11). O diagnóstico gestacional foi realizado por US 30 dias após a IATF. Os animais foram escaneados no D11 e divididos em três grupos para a análise de diâmetro folicular e prenhez: Folpequeno: animais que apresentaram folículos ≤ 12 mm; Folmédio: animais que apresentaram folículos $>12,01$ mm e ≤ 15 mm; Folgrande: animais que apresentaram folículos $\geq 15,01$ mm. O escore de condição corporal (ECC) foi mensurado por sistema baseado em avaliação visual das reservas corporais em pontos específicos, no D11 usando uma escala de 1 a 5. O modelo para a análise estatística para a variável resposta diagnóstico de gestação (DG) incluiu as variáveis ECC, presença ou não de cio, diâmetro folicular no D11. Para a variável resposta contínua DFOL foram incluídas no modelo as variáveis categóricas DG, cio, ECC, e suas interações. Foi realizada análise de variância utilizando o procedimento Glimmix onde as diferenças foram estabelecidas quando o valor de P foi $< 0,05$, e a tendência foi considerada quando P foi $> 0,05$ e $\leq 0,1$. Os animais que tornaram-se gestantes (182 vacas 40,52%) apresentaram média do DFOL superior ($P=0,01$) ao DFOL das fêmeas não gestantes ($12,65 \pm 0,21$ vs $11,99 \pm 0,17$ mm para gestantes e não gestantes respectivamente). Os animais que apresentaram DFOL ≤ 12 mm, $>12,01$ mm e ≤ 15 mm, $\geq 15,01$ mm observa-se diferença estatística ($P < 0,05$) quando correlacionado com a positividade de prenhez, na comparação entre o grupo ≤ 12 mm e $\geq 15,01$ mm, observou-se diferença significativa ($P < 0,05$), quando correlacionados com a prenhez e na comparação entre os grupos $\geq 12,01$ mm e ≤ 15 mm e $\geq 15,01$ mm não foi observada diferença estatística ($P > 0,05$) quando comparados com a positividade de prenhez. Os resultados obtidos neste estudo não apontam diferença estatística entre comparação de ECC, com a taxa de prenhez ($P > 0,05$). Para a comparação de presença de cio no momento de inseminação com taxa de prenhez não foi observada diferença estatística entre essas variáveis ($P = 0,3489$). Entre as duas simulações a primeira se tornou mais viável pois demanda de um menor tempo, mão de obra e conseguiu ser superior na taxa de prenhez em 2,5% e 7,42% mais rentável. Conclui-se de que a presença de um DFOL no momento da inseminação é um indicador de melhor resposta ovariana e taxa de prenhez de fêmeas submetidas a programas de IATF desta forma deve ser utilizada alternativas no protocolo IATF para induzir o crescimento do diâmetro folicular incrementando a eficiência reprodutiva e proporcionando uma melhor relação custo-benefício para o produtor que adota esta biotecnologia.

Palavras-chave: IATF, Reprodução, Folículos

ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the correlation between different sizes of the diameter of the ovulatory Folliculo (dfol) at the time of AI on the pregnancy rate of cows submitted to the IATF protocol. We evaluated 452 Nelore (*Bos Taurus indicus*) primiparous and multiparous cows located in different properties in the state of Rondônia. All animals were submitted to clinical-gynecological examination and transrectal ultrasonography, being considered able to participate in the evaluation, animals that did not present, at the time of evaluation, abnormalities of the reproductive tract. The mean between vertical and horizontal measurements of the follicular diameter (dfol) was measured by transrectal ultrasonography (US) on the day of the IATF (D11). The gestational diagnosis was performed for 30 days after the IATF. The animals were scanned in the D11 and divided into three groups to analyze the follicular diameter and pregnancy: Folpequeno: Animals that presented follicles ≤ 12 mm; Folmiddle: Animals that presented follicles $> 12, 01$ mm and ≤ 15 mm; Folgrande: Animals that presented follicles ≥ 15.01 mm. The body Condition score (ECC) was measured by a system based on visual assessment of body reserves at specific points in the D11 using a scale of 1 to 5. The model for the statistical analysis for the variable Pregnancy Response (DG) included the variables ECC, presence or absence of estrus, follicular diameter in D11. For the continuous response variable dfol, the categorical variables DG, CIO, ECC, and their interactions were included in the model. Analysis of variance was performed using the Glimmix procedure where the differences were established when the P value was < 0.05 , and the trend was considered when P was > 0.05 and ≤ 0.1 . The animals that became pregnant (182 cows 40.52%) had an average of the superior dfol (P = 0.01) to the dfol of the non-pregnant females ($12,65 \pm 0.21$ vs $11.99 \pm 0, 17$ mm Pregnant and non-pregnant women, respectively). The animals that presented dfol ≤ 12 mm, $> 12, 01$ mm and ≤ 15 mm, $\geq 15, 01$ mm there was a statistical difference ($p < 0.05$) when correlated with the positivity of pregnancy, in the comparison between the group ≤ 12 mm and $\geq 15, 01$ mm, there was a significant difference (P < 0.05), When correlated with pregnancy and in the comparison between groups $\geq 12, 01$ mm and ≤ 15 mm and $\geq 15, 01$ mm No statistical difference was observed (P > 0.05) when compared with pregnancy positivity. The results obtained in this study do not indicate statistical difference between the comparison of ECC, with the pregnancy rate (P > 0.05). For the comparison of Estrus hotspot at the time of insemination with pregnancy rate, no statistical difference was observed between these variables (P = 0,3489). Between the two simulations the first one became more viable because it demands a shorter time, labor and managed to be higher in the pregnancy rate in 2.5% and 7.42% more profitable. It is concluded that the presence of a dfol At the time of insemination is an indicator of better ovarian response and pregnancy rate of females submitted to IATF programs in this way should be used alternatives in the IATF protocol to induce the growth of the follicular diameter by increasing the efficiency Reproductive and providing a better cost-benefit ratio for the producer who adopts this biotechnology.

Key words: IATF, Reproduction, Follicles

LISTAS DE TABELAS

Tabela 1- Média e erro padrão (S) do diâmetro do maior folículo no momento da IATF (DFOL) em fêmeas Nelore não gestantes e gestantes	22
Tabela 2. Comparação entre os grupos de animais sobre a taxa de prenhez....	23
Tabela 3. Comparação entre escore de condição corporal (ECC) e taxa de prenhez.....	24
Tabela 4. Relação entre a presença de cio no momento da inseminação comparada a taxa de prenhez.....	26
Tabela 5. Preço médio para o protocolo de IATF e a mão de obra de um veterinário qualificado para a área.....	26
Tabela 6. Resultados obtidos após uma estação de 93 dias Grupo 3 IATF controle.....	29
Tabela 7. Grupo controle (3 IATF)	29
Tabela 8 Resultados obtidos após uma estação de 107 dias.....	31

LISTA DE ABREVIATURAS

BE – Benzoato de estradiol
CIDR – dispositivo intravaginal de progesterona
CL – Corpo lúteo
E2 – Estradiol
ECC - Escore de condição Corporal
eCG – gonadotrofina cariônica equina
ECP – Cipionato de estradiol
FSH – Hormônio folículo estimulante
GnRH – Hormônio liberador de gonadotrofinas
IATF – Inseminação artificial em tempo fixo
ML – Mililitros
LH – Hormônio luteinizante
mg – miligramas
Ng/ml – nanograma por mililitro
P4 – Progesterona
PGF2a – Prostaglandina F2 alfa
PIB – Produto interno bruto

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	7
2. REVISÃO DE LITERATURA	8
2.1 Aspectos gerais da pecuária Rondônia	8
2.2 Fisiologia reprodutiva da fêmea bovina	9
2.3 Oogênese e foliculogênese em ruminantes.....	10
2.4 Atresia folicular.....	13
2.5 Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF)	13
2.6 Hormônios utilizados na IATF	16
2.6.1 Progestágenos.....	16
2.6.2 Estrógenos	17
2.6.3 Prostaglandina	17
2.6.4 Gonadotrofina coriônica equina (eCG)	18
3. OBJETIVOS.....	19
3.1 Objetivo Geral:	19
3.1 Objetivos específicos:.....	19
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	19
4.1 Animais.....	19
4.2 Delineamento amostral	20
4.3 Delineamento estatístico.....	21
4.4 Aspectos Éticos.....	22
5. Resultados e Discussões	22
6. Conclusão	32
7. Referências	32

1. INTRODUÇÃO

O Brasil possui 219,10 milhões de cabeças de gado distribuídos em 164,70 milhões de hectares, com taxa de ocupação de 1,33 cabeça por hectare (ABIEC, 2017). O extenso território é um dos fatores que ajudam o país ser competitivo nos cenários de produção e exportação, tendo em vista que os custos são reduzidos pela dieta bovina baseada em forragens, diferente de outros países em que a dieta é composta em sua maioria por grãos (ANUALPEC, 2011).

