

## IATF em novilha

Manoel F. Sá Filho<sup>1\*</sup>; Lindsay U. Gimenes<sup>2</sup>; José Nélio S. Sales<sup>2</sup>; Gabriel A. Crepaldi<sup>2</sup>;  
Adriana G. Medalha<sup>1</sup>; Pietro S. Baruselli<sup>2</sup>

<sup>1</sup>FIRMASA- IATF, CEP 79020-210, Campo Grande-MS, Brasil; <sup>2</sup>VRA, FMVZ/USP, CEP 05508-000, São Paulo-SP, Brasil; \*manoel@firmasa.com.br

### Introdução

O atual rebanho bovino brasileiro é composto por aproximadamente 167,5 milhões de cabeças. Desse rebanho, ao redor de 13,2 milhões são novilhas de dois a três anos de idade (7,9%, ANULPEC 2008). A eficiência econômica da pecuária de corte está vinculada à produção de bezerros, sendo estes destinados à produção de carne ou reposição do rebanho. Neste contexto, a eficiência reprodutiva em novilhas demonstra-se como de grande importância, principalmente no ponto de vista da concentração da ocorrência das gestações em determinados momentos durante a estação reprodutiva bem como o de promover o melhoramento genético do rebanho.

O melhoramento genético em rebanhos bovinos, baseado na seleção de indivíduos com maior desenvolvimento ponderal, rendimento de carcaça, capacidade de conversão alimentar, habilidade materna, fertilidade e precocidade sexual, possibilita o aumento da produtividade de carne. Assim, a eficiente disseminação deste material genético proporciona maior retorno econômico para a atividade.

Durante os últimos anos, novas tecnologias aplicadas à reprodução animal vêm contribuindo de maneira importante para o melhoramento genético. A inseminação artificial (IA) se tornou uma das principais biotecnologias reprodutivas de impacto econômico na produção de bovinos por possibilitar a utilização em massa de indivíduos melhoradores, viabilizar o cruzamento industrial em regiões tropicais e aumentar a produção de carne por hectare. Embora apresente essas vantagens, apenas 7% das fêmeas em idade reprodutiva são inseminadas no Brasil. As principais limitações impostas ao emprego dessa biotecnologia referem-se às falhas na detecção do estro, a puberdade tardia e ao longo período de anestro pós-parto.

Devido a essas limitações, tornou-se de grande interesse econômico nos últimos anos, o desenvolvimento de tratamentos que tem por objetivo a indução e/ou sincronização do estro e da ovulação. O emprego de alguns fármacos disponíveis no mercado permitiu a sincronização do ciclo estral, a luteólise e a ovulação em tempo determinado sem haver comprometimento na fertilidade do estro induzido. Assim, inúmeros protocolos hormonais vêm sendo desenvolvidos para realização da inseminação artificial em tempo pré-determinado, ou seja, em tempo fixo com taxas de concepção aceitáveis.

A presente revisão tem como objetivo descrever alguns conceitos importantes referentes à fisiologia reprodutiva, do controle farmacológico do ciclo estral e apresentar diferentes protocolos para inseminação artificial em tempo fixo (IATF) em novilhas, especialmente visando descrever as peculiaridades existentes no emprego da manipulação hormonal do ciclo estral principalmente em novilhas Nelore (*Bos indicus*).

### Puberdade e maturidade sexual

Em fêmeas bovinas, a puberdade pode ser definida como aquisição da capacidade em se reproduzir. Entretanto, a puberdade não deve ser interpretada como um evento isolado, sendo caracterizada como a etapa final de inúmeras alterações fisiológicas e morfológicas que culminam com a capacidade de conceber e manter a gestação. Sendo assim, uma definição interessante para puberdade seria a primeira ovulação fértil acompanhada de uma fase lútea de duração normal.

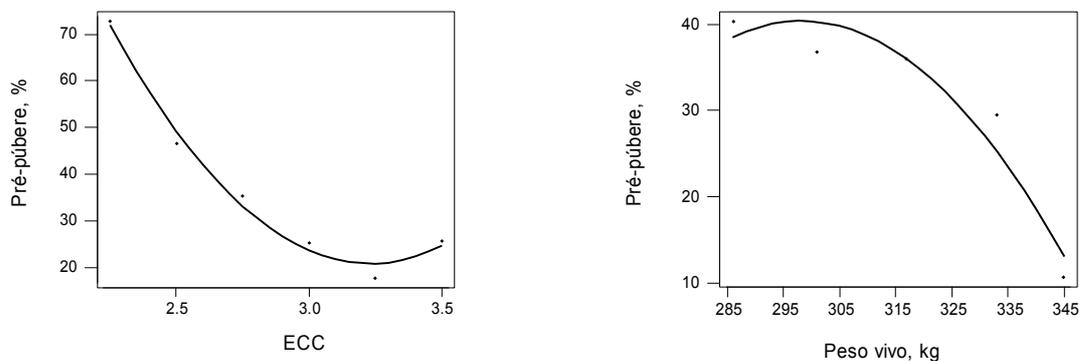
Após o nascimento, diversos mecanismos endócrinos inibem a ação do sistema reprodutivo até que a fêmea atinja o desenvolvimento corporal compatível com a reprodução. Nesse momento, os gastos

energéticos utilizados para o crescimento e desenvolvimento diminuem, permitindo a ocorrência normal da gestação, parto e lactação (NOGUEIRA, 2006).

A idade à puberdade é uma característica de produção fundamental em bovinos. Em raças de corte selecionadas para precocidade sexual, as novilhas podem atingir a puberdade com idade entre 13 e 15 meses. Em sistemas intensivos de produção de leite e de carne, novilhas devem apresentar o primeiro parto com até 25 meses de idade. O atraso na ocorrência do primeiro parto irá acarretar importantes perdas econômicas. No entanto, a idade à puberdade para novilhas zebuínas varia entre 22 e 36 meses e ao primeiro parto entre 44 e 48 meses de idade (SOUZA et al., 1995). De acordo com Torres (1996), a idade ao primeiro parto do rebanho de corte nacional é de quatro anos e o intervalo entre partos de 20 a 21 meses. A baixa eficiência reprodutiva demonstrada pelos dados de Torres (1996) acarreta perdas econômicas para o produtor e para a indústria pecuária nacional. É importante salientar que os principais motivos para o aparecimento tardio da puberdade nos rebanhos zebuínos nacionais são: a sazonalidade da produção de forragens, o manejo deficiente de pastagens e a inexistência de suplementação alimentar durante o período de crescimento desses animais. Apesar das raças zebuínas serem menos precoces que as raças européias, um manejo nutricional adequado associado à terapia hormonal podem reduzir a idade à puberdade desses animais para 18 a 20 meses (Santos & Sá Filho, 2006).