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). 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.

A técnica de IA é 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, tratamentos hormonais desenvolvidos para controlar a função folicular e lútea têm permitido o controle da sincronização do momento da ovulação, possibilitando a realização da IA sem a necessidade de detecção de estro (BÓ et al., 2002).

A Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF), é uma técnica que promove a sincronização da ovulação das fêmeas bovinas após a administração de medicamentos em dias predeterminados. Desta forma, é possível sincronizar um lote de vacas paridas ou novilhas e inseminá-las todas no mesmo dia, sem a necessidade de observação de cio.

Existem dois tipos de protocolos de IATF, os baseados no Hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), e os baseados em Progesterona (P4), amplamente utilizados no gado zebuino brasileiro. Sua eficiência está alicerçada na atresia folicular causada pela administração de benzoato de estradiol (BE) e P4 no primeiro dia do protocolo, e na

subsequente emergência de uma nova onda de crescimento folicular homogênea em todas as fêmeas, visando a ovulação de todos os animais no mesmo dia.

No entanto a resposta dos animais ao protocolo na maioria dos rebanhos possui variação individual, levando diferentes animais de um mesmo lote a apresentarem folículos de diâmetros variados no dia da IA (SILVEIRA et al., 2014). Esta variação resulta na divergência do tempo de ovulação após a IA entre os animais, além disso, os folículos menores tendem a produzir um corpo lúteo (CL) menor, o que confere baixa taxa de prenhez; já os folículos muito grandes tendem a ovular um oócito velho, também resultando em baixa taxa de gestação (PERRY, et al., 2005).

O diâmetro do folículo ovulatório está relacionado com maiores concentrações de estradiol, maior probabilidade de ovulação e taxa de concepção (SÁ FILHO et al., 2010). VASCONCELOS et al., (2001) relatam que a ovulação de folículos de menor diâmetro pode representar a formação de corpo lúteo de menor volume e, conseqüentemente, baixa capacidade de produzir P4 e insuficiente desenvolvimento embrionário, promovendo assim, uma redução na fertilidade.

Baseado nisso o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do diâmetro do maior folículo no momento da IATF sobre a taxa de prenhez de vacas submetidas a um protocolo de sincronização do estro e ovulação.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aspectos gerais da pecuária Rondônia

A pecuária de corte representa a maior parte do agronegócio brasileiro, gerando faturamento de mais de R\$ 380 bilhões/ano, sendo responsável por 30% do PIB (Produto Interno Bruto) (ABIEC, 2015). Com aproximadamente 215,2 milhões de cabeças de bovinos (IBGE, 2016), o Brasil possui o maior rebanho comercial do mundo.

O crescimento populacional acompanha o crescimento do padrão de consumo de carne do mercado interno assim sendo 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).

A crescente demanda por carcaças de qualidade pressiona o melhoramento do rebanho e de técnicas que venham impactar na sua produtividade, e tornar a atividade mais eficiente e competitiva. Para isso, torna-se necessário um rebanho melhorado geneticamente, com manejo eficiente de todas as categorias, capacitação da mão-de-obra, utilização do gerenciamento de informações, forragens de boa qualidade, estação de monta bem delimitada, calendário de vacinações, descarte dos animais inférteis e realização do exame andrológico dos touros. Melhorias nestes fatores elevam a pecuária a uma atividade cada vez mais empresarial (SABELLA, 2008).

2.2 Fisiologia reprodutiva da fêmea bovina

As fêmeas bovinas, apresentam estros em intervalos regulares de 21 dias e são denominadas de poliéstricas anuais. Durante o ciclo estral ocorre uma sequência de eventos que se repete até o bloqueio da luteólise pela gestação. A ocorrência do estro é intitulada como dia 0, sendo que a ovulação só ocorre cerca de 10 a 12 horas após o término do cio, ou seja, no dia 1 (HAFEZ, 2003).

O ciclo estral pode ser dividido em quatro fases, sendo o pró-estro com duração de aproximadamente 3 dias, estro de 6 a 18 horas, metaestro 2 dias e diestro 15 dias. É um processo dinâmico, havendo crescimento folicular constante durante todas as etapas (GONÇALVES et al., 2000; MORAES et al., 2002).

A fase folicular tem início após a luteólise, promovida pela ação da prostaglandina $F2\alpha$ ($PGF2\alpha$), com consequente queda nos níveis sanguíneos de progesterona ($P4$), abaixo de 1 ng/ml, entre 12 e 36 horas após o início da regressão do corpo lúteo (CL), seja ela natural ou induzida (DIELEMAN et al., 1987).

As quantidades crescentes de estradiol secretadas pelos folículos ovarianos induzem o estro e através de retroalimentação positiva no eixo hipotalâmico-hipofisário, resultando em 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).

O estro é um complexo de sinais fisiológicos e comportamentais que 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 que tem implicações quando na indução de estro, notadamente durante períodos de anestro (MORAES et al., 2002).

No período de 21 dias, os eventos ovarianos são dinâmicos e caracterizados por ondas foliculares, geralmente em número de 2 a 3 ondas, 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 subordinados entram em atresia (divergência folicular) (GONÇALVES et al., 2000).

2.3 Oogênese e foliculogênese em ruminantes

A formação e diferenciação das células germinativas primordiais (CGP) até a formação do oócito haploide fecundado é intitulado oogênese. A oogênese inicia-se antes do nascimento, mas somente alguns oócitos conseguem completar este processo meses ou anos mais tarde no animal adulto, após a fecundação (FIGUEIREDO et al., 2003). O processo de formação do oócito envolve sete etapas: (1) produção das células germinativas primordiais (CGP); (2) migração das CGP para as gônadas; (3) colonização das gônadas pelas CGP; (4) diferenciação das CGPs em oogônias; (5) proliferação das oogônias; (6) início da meiose das oogônias e; (7) parada da meiose no estágio de diplóteno da prófase I (VAN DEN HURK, ZHAO, 2005).

Durante o início do desenvolvimento fetal, ocorre a migração das CGP do saco vitelínico para a região das gônadas primitivas (VAN DEN HURK, ZHAO, 2005). Em seguida, as CGP multiplicam-se e transformam-se em oogônias, as quais possuem uma alta atividade mitótica e transcricional (EPPIG et al., 2004). Ocorre então a replicação do DNA das oogônias e estas entram em meiose, tornando-se oócitos. Estes começam a primeira divisão meiótica, passando pelos estádios da prófase I (leptóteno, zigóteno e paquíteno), permanecendo no estágio de diplóteno ou vesícula germinativa até à puberdade. Neste período, o pico do Hormônio Luteinizante (LH) induz o oócito a retomar a meiose e então, ocorre o rompimento da vesícula germinativa, progressão para metáfase I, anáfase I e telófase I, expulsão do primeiro corpúsculo polar e formação do oócito secundário. Inicia-se a seguir a segunda divisão meiótica, em que o núcleo do

oócito evolui até o estágio de metáfase II, quando ocorre a segunda interrupção da meiose. O oócito permanece neste estágio até ser fecundado pelo espermatozoide, quando então, completa a meiose e expulsa o segundo corpúsculo polar, formando o oócito haploide fecundado (MOORE, PERSAUD, 1994).

A foliculogênese pode ser definida como o processo de formação, crescimento e maturação folicular, iniciando-se com a formação do folículo primordial e terminando com o estágio de folículo pré-ovulatório (VAN DEN HURK, ZHAO, 2005).

A foliculogênese pode ser dividida nas seguintes fases de desenvolvimento: (1) início do desenvolvimento de folículos primordiais (também conhecido como ativação folicular) e formação dos folículos primários, (2) transição de folículos primários para secundários, (3) crescimento de folículos secundários e formação de folículos antrais, e (4) crescimento e diferenciação de folículos antrais e formação de folículos pré-ovulatórios (SILVA, 2005).

O folículo é considerado a unidade morfológica e funcional do ovário mamífero, cuja função é proporcionar um ambiente ideal para o crescimento e maturação do oócito (CORTVRINDT, SMITZ, 2001), bem como produzir hormônios e peptídeos (BARNETT et al., 2006). O folículo ovariano é composto por um oócito circundado por células somáticas (granulosa e tecais) (MAGOFFIN, 2005). De acordo com o grau de evolução, os folículos podem ser classificados em pré-antrais ou não cavitários (primordiais, transição, primários e secundários) e antrais ou cavitários (terciários e pré-ovulatórios) (FIGUEIREDO et al., 2003).

Os folículos primordiais são constituídos por um oócito (no estágio de diplóteno da prófase I) circundado por uma camada de células da pré-granulosa pavimentosa (SILVA, 2005). A zona pelúcida nesse estágio ainda não é observada, verificando-se apenas uma justaposição do oócito e células da granulosa, sem nenhuma junção específica (LUCCI et al., 2001). Uma vez formados, os folículos primordiais representam o pool de células germinativas disponíveis durante toda a vida reprodutiva (EPIFANO, DEAN, 2002). É importante ressaltar que os folículos primordiais correspondem a um total de 90% de todos os folículos presentes no ovário (SMITZ, CORTVRINDT, 2002).

Os folículos primordiais permanecem quiescentes até a ativação para o grupo de folículos em crescimento (VAN DEN HURK & ZHAO, 2005). Os mecanismos seletivos pelos quais alguns folículos crescem e outros permanecem quiescentes ainda não são

completamente compreendidos (EPIFANO, DEAN, 2002). Sabe-se que o desenvolvimento folicular inicial, incluindo a transição de folículo primordial para folículo primário (ativação folicular) é independente de gonadotrofinas e que é regulado, principalmente, por fatores intra-ovarianos (VAN DEN HURK, ZHAO, 2005).

O início do crescimento folicular é caracterizado pelo início da proliferação das células da granulosa e mudança na sua morfologia, bem como pelo crescimento do oócito (BARNETT et al., 2006). Após a ativação, os folículos primordiais gradualmente adquirem células da granulosa de morfologia cúbica, tornam-se folículos de transição (oócito circundado por uma camada de células da granulosa pavimentosas e cúbicas) e, em seguida, folículos primários, quando são circundados por uma única camada de células da granulosa cúbicas (BARNETT et al., 2006).

Os folículos secundários são formados quando duas a três camadas de células da granulosa estão presentes, as células da teca podem ser visualizadas em torno da membrana basal e a zona pelúcida pode ser identificada (VAN DEN HURK e ZHAO, 2005). As células da teca são células endócrinas que desempenham uma função importante na fertilidade, pois sintetizam o hormônio esteróide (MAGOFFIN, 2005).

Com a proliferação intensa das células da granulosa, ocorre a formação de uma cavidade repleta de líquido folicular, entre as camadas de células granulosa, denominada antra. A partir deste estágio, os folículos passam a ser denominados terciários ou antrais. O fluido antral pode servir como uma importante fonte de substâncias regulatórias derivadas do sangue ou de secreções das células foliculares, gonadotrofinas, esteróides, fatores de crescimento, enzimas e lipoproteínas. Durante o desenvolvimento folicular, a produção de fluido antral é intensificada pelo aumento da vascularização folicular e permeabilidade dos vasos sanguíneos, os quais estão fortemente relacionados com o aumento do folículo antral (VAN DEN HURK, ZHAO, 2005).

O desenvolvimento dos folículos antrais é caracterizado por uma fase de crescimento, recrutamento, seleção e dominância (VAN DEN HURK, ZHAO, 2005), sendo a formação de folículos pré-ovulatórios um pré-requisito para a ovulação e formação do corpo lúteo, bem como para a manutenção da fertilidade.

O aumento das concentrações plasmáticas do FSH constitui o estímulo necessário para o recrutamento e a emergência da onda folicular (ADAMS et al., 1992). Em espécies monovulatórias, apenas um folículo é selecionado dentre os recrutados para

continuar a crescer e diferenciar-se em folículo ovulatório, enquanto os demais têm como destino a atresia. O folículo selecionado é conhecido como folículo dominante e suprime ativamente o crescimento dos subordinados pela secreção de estradiol e inibina (FORTUNE et al., (2001); GINTHER et al., (1996). Os folículos são considerados dependentes de FSH até a ocorrência da dominância, após o que eles se tornam dependentes do LH (FORTUNE et al., 2001). A expressão de receptores do LH (LHR) em células da granulosa está associada à dominância folicular (BAO, GARVERICK, 1998).

2.4 Atresia folicular

Os folículos pré-antrais representam 90% da população folicular e são responsáveis pela renovação contínua de folículos antrais no ovário. Entretanto, a grande maioria dos folículos pré-antrais não chega até a ovulação, mas sofre um processo conhecido por atresia folicular (KATSKA-KSIAZKIEWICK, 2006). A atresia é um fenômeno natural que é comum a todas as espécies domésticas, podendo ocorrer em qualquer estágio do desenvolvimento folicular, sendo mais comum nos estádios antrais mais avançados (GLAMOCLIJIA et al., 2005). Vários são os fatores que podem influenciar o processo de atresia, como idade, ciclo reprodutivo, gestação, hipofisectomia, ovariectomia unilateral, hormônios, nutrição e isquemia (INGRAM, 1962).

A atresia pode ocorrer por via degenerativa e/ou apoptótica (FIGUEIREDO et al., 2003). A isquemia é uma das principais causas do desencadeamento da morte celular por degeneração (FARBER, 1982).

O processo de apoptose é altamente dependente da expressão de genes (BARNETT et al., 2006). O balanço estabelecido entre os produtos dos genes pró-apoptóticos e anti- apoptóticos pode determinar a morte celular (HURWITZ, ADASHI, 1992).

2.5 Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF)

A 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). Em todo o mundo, existem relatos que indicam a baixa taxa de serviços em bovinos, devido principalmente, a comprometimentos na eficiência da detecção de estros.

Este problema é ainda mais destacado em rebanhos *Bos indicus* ou seus cruzamentos, devido às particularidades no comportamento reprodutivo, como cio de curta duração e elevada porcentagem de manifestação noturna (BÓ et al., 2003; BARUSELLI, 2004).

Para solucionar estes obstáculos, foi desenvolvida a biotécnica de 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 e no número de doses de sêmen comercializadas no período (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).

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). As demais fêmeas foram inseminadas 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).

Basicamente são utilizados dois tipos de protocolo hormonal para IATF: protocolos a base de Hormônio liberador de gonadotrofinas (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 um protocolo específico pelos profissionais da área está relacionada com a disponibilidade dos hormônios em cada país, ao custo destes hormônios e 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 $2,5 \pm 0,2$ 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).

2.6 Hormônios utilizados na IATF

2.6.1 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).

2.6.2 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: 17 β estradiol, BE, VE e o 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).

2.6.3 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 PGF 2α 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 PGF 2α , 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 α depende da fase de desenvolvimento do folículo no momento da aplicação.

2.6.4 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 prenhe (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. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral:

Avaliar a relação entre o diâmetro folicular e a taxa de prenhez de fêmeas bovinas submetidas ao protocolo de IATF.