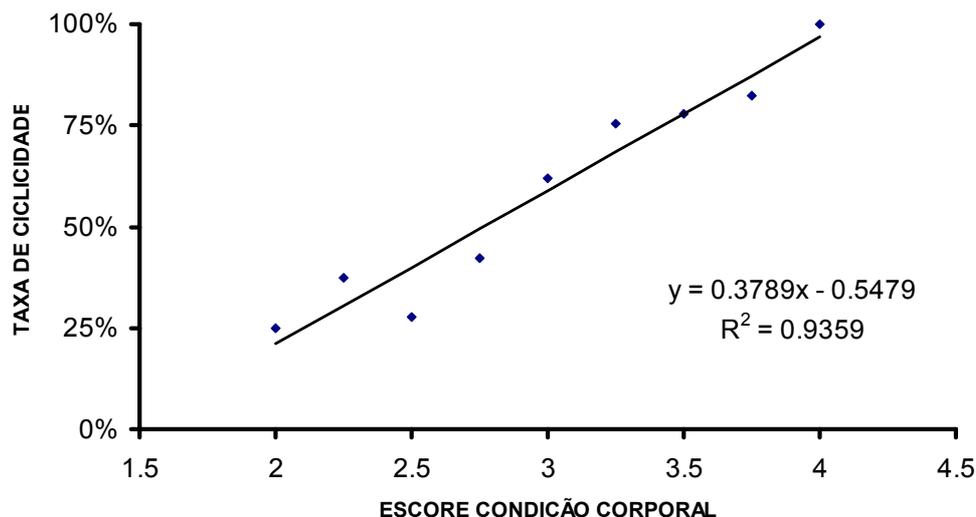
A idade da puberdade em novilhas está diretamente relacionada ao seu peso e composição corporal. Para que as novilhas de corte apresentem o primeiro parto com idade média de 24 meses, é necessário atingir a puberdade por volta dos 12 e 13 meses. Entretanto, em novilhas zebuínas, é difícil observar a ocorrência do primeiro ciclo estral ao redor dos 13 meses. Na raça Nelore observa-se grande quantidade de animais pré-púberes com idade acima de dois anos provavelmente devido ao baixo peso corporal, baixa reserva de gordura e também à seleção genética.

Santos e Sá Filho (2006) avaliaram o peso vivo, a condição corporal e a ciclicidade de 617 novilhas Nelore com idade entre dois e três anos. Foi observada relação quadrática tanto para o escore de condição corporal quanto para o peso vivo na proporção de fêmeas pré-púberes, no qual o aumento da condição corporal ou do peso vivo reduziu a proporção de novilhas em anestro (Figura 1).



**Figura 1.** Relação entre o escore de condição corporal (ECC) e o peso vivo com a porcentagem de novilhas Nelore classificadas como pré-púbere entre dois a três anos de idade (SANTOS e SÁ FILHO, 2006).

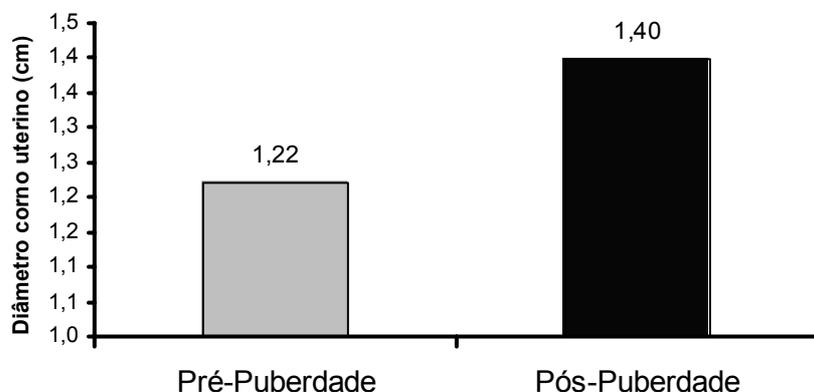
Em recente levantamento realizado em fazendas comerciais localizadas nos estados do Paraná e do Mato Grosso do Sul, avaliou-se o efeito da condição corporal na frequência de novilhas Nelore (n=1803) que apresentaram corpo lúteo no primeiro dia da estação reprodutiva (SÁ FILHO 2008, dados não publicados). Os resultados (Figura 2) corroboram com o observado no estudo anterior, no qual o incremento no escore de condição corporal aumenta a porcentagem de novilhas ciclando no início da estação de monta.



**Figura 2.** Relação entre o escore de condição corporal e a porcentagem de novilhas Nelore (n=1803) com presença de corpo lúteo no primeiro dia da estação de monta (SÁ FILHO, 2008 dados não publicados).

No início da estação de reprodução, as novilhas devem atingir um peso equivalente a 55-60% do peso adulto da vaca da raça correspondente. Para atingir essa meta é necessário que essas novilhas sejam submetidas a um manejo nutricional adequado. No caso de novilhas de corte de raças zebuínas, o peso ao início da estação de monta deve estar em torno de 300 a 330 kg. Pesos inferiores no início da estação irão comprometer o desempenho reprodutivo dessas fêmeas, afetar o peso ao parto, trazer conseqüências negativas ao desempenho animal na primeira lactação e na fertilidade da estação de monta subsequente (WILTBANK et al., 1985). No caso de novilhas zebuínas, a suplementação alimentar para obtenção de um peso vivo de 300 a 330 kg aos 18 meses pode não se justificar economicamente, se a maior parte desses animais não estiver apta à reprodução (SANTOS e SÁ FILHO, 2006).

Durante a puberdade o trato reprodutivo de novilhas apresenta diversas alterações fisiológicas e morfológicas que irão permitir a gestação. Autores têm demonstrado que o tamanho e peso do útero, da cervix e da vagina aumentam rapidamente após a puberdade (DESJARDINS e HAFS, 1969; HONARAMOOZ et al., 2004). Em novilhas Nelore (n=17 fêmeas), Sá Filho (2008, dados não publicados) observou efeito semelhante da puberdade no desenvolvimento uterino (Figura 3). Esse rápido efeito da puberdade no desenvolvimento do trato reprodutivo parece estar ligado à estimulação exercida pelo aumento das concentrações de estradiol e progesterona durante o período pós-púbere.



**Figura 3.** Efeito da puberdade no desenvolvimento uterino de novilhas Nelore (*Bos indicus*; n=17 fêmeas, SÁ FILHO, 2008, dados não publicados).

A maturidade sexual é definida como a idade em que o animal atinge o seu máximo potencial reprodutivo. Essa maturação sexual é evidenciada pelo aumento da incidência de manifestação de estro e da fertilidade (BYERLEY et al., 1987). Geralmente, são necessários dois a três ciclos estrais com fases luteais normais (40 a 60 dias após a ocorrência da puberdade) para que a fêmea bovina adquira maturidade sexual, capacidade de conceber e levar a gestação a termo (SANTOS e SÁ FILHO, 2006). Byerley et al. (1987) expôs novilhas a touros no primeiro ou somente no terceiro estro após a puberdade. Os autores observaram que novilhas cobertas no primeiro cio após a puberdade apresentaram menor taxa de concepção quando comparadas as novilhas cobertas no terceiro cio. Sendo assim, a fertilidade de novilhas ciclando submetidas à monta natural ou a programas de sincronização da ovulação para IATF no início da estação reprodutiva, parece ser dependente da quantidade de ciclos estrais que essas novilhas apresentaram previamente.