3.1 Objetivos específicos:

- Correlacionar a taxa de prenhez com o escore de condição corporal
- Avaliar a taxa de prenhez em vacas que demonstraram ou não cio antecedendo a IA.
- Avaliar a taxa de prenhez e custo benefício da inseminação artificial em vacas que apresentam folículos considerados pequenos no momento da IA.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Animais

Foram utilizadas 452 vacas paridas primíparas e múltíparas da raça Nelore (*Bos taurus indicus*). Os animais se encontravam em diferentes propriedades distribuídas no estado de Rondônia, Brasil; as fêmeas eram mantidas sob regime extensivo de pastagem (*Brachiara brizantha*) e tinham acesso a água e sal mineral *ad libitum*.

4.2 Delineamento amostral

Previamente ao início do protocolo de IATF os animais foram submetidos a exame clínico-ginecológico e ultrassonografia transretal; para realização da ultrassonografia foi utilizado um aparelho (Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd China), Mindray dp 2200 com transdutor linear com frequência de 7,5MHz. Foram considerados aptos a participar do experimento os animais que não apresentassem, no momento da avaliação, anormalidades do trato reprodutivo.

As fêmeas foram submetidas ao protocolo de sincronização apresentado a seguir: no primeiro dia (D0) 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 (D7) do protocolo receberam 2,5 ml 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 ml de cipionato de estradiol (E.C.P., Pfizer Saúde Animal, São Paulo, SP, Brasil) e 1,5 ml de Gonadotrofina coriônica equina; no D11 do protocolo, as vacas foram inseminadas.

Foi realizada a avaliação no D11 através de ultrassonografia transretal afim de mensurar o diâmetro do folículo ovulatório (DFOL). A medida final do diâmetro usada foi resultado da média entre as medidas horizontal e vertical do diâmetro folicular. O diagnóstico de gestação (DG) foi realizado por ultrassonografia 30 dias após a data das inseminações. A presença da vesícula embrionária com um embrião viável (batimento cardíaco) foi considerada como diagnóstico de gestação positivo.

Os animais foram escaneados no D11 e divididos em três grupos para a análise de diâmetro folicular e prenhez: folículos pequenos (Folpequeno): animais que apresentaram folículos ≤ 12 mm; 2) folículos médios (Folmédio): animais que apresentaram folículos $\geq 12,01$ mm e ≤ 15 mm; 3) folículos grandes (Folgrande): animais que apresentaram folículos $\geq 15,01$ mm.

O escore de condição corporal foi mensurado por um sistema baseado em avaliação visual das reservas corporais em pontos específicos, no D11 usando uma escala de 1 a 5 (1 = muito magro, 5 = obeso); (AYRES et al., 2009).

A análise de custo benefício da IATF para vacas inseminadas independente do diâmetro do DFOL ou vacas apenas inseminadas se o DFOL for > 12 mm, utilizou-se uma

simulação de inseminação em um sistema controle de 3 IATF consecutivas, onde todas as vacas são inseminadas, sem repasse com touros. Cada protocolo tinha duração de 11 dias e o DG era realizado 30 dias após a IATF. Foram considerados os valores de taxa de prenhez encontrado nas observações deste trabalho (46% e 30% para vacas com DFOL $\geq 12,01$ mm e ≤ 12 mm respectivamente. Para o grupo comparativo, foi utilizado a taxa de prenhez de 46% para vacas inseminadas, porém na simulação apenas vacas com DFOL ≥ 12 mm foram inseminadas, sendo as não inseminadas imediatamente ressincronizadas utilizando-se o mesmo protocolo. O valor médio por prenhez foi utilizado valores comerciais recentes de R\$ 1000,00 entre macho e fêmea. O valor do protocolo foi considerado R\$ 45,00 e o valor do sêmen de R\$ 15,00 totalizando R\$60,00 por animal. Quando vacas eram protocoladas e não inseminadas (simulação do grupo comparativo), foi descontado o valor do sêmen relativo ao número de vacas não inseminadas. Em resumo, para o grupo controle todas as vacas foram inseminadas e diagnosticadas 30 dias após a IA. Vacas vazias eram ressincronizadas imediatamente após o DG. Três inseminações foram realizadas nesse grupo. Para o grupo comparativo, todas as vacas foram protocoladas e apenas as com DFOL $\geq 12,01$ mm eram inseminadas. As não inseminadas eram ressincronizadas imediatamente no dia da IATF. As vacas inseminadas eram diagnosticadas 30 dias após a IATF e as vazias eram ressincronizadas imediatamente. A duração da estação de monta (EM) simulada para o grupo controle foi de 93 dias e para o grupo comparativo de 107 dias, considerando o dia da última IATF o último dia da EM.

4.3 Delineamento estatístico

O modelo para a análise estatística para a variável resposta diagnóstico de gestação (DG) incluiu as variáveis ECC, presença ou não de cio, categoria do diâmetro folicular no D11 e suas interações. Para a variável resposta contínua DFOL foram incluídas no modelo as variáveis categóricas DG, cio, ECC, e suas interações.

Foi realizado análise de variância utilizando o procedimento Glimmix (SAS, University edition) para todas as análises sendo considerado variável binomial o diagnóstico de gestação e contínua para o diâmetro folicular. A diferença entre os valores foi avaliada utilizando a ferramenta Pdiff onde as diferenças estatísticas foram estabelecidas quando o valor de P foi $< 0,05$, e a tendência foi considerada quando P foi $> 0,05$ e $\leq 0,1$.

4.4 Aspectos éticos

O presente projeto de pesquisa foi realizado de acordo com os princípios éticos na experimentação animal, adotado pelo colégio brasileiro de experimentação (COBEA) e aprovado pelo comitê de ética em uso animais (CEUA) da Fundação universidade Federal de Rondônia (UNIR), sob o número de protocolo 0036/2018.

5. Resultados e Discussões

No presente trabalho, observamos que 63% das vacas apresentaram DFOL $\geq 12,01$ mm obtendo taxa de prenhez de 46% conforme descrito anteriormente, valores estes utilizados na simulação. No dia da IATF, o diâmetro do maior folículo, considerado folículo dominante (DFOL), foi mensurado em 452 vacas com auxílio do ultrassom. Os animais que se tornaram gestantes (182 vacas; 40,52%) apresentaram média do diâmetro folicular superior ($P=0,01$) ao diâmetro dos folículos das fêmeas não gestantes ($12,65 \pm 0,21$ vs $11,99 \pm 0,17$ mm, para gestantes e não gestantes, respectivamente). (Tabela 1)

Tabela 1- Média e erro padrão (S) do diâmetro do maior folículo no momento da IATF (DFOL) em fêmeas Nelore não gestantes e gestantes

Variáveis	Número de animais	Diâmetro do Folículo Ovulatório (DFOL) média \pm mm
Gestantes	182	12,65 \pm 0,21mm ^a
Não gestantes	270	11,99 \pm 0,17mm ^b

Valores com sobrescrito com letras diferentes, diferem estatisticamente ($P \leq 0,05$).

Neste estudo, nos animais que apresentaram DFOL $\leq 12\text{mm}$ e $\geq 12,01\text{mm} \leq 15\text{mm}$ se observou diferença estatística ($P < 0,05$) quando correlacionado com a positividade de prenhez em comparação com os grupos $\leq 12\text{mm}$ e $\geq 15,01\text{mm}$. Também foi observada diferença estatística ($P < 0,05$) quando comparados com a prenhez e na comparação entre os grupos $\geq 12,01\text{mm} \leq 15\text{mm}$ e $\geq 15,01\text{mm}$ não foi observada diferença ($P > 0,05$) quando comparados com a positividade de prenhez. (Tabela 2)

Tabela 2. Comparação entre os grupos de animais sobre a taxa de prenhez.