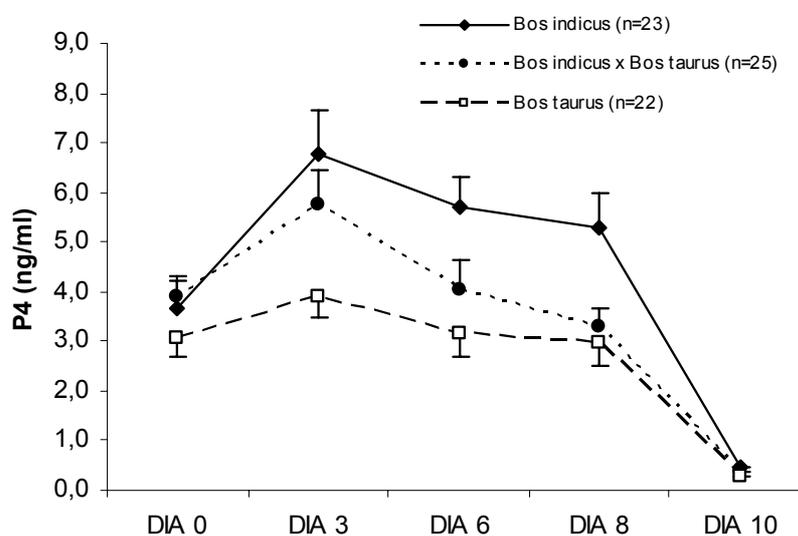
### **Emprego da IATF em novilhas**

Os programas de sincronização da ovulação apresentam resultados satisfatórios e possibilitam o emprego da IATF em vacas zebuínas (BARUSELLI et al., 2004a). Contudo, os protocolos hormonais desenvolvidos para vacas lactantes apresentam comprometimento na eficiência quando utilizados em novilhas. Estudos realizados em novilhas *Bos indicus* submetidas ao tratamento com dispositivo intravaginal de progesterona (CIDR<sup>®</sup>, Pfizer) apresentaram baixa taxa de ovulação ao final do tratamento (BARUSELLI et al., 2004b). Enquanto que novilhas *Bos taurus* apresentam satisfatórias taxas de ovulação e de prenhez após sincronização com dispositivos intravaginais de progesterona (P4; CUTAIA et al., 2001). Existem diferenças na fisiologia reprodutiva entre *Bos taurus* e *Bos indicus* que pode influenciar a resposta aos protocolos de sincronização empregados. Uma das diferenças observadas está relacionada aos níveis de P4 durante o ciclo estral. Randel (1977) observou que fêmeas *Bos indicus* apresentam níveis de P4 circulantes inferiores a fêmeas *Bos taurus*. Além disso, na literatura existem estudos demonstrando que elevadas concentrações de P4 diminuem a frequência de liberação de hormônio luteinizante (LH) e do crescimento folicular (BERGFELD et al., 1995; BURKE et al., 1996). Assim, podemos levantar a hipótese de que as novilhas *Bos indicus* são mais sensíveis aos níveis circulantes de P4 liberados pelos dispositivos intravaginais. Dessa forma, estudos foram desenvolvidos visando aprimorar os conhecimentos endocrinológicos e fisiológicos em novilhas *Bos indicus* para tentar viabilizar a utilização da sincronização da ovulação para IATF nessa categoria animal.

Em estudos iniciais, avaliou-se a dinâmica folicular e as concentrações plasmáticas de P4 durante o tratamento com dispositivo intravaginal de progesterona (CIDR<sup>®</sup>) associado ou não ao tratamento com prostaglandina F<sub>2α</sub> (PGF) no dia da inserção do dispositivo (D0) em novilhas *Bos indicus*, *Bos indicus* x *Bos taurus* e *Bos taurus* (CARVALHO, 2004; CARVALHO et al., 2008). O objetivo do estudo foi antecipar a luteólise e diminuir as concentrações sanguíneas de progesterona durante o tratamento. A hipótese levantada foi que menores concentrações circulantes de P4 aumentaria a taxa de crescimento folicular e ovulação, e consequentemente a eficiência do tratamento de sincronização. Os resultados desse experimento foram indicativos de que o tratamento com prostaglandina no momento da inserção do dispositivo intravaginal aumenta a taxa de crescimento folicular, o diâmetro do folículo dominante no dia da retirada do dispositivo (D8), o diâmetro máximo do folículo dominante e a taxa de ovulação. Esses resultados sugerem que o tratamento com PGF no dia do início da sincronização (D0) pode aumentar a taxa de concepção à inseminação artificial em tempo fixo em novilhas. No entanto, verificou-se que novilhas *Bos indicus* apresentaram comprometimento na taxa de crescimento do folículo dominante, que culminou na diminuição do diâmetro máximo e da taxa de ovulação (Tabela 1), indicando baixa resposta ao tratamento de sincronização. Além disso, novilhas *Bos indicus* apresentaram maiores níveis circulantes de P4 durante o tratamento (P<0,05; Figura 4).

**Tabela 1.** Dia da emergência da nova onda de crescimento folicular, número de folículos recrutados, diâmetro máximo do folículo dominante (FD), taxa de crescimento diária do folículo dominante e taxa de ovulação em novilhas *B. indicus*, *B. indicus* x *B. taurus* e *B. taurus* tratadas com dispositivo intravaginal de P4 segundo o tratamento com PGF no dia da inserção do dispositivo (Dia 0).

Grupo Genético	N	Início da onda (dia)	Nº de folículos recrutados (>2mm)	Ø máximo do FD (mm)	Taxa de cresc. (mm/dia)	Taxa de ovulação (%)
<i>B. indicus</i>	23	3,1± 0,1	33,4± 3,2 <sup>a</sup>	9,5± 0,5 <sup>b</sup>	0,9 ± 0,1 <sup>b</sup>	39,1 (9/23) <sup>b</sup>
<i>B.indicus</i> x <i>B.taurus</i>	25	3,3± 0,1	29,6± 2,5 <sup>ab</sup>	12,3± 0,4 <sup>a</sup>	1,2 ± 0,1 <sup>a</sup>	84,0 (21/25) <sup>a</sup>
<i>B. taurus</i>	22	3,2± 0,1	25,4± 2,5 <sup>b</sup>	11,6± 0,5 <sup>a</sup>	1,1 ± 0,1 <sup>a</sup>	72,7 (16/22) <sup>a</sup>
Com PGF	33	3,3± 0,1	28,7± 2,8	11,9± 0,4 <sup>a</sup>	1,2 ± 0,1 <sup>a</sup>	78,8 (26/33) <sup>a</sup>
Sem PGF	37	3,1± 0,1	30,4± 1,8	10,5± 0,4 <sup>b</sup>	0,9 ± 0,1 <sup>b</sup>	54,0 (20/37) <sup>b</sup>



**Figura 4.** Concentração plasmática de P4 durante o tratamento com dispositivo intravaginal de P4 em novilhas *Bos indicus*, *Bos indicus* x *Bos taurus* e *Bos taurus*.

Em resumo, novilhas *Bos indicus* apresentaram menor taxa de crescimento (mm/dia), menor diâmetro máximo do folículo dominante, menor taxa de ovulação e maior concentração plasmática de P4 durante o tratamento que as novilhas *Bos taurus*. Assim, os maiores níveis circulantes de P4 em novilhas *Bos indicus* tratadas com dispositivo intravaginal podem diminuir a frequência da liberação de LH o que compromete o crescimento folicular e a ovulação, inviabilizando o emprego deste tratamento para a IATF em novilhas zebrinas.

Em outro experimento, Marques et al. (2005) avaliaram o efeito da administração de PGF no D0 e da eCG no momento da retirada do dispositivo intravaginal de P4 (CIDR®, D8) com o objetivo de aumentar a eficiência do tratamento de sincronização da ovulação para IATF em novilhas Nelore (*Bos indicus*). No experimento foram utilizadas 392 novilhas Nelore com peso corporal acima de 300Kg. Os resultados estão descritos na tabela 2.

**Tabela 2.** Taxa de prenhez à IATF em novilhas Nelore tratadas com PGF no início do tratamento (D0) e com eCG (400UI) na retirada do dispositivo intravaginal de progesterona (CIDR<sup>®</sup>, D8).

	Número	Taxa Prenhez (%)
<b>Sem PGF / Sem eCG</b>	100	14,0 <sup>b</sup> (17/100)
<b>Com PGF / Sem eCG</b>	97	17,5 <sup>b</sup> (17/97)
<b>Sem PGF / Com eCG</b>	98	35,7 <sup>a</sup> (35/98)
<b>Com PGF / Com eCG</b>	97	34,0 <sup>a</sup> (33/97)
<b>EFEITOS PRINCIPAIS</b>		
<b>Sem PGF</b>	198	24,7 (49/198)
<b>Com PGF</b>	194	25,8 (50/194)
<b>Sem eCG</b>	197	15,7 <sup>a</sup> (31/197)
<b>Com eCG</b>	195	34,9 <sup>b</sup> (68/195)

Verificou-se que o tratamento com eCG no momento da retirada do dispositivo de P4 aumentou a taxa de prenhez em novilhas Nelore. No entanto, o uso da PGF no D0 não apresentou efeito na resposta ao tratamento de sincronização. Apesar do aumento na taxa de prenhez com o uso de eCG, pôde-se observar que as taxas de prenhez não foram satisfatórias em novilhas Nelore, sincronizadas e inseminadas artificialmente em tempo fixo.

Como discutido anteriormente, elevadas concentrações de P4 (endógena e/ou exógena) estão associadas a inibição da secreção pulsátil de LH (RATHBONE et al., 2001). Essa inibição promove redução na taxa de crescimento folicular em novilhas Nelore submetidas aos tratamentos com dispositivo intravaginal de P4 (CARVALHO et al., 2004). Ainda, o bloqueio do LH promovido durante o tratamento de sincronização varia em função da fonte de progesterona utilizada, visto que, os progestágenos promovem menor supressão na frequência de LH (KOJIMA et al., 1992). Diante desses resultados, outros trabalhos foram desenvolvidos para avaliar a dinâmica folicular e a taxa de prenhez de novilhas Nelore tratadas com implantes auriculares contendo Norgestomet, associados ao benzoato de estradiol.

Sá Filho et al. (2006) avaliaram o efeito da administração no D0 de 2mg de benzoato de estradiol (BE) ou de diferentes doses de valerato de estradiol (VE) no momento e na sincronização da emergência da onda folicular em vacas e novilhas *Bos indicus* tratadas com implante auricular de Norgestomet. Observou-se efeito significativo no intervalo e na dispersão do momento da emergência da nova onda de crescimento folicular entre os tratamentos (Tabela 3). O BE promoveu efeito semelhante em vacas e em novilhas na indução da emergência da nova onda de crescimento folicular. No entanto, novilhas apresentaram maior intervalo entre o tratamento e a emergência da nova onda quando tratadas com VE. Conclui-se que em novilhas *Bos indicus*, deve-se utilizar no início do protocolo de sincronização Benzoato de estradiol associado ao implante auricular contendo Norgestomet.

**Tabela 3.** Dinâmica folicular de novilhas e vacas *Bos indicus* tratadas com 2mg de Benzoato de estradiol (BE), 5mg de Valerato de estradiol mais 3mg de Norgestomet (VE) ou ½ dose de VE no início do tratamento com implante auricular de Norgestomet.

	Parâmetros	BE	½ VE	VE	Valor P
<b>Novilhas</b>	Número animais	10	10	9	
	Média emergência	2,5±0,2 <sup>a</sup>	4,2±0,3 <sup>b</sup>	6,1±0,6 <sup>c</sup>	<0,001
	Variação emergência	2-3 <sup>x</sup>	3-6 <sup>xy</sup>	3-8 <sup>y</sup>	<0,05
<b>Vacas</b>	Número animais	10	10	10	
	Média emergência	2,5±0,2 <sup>a</sup>	3,1±0,4 <sup>ab</sup>	4,0±0,5 <sup>b</sup>	<0,05
	Variação emergência	2-4 <sup>x</sup>	2-6 <sup>xy</sup>	2-6 <sup>y</sup>	<0,05

Um segundo experimento foi realizado para avaliar a dinâmica folicular de novilhas Nelore pré-pubescentes tratadas com BE associados ou não a progesterona injetável no início do tratamento com implante auricular contendo Norgestomet (SÁ FILHO et al., 2005a). Foram utilizadas 18 novilhas Nelore pré-pubescentes, sem corpo lúteo (CL) diagnosticado por ultra-sonografia nos dias -28, -14 e no dia da inserção do implante. As fêmeas foram subdivididas em dois tratamentos (BE ou BE+P4) de acordo com o diâmetro do folículo dominante no momento da inserção do implante (D0). Os resultados podem ser observados na tabela 4.

**Tabela 4.** Dinâmica folicular de novilhas Nelores pré-pubescentes tratadas com implante auricular de Norgestomet e benzoato de estradiol associado ou não a progesterona injetável.

	BE	BE+P4
Número de animais	9	9
Diâmetro FD D0 (cm)	1,12±0,05	1,05±0,04
Ovulações no início tratamento (%)	22,2 (2/9)	44,4 (4/9)
Emergência da onda folicular (dias)	3,33±0,33	2,67±0,19
Diâmetro FD D8 (cm)	0,86±0,07	1,01±0,07
Diâmetro FD máx (cm)	1,05±0,05 <sup>a</sup>	1,26±0,06 <sup>b</sup>
Taxa de ovulação final do tratamento (%)	100,0 (8/8)	77,7 (7/9)
Intervalo retirada implante-ovulação (h)	73,7±1,7	72,0±0,0

Torres-Júnior et al. (2005) avaliaram o efeito da administração de PGF no momento da inserção do implante (D0) em novilhas cíclicas tratadas com implante auricular contendo Norgestomet e Benzoato de estradiol. No experimento foram utilizadas 22 novilhas Nelore (*Bos indicus*) cíclicas de 20 a 24 meses de idade. Os resultados estão apresentados na tabela 5.