Categorias (DFOL)	Resultado estatístico ($Pr > t $)
FOL $\leq 12\text{mm}$	30,36% ($P=0,0354^a$)
FOL $\geq 12,01\text{mm}$ a $\leq 15\text{mm}$	46,35% ($P=0,0359^b$)
FOL $\geq 15,01\text{mm}$	45,65% ($P=0,051^b$)

Valores nas colunas com sobrescritos de letras diferentes diferem estatisticamente ($P \leq 0,05$). Teste utilizado análise de variância.

Resultados semelhantes foram descritos por PERRY et al., (2007) onde observaram que novilhas de corte que ovularam folículos menores que 10,7mm de diâmetro apresentaram menor taxa de concepção comparada com novilhas que ovularam folículos maiores ou iguais a 12,8mm. Também já foi relatado que fêmeas que ovulam pequenos folículos apresentaram uma reduzida concentração de estradiol no momento da ovulação comparada com fêmeas que ovulam folículos de maior diâmetro (VASCONCELOS et al., 2000; ATKINS et al., 2010). Adicionalmente, maiores concentrações séricas de estradiol próximo a IA influencia positivamente a fertilização por meio da redução do pH uterino, modificando o transporte dos espermatozoides e aumentando a longevidade dos mesmo até o momento da ovulação (PERRY; PERRY, 2008).

Quanto maior o diâmetro do folículo ovulatório maior a capacidade ovulatória desse folículo, o que pode justificar a maior taxa de concepção em fêmeas com maior diâmetro folicular. A capacidade ovulatória do folículo em um protocolo hormonal de IATF depende do tamanho folicular quando o indutor da ovulação é aplicado, sendo essa uma das causas da grande variação de resposta aos protocolos hormonais GIMENES et al.,(2008). Esses autores verificaram que a capacidade de um folículo ovular é adquirida quando o DFOL atinge entre 7,0 a 8,4mm de diâmetro em novilhas *Bos taurus indicus* e aumenta significativamente quando o folículo alcança 8,5mm de diâmetro. Estes resultados estão de acordo com os descritos por Sá Filho et al.,(2010), em que o diâmetro do maior folículo ovariano determinou significativa influência sobre a taxa de prenhes à IATF, porquanto à medida em que as dimensões do folículo eram maiores, maior era a taxa de prenhes. A presença de folículos ovulatórios de menor tamanho contribuiu para falhas e atrasos na ovulação, menor diâmetro do corpo lúteo e, conseqüentemente, baixa capacidade esteroidogênica (CARVALHO et al., 2008).

No intuito de avaliar o efeito da condição corporal (CC) sobre a taxa de prenhez o escore de condição corporal (ECC) foi mensurado independentemente do peso corporal ou do tamanho (altura, perímetro torácico, comprimento) em uma escala de 1 a 5 onde (1) animal foi considerado muito magro e (5) animal considerado obeso. Os resultados obtidos neste experimento não apontaram diferença estatística ($P>0,05$), como descrito na Tabela 3.

Tabela 3. Comparação entre escore de condição corporal (ECC) e taxa de prenhez

Escore de condição corporal	Taxa de Prenhez (%)
2,25	100% ^a
2,5	50% ^a
2,75	39,58% ^a
3	43,12% ^a
3,25	51,28% ^a
3,5	45,27% ^a
3,75	38,78% ^a
4	40,91% ^a
4,25	27,27% ^a
4,5	50% ^a

Valores nas colunas com sobrescritos de letras diferentes diferem estatisticamente ($P \leq 0,05$), Resultado anova ($P=0,34$)

A literatura mostra que o déficit ou excesso de reservas corporais influencia significativamente a eficiência reprodutiva do animal. No tocante à subnutrição, sabe-se que esta tem efeito prejudicial na reprodução, atuando sobre hipotálamo, hipófise e ovários reduzindo a secreção e frequência dos pulsos de LH, a sensibilidade do hipotálamo ao estradiol e a taxa de ovulação (ZIEBA et al., 2005). A restrição alimentar moderada ou crônica a longo prazo ainda pode resultar em uma redução gradual na taxa de crescimento do folículo dominante (DF), máximo diâmetro e persistência (DISKIN et al., 2003).

Animais obesos por sua vez possuem altos níveis de leptina, onde a mesma pode ter efeito inibitório ou estimulatório sobre a liberação de GNRH e este efeito pode ser dependente da dose, meio de cultura, espécie ou sexo.

Hipoteticamente, uma vez encontrado o nível mínimo de leptina, é como um gatilho para iniciar a secreção de gonadotrofinas no hipotálamo-hipófise, enquanto altos índices de leptina não têm efeito.

Sá Filho et al., (2009) analisaram fatores que interferem nos resultados de IATF, e observaram que em vacas Nelore paridas, o ECC ao início do protocolo interferiu na taxa de prenhez, com 42,5%; 49,6% e 53,2% para os ECC 2,5; 3,0 e 3,5 (escala de 1 a 5), respectivamente. Peres (2016), também trabalhando com vacas Nelore, identificou taxa e prenhez de 44%, 55% e 56%, para ECC 2,5; 3,0 e 3,25 no D0 da IATF. O Grupo Especializado em Reprodução Aplicada ao Rebanho (GERAR, 2017), analisando dados de 3 anos consecutivos (2015 a 2017) de 1.064.679 multíparas zebuínas submetidas à IATF, encontraram taxa de prenhez de 51,3%, 51,0% e 50,5% para ECC 2,5 no D0 de IATF; 54,2%, 54,3% e 54,4% para ECC 3,0; e 56,1%, 55,4% e 56,7% para ECC 3,5, para os anos 2015, 2016 e 2017, respectivamente. Estes dados demonstram a possibilidade de um padrão de resposta ao efeito da condição corporal na reprodução.

Perry et al. (1991) compararam a resposta reprodutiva pós-parto de vacas *Bos taurus* que sofreram restrição alimentar pré-parto (70% das exigências nutricionais) com as que receberam excesso nutricional após parirem (150% das exigências). Esses animais que sofreram restrição alimentar apresentaram longo período de anestro, só retornando à ciclicidade após recuperarem a condição corporal. Em situação contrária, com boa

nutrição pré-parto e restrição após, algumas vacas ovularam cedo, antes que perdessem muito suas reservas corporais, enquanto o restante não ovulou.

Na comparação da taxa de prenhez entre os grupos que apresentaram ou não cio no momento da inseminação não foi observada diferença estatística ($P=0,3489$) onde os animais que não apresentaram cio no momento da inseminação obtiveram taxa de prenhez de 51,67% e animais que apresentaram cio no momento da inseminação 58,37% (Tabela 4).

Tabela 4. Relação entre a presença de cio no momento da inseminação comparada a taxa de prenhez.

Presença de cio no momento da IA	Taxa de prenhez(%)
Ausência de cio	51,67 ^a
Presença de cio	58,37 ^a

Valores nas colunas com sobrescritos de letras diferentes diferem estatisticamente ($P \leq 0,05$). teste realizado pela análise de variância.

A secreção insuficiente de estradiol pelo folículo ovulatório de menor tamanho influencia negativamente o ambiente do útero e do oviduto, comprometendo o transporte dos espermatozoides e a fertilização do oócito (HAWK, 1983).

Assim sendo, fêmeas que expressaram estro após a retirada da fonte de P4 em um protocolo de IATF apresentaram maior taxa de concepção quando comparada àquelas que não expressaram estro, possivelmente por apresentarem diâmetro folicular maior que 14,4mm e aumento na produção de estradiol no momento da remoção do dispositivo de P4 (SÁ FILHO et al., 2010).

A partir dos resultados deste trabalho, do preço do mercado de bezerros de Rondônia (preço estabelecido de R\$1000,00) e preço médio de uma IATF (Tabela 5), pode-se fazer duas simulações, para avaliação do custo/benefício de inseminar vacas com folículos considerados como pequenos no dia da IA. (Tabela 5)

Tabela 5. Preço médio para o protocolo de IATF e a mão de obra de um veterinário qualificado para a área.