**Tabela 5.** Efeito da administração de PGF no início do tratamento em novilhas Nelore (*Bos indicus*) tratadas com implante auricular de Norgestomet e benzoato de estradiol.

	c/ PGF D0	s/ PGF D0
Número de animais	11	11
Diâmetro folicular no Dia 0 (cm)	0,97 ± 0,07	1,05 ± 0,05
Diâmetro do FD no Dia 8 (cm)	0,98 ± 0,05	1,02 ± 0,05
Diâmetro máximo do folículo dominante (cm)	1,17 ± 0,07	1,26 ± 0,05
Momento da ovulação (horas)	72,0 ± 0,0	72,0 ± 0,0
Taxa de ovulação (%)	90,9 (10/11)	81,8 (9/11)
Taxa de concepção (%)	45.5 (5/11)	45.5 (5/11)

Os resultados apontam que não houve diferença significativa em nenhum dos parâmetros avaliados ( $P>0,05$ ), sendo, provavelmente, decorrente do menor bloqueio na pulsatilidade do LH pelo implante de Norgestomet. Esses resultados contrastam com os observados em experimentos que utilizaram PGF no D0 em protocolos com dispositivos intravaginas de P4.

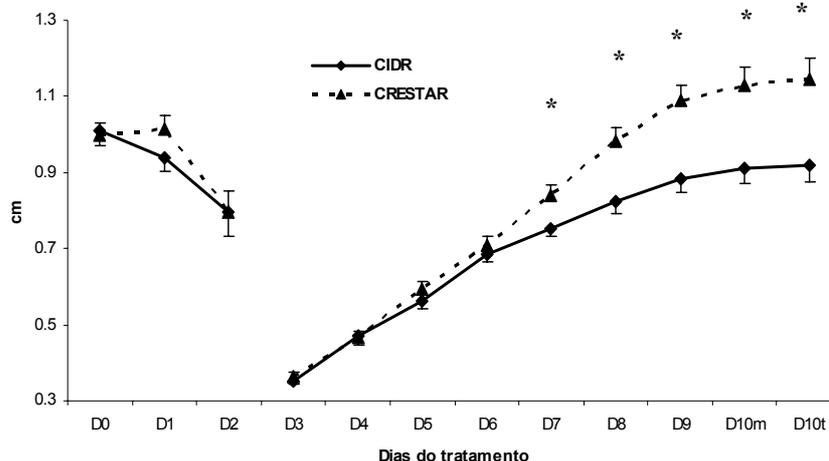
Sá Filho et al. (2005b) avaliaram o efeito da adição ou não de uma dose de PGF no momento da inserção do implante auricular contendo Norgestomet ou do dispositivo intravaginal de P4 (Fatorial 2x2). No experimento foram utilizadas 48 novilhas cíclicas pré-sincronizadas com duas doses de PGF<sub>2α</sub> (Dia-24 e Dia-12). Os resultados estão apresentados na tabela 6 e Figura 5.

**Tabela 6.** Efeito da administração de PGF no início do protocolo de sincronização na dinâmica folicular de novilhas Nelore (*Bos indicus*) com implante auricular contendo Norgestomet (Crestar®) ou dispositivo intravaginal de P4 (CIDR®).

	CIDR®	CIDR® +PGF	Crestar®	Crestar® +PGF	Valor de P		
					Impl.	PGF	Impl x PGF
Número de animais	10	11	12	12			
Diâmetro FL Dia 0	1,01±0,04	1,02±0,05	0,99±0,04	1,02±0,06	0,83	0,66	0,86
Emergência Folicular	3,2±0,18	3,0±0,23	3,0±0,17	2,83±0,21	0,38	0,38	0,97
Diâmetro FD Dia 8	0,76±0,05 <sup>b</sup>	0,89±0,04 <sup>a</sup>	0,98±0,04 <sup>a</sup>	0,99±0,06 <sup>a</sup>	<0,01	0,21	0,17
Diâmetro FD na IATF	0,81±0,05 <sup>b</sup>	1,03±0,06 <sup>ab</sup>	1,12±0,08 <sup>a</sup>	1,18±0,07 <sup>a</sup>	<0,01	0,08	0,27
Diâmetro FL máximo	0,88±0,05 <sup>b</sup>	1,06±0,05 <sup>ab</sup>	1,15±0,07 <sup>a</sup>	1,20±0,06 <sup>a</sup>	<0,01	0,11	0,28
Diâmetro FL ovulatório	0,97±0,09 <sup>b</sup>	1,10±0,06 <sup>ab</sup>	1,18±0,07 <sup>a</sup>	1,26±0,05 <sup>a</sup>	0,02	0,31	0,73
Taxa de crescimento folicular médio (cm/dia)	0,09±0,01 <sup>b</sup>	0,11±0,01 <sup>ab</sup>	0,13±0,01 <sup>a</sup>	0,13±0,01 <sup>a</sup>	0,01	0,39	0,17
Taxa de ovulação (%)	40,0(4/10) <sup>b</sup>	72,7(8/11) <sup>ab</sup>	83,3(10/12) <sup>a</sup>	83,3(10/12) <sup>a</sup>	0,03	0,15	0,22
Momento da ovulação (h)	84,0±6,93 <sup>xb</sup>	77,1±2,42 <sup>xab</sup>	74,4±1,60 <sup>ay</sup>	72,0±0,00 <sup>ay</sup>	0,01 (*<0,01)	0,24 (*0,02)	0,19

\*Teste de Bartlett ( $x \neq y$ ),  $a \neq b$  na mesma coluna indica diferença estatística ( $p < 0,05$ ).

Os resultados demonstram que houve efeito do uso de PGF no início do tratamento apenas na sincronização da ovulação. No entanto, o implante auricular de Norgestomet promoveu aumento na taxa de crescimento folicular, no diâmetro do folículo dominante, na taxa de ovulação e maior sincronia das ovulações quando comparado ao dispositivo intravaginal de P4 em novilhas *Bos indicus*.

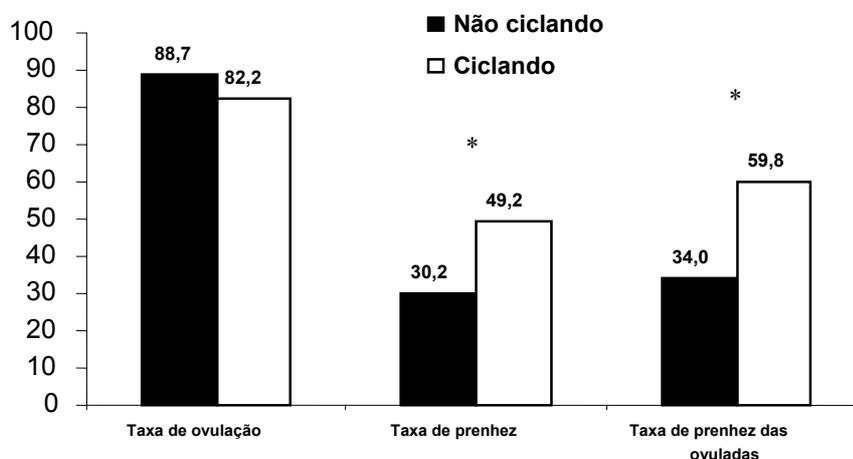


**Figura 5.** Dinâmica folicular de novilhas Nelore (*Bos indicus*) tratadas com implante auricular contendo Norgestomet (Crestar®) ou dispositivo intravaginal de P4 (CIDR®)

\* ( $p < 0,05$ ).

Diante dos resultados observados nos experimentos anteriores pôde-se concluir que é possível obter satisfatórias taxas de ovulação que justificam o emprego da IATF, tanto em novilhas Nelore púberes quanto em pré-púberes tratadas com Benzoato de estradiol associado ao implante auricular com Norgestomet. Assim, com o objetivo melhorar os resultados da IATF em novilhas, Sá Filho et al. (2005c) avaliaram o efeito da administração de 400 UI de eCG no momento da retirada do implante auricular

contendo Norgestomet em novilhas Nelore cíclicas e não cíclicas. Exame ultrassonográfico foi realizado em 177 animais no dia do início do tratamento de sincronização para determinar a presença ou não de CL. A partir dessa avaliação, os animais foram agrupados em fatorial 2x2 de acordo com a ciclicidade e tratamento com eCG. Os resultados estão apresentados na tabela 7 e na figura 6.



**Figura 6.** Efeito da ciclicidade na taxa de ovulação e de prenhez de novilhas Nelore (*Bos indicus*) submetidas à IATF.

\*( $p < 0,05$ )

**Tabela 7.** Efeito da ciclicidade e da administração de eCG (400UI) na dinâmica folicular de novilhas Nelore (*Bos indicus*) tratadas com implante auricular contendo Norgestomet associado ao benzoato de estadiol.

	Não ciclando (n=53)	Ciclando (n=124)	sem eCG (n=87)	com eCG (n=90)	Valor P (Teste F)	
					Ciclicidade	eCG
Ø FD D8 (cm)	0,89±0,02	0,82±0,02	0,82±0,02	0,86±0,02	0,04	0,28
Ø FD na IATF (cm)	1,02±0,03	1,00±0,02	0,95±0,02	1,06±0,02	0,58	0,0009
Taxa ovulação % (n)	88,7 (47/53)	82,2 (102/124)	73,6 (64/87)	94,4 (85/90)	0,28	0,0001
Ø do CL cinco dias após a IATF (cm)	1,42±0,04	1,50±0,03	1,39±0,03	1,55±0,03	0,04	0,0001
Taxa prenhez % (n)	30,2 (16/53)	49,2 (61/124)	36,8 (32/87)	50,0 (45/90)	0,02	0,04
Taxa prenhez nas ovuladas % (n)	34,0 (16/47)	59,8 (61/102)	50,0 (32/64)	52,9 (45/85)	0,004	0,71

O tratamento com eCG aumentou o diâmetro folicular, a taxa de ovulação, o diâmetro do CL e a taxa de prenhez à IATF. Novilhas Nelore não cíclicas apresentaram menor diâmetro do CL e menor taxa de prenhez que novilhas ciclando (Figura 7;  $p < 0,05$ ). Com isto, pode-se concluir que é possível obter taxas de prenhez satisfatórias em novilhas Nelore tratadas com eCG e/ou ciclando em programas de sincronização da ovulação com implante auricular contendo Norgestomet e benzoato de estradiol para IATF.

Em recente experimento, Sá Filho et al. (2008) avaliaram o efeito da utilização de diferentes tipos de indutores de ovulação em novilhas Nelore cíclicas tratadas com implante auricular contendo Norgestomet novo ou reutilizado (Fatorial 2x3). No experimento, 620 novilhas ciclando (com CL) oriundas de três fazendas comerciais dos estados do Paraná, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul foram selecionadas de acordo com a presença de CL no dia do início do tratamento (Dia 0). A partir desta avaliação, os animais

foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos experimentais receberam um implante auricular (Crestar<sup>®</sup> Novo ou Crestar<sup>®</sup> utilizado previamente por nove dias) associado à administração im de 2mg de BE no D0. No momento da retirada do implante (D8) foram administradas im 1,5mg de d-cloprostenol (Preloban<sup>®</sup>, Intervet) e 300UI de eCG (Folligon<sup>®</sup>, Intervet). Nesse mesmo momento, as fêmeas foram distribuídas homoganeamente de acordo com o escore de condição corporal (ECC) em três grupos experimental: BE, Cipionato de estradiol (CE) ou GnRH. As fêmeas do grupo CE receberam 0,5mg de CE (ECP<sup>®</sup>, Pfizer), no momento da retirada do implante auricular (D8). No grupo BE, administrou-se 1mg de BE 24 horas após a retirada do implante (D9). No grupo GnRH as novilhas receberam 100µg de Gonadorelina (Fertagil<sup>®</sup>, Intervet) no momento da IATF (D10). Todas as fêmeas foram inseminadas em tempo fixo 54 horas após a retirada do implante auricular. No momento da IATF, as fêmeas foram avaliadas por ultrassonografia para identificar e mensurar o maior folículo presente nos ovários. O diagnóstico de gestação foi realizado 30 dias após a IATF. Não foram observadas interações entre os diferentes indutores de ovulação (BE, CE ou GnRH) e os tipos de implantes auriculares utilizados (novo ou re-utilizado) no diâmetro folicular na IATF e na taxa de prenhez ( $p>0,05$ ). Os resultados principais estão apresentados na tabela 8.

**Tabela 8.** Efeito da utilização de diferentes indutores de ovulação em novilhas Nelore (*Bos indicus*) tratadas com implante auricular contendo Norgestomet novo ou re-utilizado no diâmetro folicular no momento da inseminação e na taxa de prenhez.