Gastos com IATF	Preço uni (R\$)	Preço IATF para 1 animal (R\$)
Dose touro	15,00	15,00
Gonadiol (Benzoato de estradiol) 100 ml	26,00	3,85
E.C.P (cipionato de estradiol) 10 ml	20,00	0,60
Novormon (ECG) 25ml	162,00	9,72
CIDR (P4) 10 implantes (4 usos)	280,25	7,00
Lutalyse (PGF2) 30 ml	45,96	3,83
Mão de obra veterinário	20,00	20,00
Total	568,25	60,00

Valores da tabela são com base em uma situação hipotética.

A proposta para essa simulação foi de inseminar todos os animais do lote no dia 11 do protocolo (D11) e avaliar o retorno financeiro em bezerros durante o período da estação de monta, para isso, utilizamos resultados obtidos neste estudo.

Na primeira inseminação de um lote de 452 animais, 285 animais (63%) apresentaram no dia da inseminação um DFOL $\geq 12,01$ mm e uma taxa de prenhez de 46%(131 animais prenhez), totalizando um custo de R\$17085,60. Já os 37% restante do lote (167 animais) no dia da inseminação artificial apresentaram folículos considerados como pequenos (DFOL ≤ 12 mm) e taxa de prenhez de igual 30%(50 animais prenhez) totalizando um custo de R\$10.034,40. Na primeira inseminação o gasto total com a inseminação dos 452 animais foi de R\$ 27.120,00, porém os animais com DFOL $\geq 12,01$ mm obtiveram um retorno em prenhez de 131 bezerros e um retorno em preço de bezerros de R\$130.989,60 ao final da primeira inseminação e os animais com DFOL ≤ 12 mm deram um retorno em prenhez de 50 bezerros e um retorno em preço de

bezerros de R\$ 50,172,00 também para a primeira inseminação, totalizando um retorno em prenhez e de preço de bezerros de 181 e R\$181.161,60, respectivamente. (Tabela 6)

Assim sendo para segunda inseminação foram protocolados e inseminados 271 animais pois 181 ficaram gestantes no primeiro manejo, onde 172 animais (63%) apresentaram DFOL $\geq 12,01$ mm no dia da inseminação e uma taxa de prenhez de 46%(78 animais prenhez), totalizando um custo de R\$10.237,69. Já os 100 animais (37%) restantes que apresentaram DFOL ≤ 12 mm com taxa de prenhez igual a 30% (30 animais prenhez), totalizando um custo de R\$ 6012,61. Para a segunda inseminação o gasto total para inseminação de 271 animais foi de R\$16.250,30, porém os com DFOL > 12 mm obtiveram um retorno em prenhez de 78 bezerros e um retorno de preço de bezerros de R\$ 78488,97 e os animais considerados como folículos pequenos (DFOL ≤ 12 mm) retorno de 30 bezerros e retorno de preço de bezerros R\$ 30063,06, totalizando para a segunda inseminação retorno em prenhez e preço de bezerros de 109 e R\$ 108,552,03 respectivamente. (Tabela 6)

Na terceira inseminação foram protocolados e inseminados 162 animais (tendo em vista que 109 animais ficaram gestantes ao final da segunda inseminação), onde 101 animais (63%) apresentaram DFOL $\geq 12,01$ mm no dia da inseminação e uma taxa de prenhez de 46%(47 animais prenhez), totalizando um custo de R\$6134,00. Já os 61 animais (37%) restantes que apresentaram DFOL ≤ 12 mm com taxa de prenhez igual a 30% (18 animais prenhez), totalizando um custo de R\$ 3603,00. Para a terceira inseminação o gasto total para os 162 animais foi de R\$9737,18, porém os com DFOL > 12 mm obtiveram um retorno em prenhez de 47 bezerros e um retorno de preço de bezerros de R\$ 47031,00 e os animais DFOL ≤ 12 mm retorno de 18 bezerros e retorno de preço de bezerros R\$ 18014,00 totalizando para a terceira inseminação retorno em prenhez e preço de bezerros de 65 e R\$ 65044,38 respectivamente. (Tabela 6)

Sendo assim ao final de uma estação monta (EM) de 93 dias de um lote 452 vacas, foram inseminadas 452 vacas na primeira inseminação, 271 vacas na segunda inseminação e 162 na terceira inseminação, total de 885 vacas inseminadas ao um preço de R\$53107,49 tendo uma taxa de prenhez final de 78,5% (355 vacas prenhez) e um retorno em bezerros no período da estação de monta de R\$ 354.758,01. (Tabela 7)

Tabela 6. Grupo controle (3 IATF).

	1º IATF	2ºIATF	3ºIATF	TOTAL
Quantidade de vacas	452	271	162	885
Taxa de prenhez (%) DFOL $\geq 12,01\text{mm}$	46%	46%	46%	78,5%
Total Quantidade Bezerros DFOL $\geq 12,01\text{mm}$	131	79	47	257
Taxa de prenhez (%) DFOL $\leq 12\text{mm}$	30%	30%	30%	30%
Quantidade Bezerros DFOL $\leq 12\text{mm}$	50	30	18	98
Quantidade total de bezerros	181	109	65	355
Retorno em Preço/bezerro	R\$ 181.161,60	R\$ 108,552,03	R\$ 65044,38	R\$ 354.758,01
Custo	R\$17085,60	R\$10,237,69	R\$6134,00	R\$53107,49

Valores são em base de uma simulação baseada em uma hipótese.

Tabela 7. Resultados obtidos após uma estação de 93 dias Grupo 3 IATF controle.

Duração da EM (dias)	93
Total de vacas no lote	452
Total de vacas inseminadas	885
Total de vacas prenhez	355
Total de prenhez final	78,5%
Custo por inseminação	R\$ 60,00
Custo total	R\$ 53.107,49
Valor médio do bezerro	R\$ 1000,00
Retorno em Bez. no periodo	R\$ 354.758,01

Para a segunda simulação foram feitas em 6 IATF, onde somente animais que apresentam DFOL >12mm no dia da inseminação serão inseminados enquanto animais que apresentam folículos considerados como pequenos iram aguardar o dos animais inseminados para serem ressincronizados.

Ao início da primeira inseminação (D0) 452 animais foram protocolados, porém no dia 11 somente 63% (285 animais) apresentam DFOL >12mm enquanto 37%(167 animais) apresentam DFOL \leq 12mm. Assim sendo os animais com grande diâmetro folicular foram inseminados no (D11) e formaram o Lote 1 da IATF enquanto os de menor diâmetro não foram inseminados e foram ressincronizados (dia zero do protocolo no dia 11 do protocolo do lote1) formaram o lote 2 da IATF.

O lote 1 foi composto 452 animais, porém somente 63% (285 animais) que apresentam DFOL>12mm serão inseminados no D11 os outros 37% (167 animais) que apresentam DFOL \leq 12mm aguardarão. Os animais inseminados no lote1 tiveram taxa de prenhez de 46%(131 vacas gestantes), e custo de R\$ 24611,40 retorno em bezerros de 131 e retorno em preço de bezerro de R\$130.989,60.

O Lote 2 é formado pelos 37% (167 animais) de animais do lote 1 animais que não foram inseminados no lote 1 e o início do protocolo de ressincronização se dá no D11 do Lotel. O lote 2 teve apenas 63% de animais inseminados (N=105) que apresentaram DFOL \geq 12,01mm, o restante 37% (62 animais que não apresentaram DFOL \geq 12,01mm) aguardarão para uma nova ressincronização. Os animais inseminados obtiveram uma taxa de prenhez de 46% (48 animais gestantes) retorno em prenhez de 48 bezerros e retorno em preço de bezerros R\$ 48466,15.