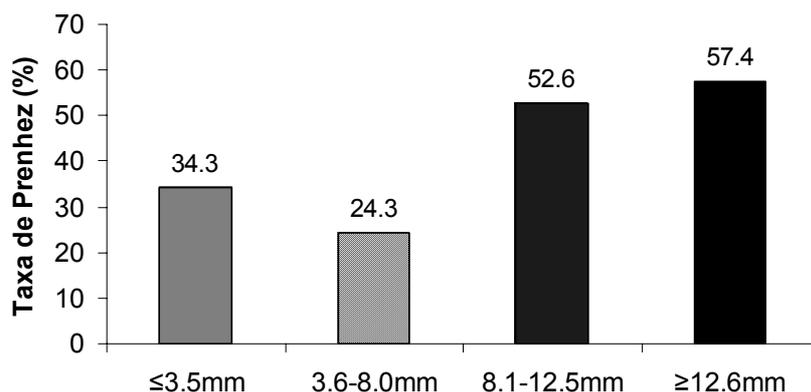
		Ø folicular na IATF (mm)	Taxa de Prenhez (%)
<b>Indutor de ovulação</b>	<b>BE</b>	8,28±0,03 <sup>b</sup>	40,4 (88/218)
	<b>CE</b>	8,09± 0,03 <sup>b</sup>	48,3 (99/205)
	<b>GnRH</b>	9,39± 0,03 <sup>a</sup>	48,7 (95/195)
<b>Tipo do implante</b>	<b>Novo</b>	9,20±0,02 <sup>a</sup>	46,6 (142/305)
	<b>Reutilizado</b>	7,90± 0,03 <sup>b</sup>	44,3 (139/314)

a≠b na mesma coluna indica diferença estatística ( $p<0,05$ )

Nesse estudo, avaliaram-se outras variáveis que podem influenciar a resposta folicular e a taxa de prenhez de novilhas Nelore (*Bos indicus*) submetidas a protocolos de sincronização da ovulação para IATF. Observou-se efeito significativo da condição corporal no início do tratamento, no diâmetro folicular no momento da IATF e na taxa de prenhez à IATF. As novilhas com ECC  $\geq 3,25$  apresentaram maior diâmetro folicular e maior taxa de prenhez ( $P=0,03$ , Tabela 9). O diâmetro folicular no momento da IATF influenciou a taxa de prenhez. Novilhas com folículo maior que 8mm no momento da IATF obtiveram maior taxa de concepção ( $P=0,001$ , Figura 7). Outro resultado observado foi o efeito significativo da fazenda na taxa de prenhez à IATF [Fazenda A= 55,2%<sup>a</sup> (48/87), B=41,1%<sup>b</sup> (173/421) e C= 54,1%<sup>a</sup> (60/111);  $p=0,008$ ], sendo que este efeito da fazenda pode ser decorrente principalmente do tipo de alimentação ou do grau de maturidade sexual em que as novilhas sincronizadas apresentavam ao início do tratamento hormonal.

**Tabela 9.** Efeito do escore de condição corporal no diâmetro do folículo dominante no momento da IATF e na taxa de prenhez de novilhas Nelore (*Bos indicus*).

	$\leq 2,75$	3	$\geq 3,25$	P
<b>Diâmetro Folicular na IATF (mm)</b>	8,21±0,03 <sup>b</sup>	8,29± 0,03 <sup>b</sup>	9,31± 0,03 <sup>a</sup>	0,03
<b>Taxa de Prenhez (%)</b>	41,5 <sup>b</sup> (105/253)	43,1 <sup>b</sup> (84/195)	54,1 <sup>a</sup> (93/172)	0,03



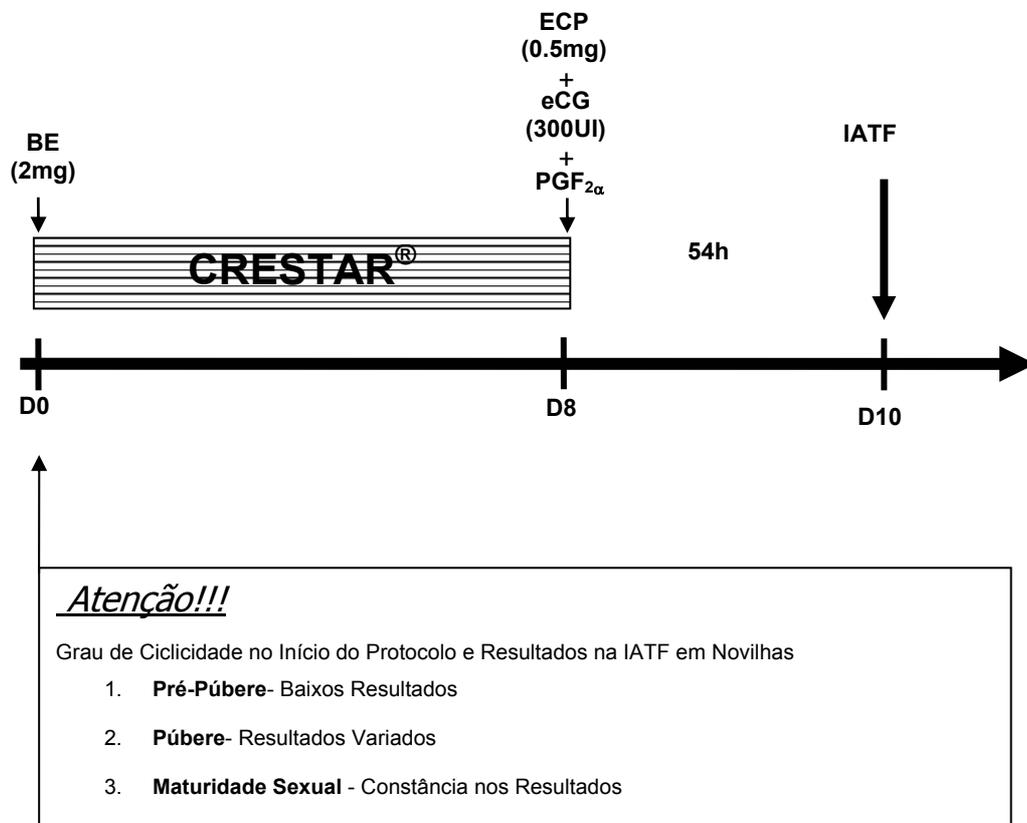
**Figura 7.** Relação entre o diâmetro do foliculo no momento da IATF e a taxa de prenhez de novilhas Nelore (n=617 inseminações) tratadas com implante auricular associado ao benzoato de estradiol ( $a \neq b = p < 0,05$ ).

### Conclusão

Inúmeras vantagens são obtidas com o emprego da inseminação artificial em fêmeas bovinas. A inseminação artificial em tempo fixo apresenta-se como uma alternativa para superar os entraves ligados principalmente, a baixa taxa de serviço e a limitações de infra-estrutura nas fazendas. Problemas referentes ao manejo das pastagens destinadas a realização dos rodeios diários de observação de cio e da necessidade de mão-de-obra permanente na fazenda durante os programas tradicionais de inseminação artificial são entraves para o desenvolvimento dessa biotecnologia. Na atualidade, inúmeros protocolos para sincronizar a ovulação com o objetivo de realizar a inseminação artificial em tempo fixo em novilhas estão disponíveis, sendo que a escolha do protocolo mais apropriado depende da avaliação técnica das condições dos animais a serem utilizados. Pelos dados apresentados, nota-se que é possível obter resultados satisfatórios após IATF em novilhas, no entanto, estes resultados são dependentes do grau de ciclicidade, condição corporal e da maturidade sexual destas fêmeas ao início do protocolo de sincronização. Estudos futuros devem ser realizados visando aumentar a proporção de novilhas sexualmente maduras no início da estação reprodutiva aumentando assim, a eficiência técnica e econômica dos programas de IATF em novilhas Nelore.