Os animais vazios do lote 1 (154 animais vazios) e os 37% de animais não inseminados do lote 2 (62 animais que não foram inseminados) por não apresentarem DFOL \geq 12,01mm, formam o lote 3 que tem seu início de protocolo (D0) no dia 30 (D30) da estação de monta. O lote 3 é formado por um total de 216 animais (soma de animais vazios do lote 1 com animais que não foram inseminados no lote 2) tendo um custo total de R\$11742,10 e onde somente 63% (136 animais) apresentam DFOL \geq 12,01 mm no D41 e serão inseminados enquanto os 37% (80 animais) não vão ser inseminados e iram aguardar 11 dias para a ressincronização (D52).Os animais do lote 3 tiveram taxa de

preenhez de 46% (62 animais gestantes) dando um retorno de bezerros e retorno no preço de bezerros 62 e R\$62495,14 respectivamente.

Os animais vazios do lote 2 e os animais não inseminados do lote 3 formam o lote 4, que tem início do seu protocolo no dia 52 da estação de monta (D52). O lote 4 é composto por um total de 137 animais com um custo de R\$7442,51 onde 86 animais serão inseminados (63% dos animais com $DFOL \geq 12,01\text{mm}$) o restante 37% (51 animais) aguardarão sua ressinchronização os 86 animais inseminados apresentaram 46% de taxa de prenhez (40 animais gestantes), dando um retorno de 40 bezerros e um retorno no preço de bezerros de R\$ 39,611,39.

Os animais vazios do lote 3 e os animais não inseminados do lote 4 formam o lote 5, que tem início do seu protocolo no dia 72 da estação de monta (D72). O lote 5 é composto por um total de 124 animais com um custo de R\$6748,39 onde 78 animais serão inseminados (63% dos animais com $DFOL > 12\text{mm}$) o restante 37% (46 animais) aguardarão sua ressinchronização os 78 animais inseminados apresentaram 46% de taxa de prenhez (36 animais gestantes), dando um retorno de 36 bezerros e um retorno no preço de bezerros de R\$ 35917,00.

Os animais vazios do lote 4 (46 animais vazios) e os 37% de animais não inseminados do lote 5 (46 animais que não foram inseminados por não apresentarem $DFOL > 12\text{mm}$), formam o lote 6 que tem seu início de protocolo (D0) no dia 96 (D96) da estação de monta. Os animais do lote 6 tiveram taxa de prenhez de 46% (27 animais gestantes) dando um retorno de bezerros e retorno no preço de bezerros 27 e R\$26765,11 respectivamente.

Então ao final de uma estação de monta (EM) de 107 dias do lote de 452 animais teríamos um custo total de inseminação de R\$ 64679,47 (custo para 748 animais inseminados) com uma taxa de prenhez de 76%(344 vacas gestantes) um retorno em bezerro neste período de R\$344.244,44. (Tabela 8)

Tabela 8. Resultados obtidos após uma estação de 107 dias.

Duração da EM (dias)	107
Total de vacas no lote	452
Total de vacas inseminadas	748
Total de vacas prenhez	344

Total de prenhez final	76%
Custo por inseminação	R\$ 60,00
Custo total	R\$ 64.679,47
Valor médio do bezerro	R\$ 1000,00
Retorno em bez no período	R\$ 344.244,44

6. Conclusão

Assim conclui-se de que a presença de um folículo de maior diâmetro no momento da inseminação é um indicador de melhor resposta ovariana e taxa de prenhez de fêmeas nelores submetidas a programas de IATF.

Na correlação da taxa de prenhez com o escore de condição corporal não houve diferença estatística.

Não houve diferença estatística na avaliação da taxa de prenhez de vacas que demonstraram ou não demonstraram cio antecedendo a IA.

A primeira simulação (Grupo controle 3 IATF) foi superior 7,42% sobre o retorno de bezerro no período, foi superior 2,5% sobre a taxa de prenhez final e a estação de monta se tornou 14 dias a mais curta em relação a segunda.

Dessa forma deve ser amplamente utilizadas alternativas em um protocolo de inseminação artificial para induzir o crescimento do diâmetro folicular e incrementando a eficiência reprodutiva e proporcionando uma melhor relação custo-benefício para o produtor que adota esta biotecnologia.

Elaboração de estratégias alimentares para as matrizes e suas crias, podendo proporcionar melhores indicadores de eficiência reprodutiva em programas de IATF.

7. Referências

ABIEC - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS EXPORTADORAS DE CARNES. Perfil da pecuária brasileira. Relatório anual, São Paulo, 2015.

Disponível em: <<http://www.newsprime.com.br/img/upload2/perfil-abiec-set2015-portugues.pdf>>. Acesso em: 14 de agosto de 2018.

ADAMS, G.P., MATTERI, R.L., KASTELIC, J.P., KO, J.C.H., GINTHER, O.J. Association between surges of folliclestimulating hormone and the emergence of follicular waves in heifers. **J Reprod Fertil**, v. 94, p. 177-188, 1992

ANUALPEC 2011: **Anuário estatístico da pecuária de corte**. São Paulo: FNP Consultoria & Comércio, 2011.

ASBIA. Associação Brasileira de Inseminação Artificial. Disponível em <<http://www.asbia.org.br/novo/relatorios/>>. Acesso em: agosto de 2018.

ABIEC- Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carnes. Perfil da pecuária no Brasil. São Paulo, 2017. Disponível em: <http://abiec.siteoficial.ws/images/upload/sumario_pt-010217.pdf>. Acesso: 15 de julho de 2018.

ATKINS, J. A.; SMITH, M. F.; WELLS, K. J.; GEARY, T. W. Factors affecting preovulatory follicle diameter and ovulation rate after gonadotrophin-releasing hormone in postpartum beef cows. Part I: cycling cows. **Journal Animal Science**, v.88, p. 2300-2310, 2010.

Ayres, H., Ferreira, R.M., Torres-Júnior, J.R.S., Demétrio, C.G.B., de Lima, C.G., Baruselli, P.S., 2009. Validation of body condition score as a predictor of subcutaneous fat in Nellore (*Bos indicus*) cows. **Livestock Science**. 123, 175–179.

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

BARNETT, K.R., SCHILLING, C., GREENFELD, C.R., TOMIC, D., FLAWS, J.A. Ovarian follicle development and transgenic mouse models. **Hum Reprod Update**, v. 12, p. 537-55, 2006.

BARROS, C.M.; ERENO, R.L. Avanços em tratamentos hormonais para a inseminação artificial com tempo fixo (IATF) em bovinos de corte. **Journal Animal Science** v.32, p.23-34, 2004.

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.; 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.; SALES, J. N. S.; SALA, R. V.; VIEIRA, L. M.; SÁ FILHO, M. F. History, evolution and perspectives of timed artificial insemination programs in Brazil. **Animal Reproduction Science**. v. 9, p. 139-152, 2012.

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

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.

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.

BUTTER, S. A. A.; PHILLIPS, N. J.; BOE-HANSEN, G. B.; BO, G. A.; BURNS, B. M.; DAWSON, K.; MCGOWAN, M. R. Ovarian responses in *Bos indicus* heifers treated to synchronise ovulation with intravaginal progesterone releasing devices, oestradiol benzoate, prostaglandin F2 α and equine chorionic gonadotrophin. **Animal Reproduction Science**, v. 129, p. 118-126, 2011.

CARVALHO, J. B. P.; CARVALHO, N. A. T.; REIS, E. L.; NICHI, M.; SOUZA, A. H.; BARUSELLI, P. S. Effect of early luteolysis in progesterone-based timed AI

protocols in *Bos indicus*, *Bos indicus* x *Bos taurus* and *Bos taurus* heifers.

Theriogenology, v. 69, p. 167-175, 2008.

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**, n. 18, p. 114, 2006.

CORTVRINDT, R., SMITZ, J., VAN STEIRTEGHEM, A.C. In vitro maturation, fertilization and embryo development of immature oocytes from early preantral follicles from prepubertal mice in a simplified culture system. **Hum Reprod**, v. 11, p. 2656–66, 1996

CORTVRINDT, R.; SMITZ, J. E. J. In vitro follicle growth: Achievements in mammalian species. **Reprod Domest Anim**, v. 36, p. 3-9, 2001.

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

DIELEMAN S.J.; BEVERS M.M.; GIELEN J.T.H. Increase of the number of ovulations in PMSG/PG-treated cows by administration of monoclonal anti-PMSG shortly after the endogenous LH peak. **Theriogenology**, v.61, p. 27-222. 1987

DISKIN M. G., MACKEY D. R., ROCHE J. F., SREENAN J. M., Effects of nutrition and metabolic status on circulating hormones and follicle development in cattle. **Animal Reproduction Science**. v.78, p. 345-370, 2003.

EDMONSON, A. J.; LEAN, I. J.; WEAVER, L. D. et al. A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.72, n.1, p.68-78, 1989.

EPIFANO, O. & DEAN, J. Genetic control of early folliculogenesis in mice. **Trends Endocrinol Metabolism**, v. 13, p. 169-173, 2002

EPPIG, J.J., VIVEIROS, M.M., BIVENS, C.M., DE LA FUENTE, R., Regulation of mammalian oocyte maturation. In: Leung, P.C., Adashi, E.Y. (Eds.), *The Ovary*. 2004.

FARBER, J.L. Membrane injury and calcium homeostasis in the pathogenesis of coagulative necrosis. **Lab. Invest.**, v. 47, p. 114-123, 1982.

- FIGUEIREDO, J.R., RODRIGUES, A.P.R., AMORIM, C.A. Manipulação de oócitos inclusos em folículos ovarianos pré-antrais – MOIFOPA. In: Biotécnicas aplicadas à reprodução animal. **Ed. Varela.**, p. 227-260, 2003.
- 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.
- FORTUNE, J.E. The early stages of follicular development: activation of primordial follicles and growth of preantral follicles. **Anim Reprod Sci**, 78:135-163, 2003.
- FORTUNE, J.E., RIVERA, G.M., EVANS, A.C.O., TURZILLO, A.M. Differentiation of dominant vesus subordinate follicles in cattle. **Biol Reprod**, v. 65, p. 648-654, 2001.
- 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.; CARVALHO, N. A. T.; TORRES-JUNIOR, J. R. S.; SOUZA, A. H.; MADUREIRA, E. H.; TRINCA, L. A.; SARTORELLI, E. S.; BARROS, C. M.; CARVALHO, J. B. P.; MAPLETOFT, R. J.; BARUSELLI, P. S. Follicle deviation and ovulatory capacity in *Bos indicus* heifers. **Theriogenology**, v. 69, p. 852-858, 2008
- GINTHER, O.J., WILTBANK, M.C., FRICKE, P.M., GIBBONS, J.R., KOT, K. Selection of the dominant follicle in cattle. **Biol Reprod**, v. 55, p. 1187-1194, 1996.
- GLAMOČLIJA, V., VILOVIĆ, K., SARAGA-BABIĆ, M., BARANOVIĆ, A., SAPUNAR, D. Apoptosis and active caspase-3 expression in human granulosa cells. **Fertil Steril**, v. 83, p. 426-431, 2005.
- GnRH-based timed-AI protocol in beef cattle. *Reproduction, Fertility and Development*, n. 18, p. 114, 2006.
- GONÇALVES, P.B.D.; NEVES, J.P; OLIVEIRA, J.F.C. Fisiologia do ciclo estral. Simpósio Avanços na Reprodução Bovina, Pelotas-RS. **Anais..., Editora Universitária, Universidade Federal de Pelotas.** p.11-24, 2000

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.

HAWK, H. W. Sperm survival and transport in the female reproductive tract. **Journal of Dairy Science**, v. 77, p.2738-2744, 1983.

HURWITZ, A. & ADASHI, E.Y. Ovarian follicular atresia as an apoptotic process: a paradigm for programmed cell death in endocrine tissues. **Mol Cell Endocrinology**, v. 84, p. 19-23, 1992.

IBGE- Instituto Brasileiro de Geografia e estatística. Pesquisa Pecuária Municipal de 2016. Estatística da Produção Pecuária, 2016b. Disponível em:
<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/producaoagropecuaria/abate-leite-couroovos_201404_publ_completa.pdf> Acesso em: 15 de julho de 2018.

INGRAM, D.L. Atresia. In: Zuckerman S (ed), **The Ovary**. **New York: Academic Press**, 1962; p. 247-273, 1962

KATSKA-KSIAZKIEWICK, L. Recent achievements in in vitro culture and preservation of ovarian follicles in mammals. **Reprod Biol**, v. 6, p. 3-16, 2006

LUCCI, C. M.; SILVA, R. V.; CARVALHO, C. A.; FIGUEIREDO, R.; BÁO, N. Light microscopical and ultrastructural characterization of goat preantral follicles. **Small Ruminant Res**, 41:61-69, 2001.

MAGOFFIN, D.A. Ovarian theca cell. **Int J Biochem Cell Biol**, v. 37, p. 1344-9, 2005.

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.

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.

MOORE, K.L.; PERSAUD, T.V.N. Início do desenvolvimento humano. In Moore, K.L. e Persaud, T.V.N. **Embriologia Clínica. Guanabara Koogan** (Ed.). 5a ed. p. 13-38, 1994.

MORAES, J.C.F. Controle da reprodução em bovinos de corte. **I simpósio de Reprodução Bovina** - Sincronização de Estros em Bovinos, Porto Alegre - RS, p.3240, 2002.

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.

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.; KIRACOFE, 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.

PERRY, G. A.; PERRY, B. L. Effect of preovulatory concentrations of estradiol and initiation of standing estrus on uterine pH in beef cows. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 34, p. 333–338, 2008.

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.

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

PFEIFER, L. F.M., MAPLETOFT, R. J., KASTELIC, J. P., SMALL, J. A., ADAMS, G. P., DIONELLO, N. J., SINGH, J. Effects of low versus physiologic plasma progesterone concentrations on ovarian follicular development and fertility in beef cattle. **Theriogenology, Saskatoon**, v. 72, p. 1237-1250, 2009.

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.; 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.
- 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 progestin-based protocols in suckled *Bos indicus* cows. **Animal
Reproduction Science**, São Paulo, 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 Nelore (*Bos indicus*) cows. **Theriogenology**, v. 73, p. 651–658, 2010.
- 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 junho de 2018.
- SILVA, J. R. V. Growth factors in goat ovaries and the role of activina-A in the
development of early-staged follicles. **Phd Thesis, Utrecht University, Faculty of
Veterinary Medicine**, p.142, 2005
- SILVEIRA, R. O.; SANTOS, G. M.; SILVEIRA, C. O.; MAITAN, P. P. Avaliação do
tamanho do folículo ovulatório e da taxa de concepção de vacas nelore em protocolos de
IATF. **Viçosa Anais VI SIMPAC**, v. 6, n. 1, p. 191-196, dez. 2014.
- SMITZ, J.E.J. & CORTVRINDT, R.G. The earliest stages of folliculogenesis in vitro.
Reproduction, v. 123, p. 185-202, 2002
- 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. 2010. São Paulo, 69p. **Dissertação (Mestre em Ciências), Faculdade de
Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.**

VAN DEN HURK, R.; ZHAO, J. Formation of mammalian oocytes and their growth, differentiation and maturation within ovarian follicles. **Theriogenology**, 63:1717-1751, 2005.

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 PGF2 α injection on d 6 or 7 of the Ovsynch protocol. **Journal Dairy Science**, v. 83, p. 214, 2000.

VASCONCELOS, J. L. M.; SARTORI, R.; OLIVEIRA, H. N.; GUNTHER, J. G.; WILTBANK, M. C. Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rate. **Theriogenology**, v. 56, p. 307- 314, 2001.

VASCONCELOS, J. L. M.; SARTORI, R.; OLIVEIRA, H. N.; GUNTHER, J. G.; WILTBANK, M. C. Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rate. **Theriogenology**, v. 56, p. 307314, 2001

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, out. 1999.

ZIEBA, D.A.; AMSTALDEN, M.; WILLIAMS, G.L. Regulatory roles of leptin in reproduction and metabolism: A comparative review. **Domestic Animal Endocrinology**, v.29, p.166-185, 2005.