## Proposta de protocolo de sincronização da ovulação de novilhas *Bos indicus* para inseminação artificial em tempo fixo.

Com base nos dados obtidos, propõe-se:



### Referências bibliográficas

ANUÁRIO DA PECUÁRIA BRASILEIRA (ANUALPEC), 2008.

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

BARUSELLI, P.S.; REIS, E.L.; CARVALHO, N.A.T.; CARVALHO, J.B.P. eCG increase ovulation rate and plasmatic progesterone concentration in Nelore (*Bos indicus*) heifers treated with progesterone releasing device. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON ANIMAL REPRODUCTION-ICAR, 1., 2004, Porto Seguro. **Proceedings...** 2004b.

BERGFELD, E. D.; KOJIMA, N.; WEHRMAN, M. F.; CUPP, A. S.; PETERS, K. E.; MARISCAL, V.; SANCHEZ, T.; KITOK, R. J.; GARCIA-WINDER, M.; KINDER, J. E. Frequency of luteinizing hormone pulses and circulating  $17\beta$ -oestradiol concentrations in cows is related of concentration of progesterone in circulation when the progesterone comes from either an endogenous or exogenous source. *Animal Reproduction Science*, v. 37, n. 3-4, p. 257-265, 1995.

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.

BYERLEY, D. J.; STAIGMILLER, R. B.; BERARDINELLI, J. G.; SHORT, R. E. Pregnancy rates of beef heifers bred either on puberal or third estrus. **Journal Animal Science**, v. 65, p. 645-650, 1987.

CARVALHO, J.B.; CARVALHO, N.A.; 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. 167-75, 2008.

CARVALHO, J.B.P. Sincronização da ovulação com dispositivo intravaginal de progesterona (CIDR®) em novilhas *B. indicus*, *B.indicus* x *B.taurus* e *B. taurus*. São Paulo: Universidade de São Paulo, 2004. Dissertação (Doutorado).

CUTAIA, L.; TRÍBULO, R.; ALISIO, L.; TEGLI, J. C.; MORENO, D.; BÓ, G. A. Efecto de los tratamientos con dispositivos DIV-B nuevos o reutilizados en los índices de preñez en vacas y vaquillonas inseminadas a tiempo fijo (IATF). In: SIMPOSIO INTERNACIONAL DE REPRODUCCIÓN ANIMAL, 4., Córdoba. **Anais...** Córdoba: Instituto de Reproducción Animal de Córdoba, 2001, p. 244.

DESJARDINS, C.; HAFS, H. D. Maturation of bovine female genitalia from birth through puberty **Journal Animal Science**, v. 28, p. 502-507, 1969.

HONARAMOOZ, A.; ARAVINDAKSHAN, J.; CHANDOLIA, R.K.; BEARD, A.P.; BARTLEWSKI, P.M.; PIERSON, R.A.; RAWLINGS, N.C. Ultrasonographic evaluation of the pre-pubertal development of the reproductive tract in beef heifers **Animal Reproduction Science**, v. 80, p. 15–29, 2004.

KOJIMA, N.; STUMPF, T.T.; CUPP, A.S.; WERTH, L.A.; ROBERSON, M.S.; WOLFE, M.W.; KITTOCK, R.J.; KINDER, J.E. Exogenous progesterone and progestins as used in estrous synchrony regimens do not mimic the corpus luteum in regulation of luteinizing hormone and 17 beta-estradiol in circulations of cows. **Biology of Reproduction**, v. 47, p. 1009-1017, 1992.

MARQUES, M.O.; SÁ FILHO, M.F. ; GIMENES, L.U. ; FIGUEIREDO, T.B. ; SÓRIA, G.F.; BARUSELLI, P.S. Efeito do tratamento com PGF<sub>2α</sub> na inserção ou do eCG na remoção do dispositivo intravaginal de progesterona na taxa de concepção à inseminação artificial em tempo fixo em novilhas Nelore **Anais...** Reunião Sociedade Brasileira de Reprodução Animal, **SBTE**, p. 218, 2005 (abstract).

NOGUEIRA, G.P. Puberdade e maturidade sexual de novilhas *Bos indicus*. **Bioteecnologias da Reprodução em Bovinos** (2º Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada), Londrina, p. 101-112, 2006.

RANDEL, R.D., MOSELEY, W.M.. Serum luteinizing hormone surge and progesterone near estrus in Brahman, Brahman x Hereford and Hereford heifers. **Journal Animal Science**. (Supl. 1),v. 45, p. 199, 1977 abstr.

RATHBONE, M. J.; KINDER, J. E.; FIKE, K.; KOJIMA, F.; CLOPTON, D.; OGLE, C. R.; BUNT, C. R. Recent advances in bovine reproductive endocrinology and physiology and their impact on drug delivery system design for the control of the estrous cycle in cattle. **Advance Drug Delivery Reviews**, v. 50, p. 277-320, 2001.

SÁ FILHO, M.F.; GIMENES, L.U.; MADUREIRA, E.H.; BARUSELLI, P.S. Dinâmica folicular de novilhas nelore (*Bos indicus*) pré-puberes tratadas com implante auricular de norgestomet e benzoato de estradiol associado ou não à progesterona injetável. **Reunião Sociedade Brasileira de Reprodução Animal**, p. 220, 2005a.

SÁ FILHO, M.F.; GIMENES, L.U. ; AYRES, H.; CARVALHO, J.B. ; CARVALHO, N.A.T; BARUSELLI, P.S. Dinâmica folicular de novilhas *Bos indicus* tratadas com implante auricular de norgestomet ou com dispositivo intravaginal de progesterona. **Reunião Sociedade Brasileira de Reprodução Animal**, p. 292, 2005b.

SÁ FILHO, M.F.; PENTEADO, L.; REIS, E.L.; GIMENES, L.U.; BARUSELLI, P.S. Efeito da ciclicidade e do tratamento com eCG na dinâmica folicular e na taxa de concepção de novilhas Nelore tratadas com implante auricular de norgestomet e benzoato de estradiol **Reunião Sociedade Brasileira de Reprodução Animal**, p. 291, 2005c.

SÁ FILHO, M. F. ; REIS, E.L. ; AYRES, H.; GIMENES, L.U.; PERES, A.A.P.; CARVALHO, C.A.B. ; CARVALHO, J.B.; ARAUJO, C.A.S.C.; BARUSELLI, P.S. Effect of oestradiol valerate or benzoate on induction of a new follicular wave emergence in *Bos indicus* cows and heifers treated with norgestomet auricular implant. **Reproduction Fertility and Development**, v. 18, p. 289, 2006.

SÁ FILHO, M.F.; SALES, J.N.S.; CREPALDI, G.A. ; GIROTTO, R.W.; CAVALHEIRO, I.; BARUSELLI, P.S. Effect of different ovulation inductors on pregnancy rates of Nelore (*Bos indicus*) heifers synchronized to fixed-time artificial insemination. **ISABR - International Symposium on Animal Biology of Reproduction**, 2008 (no prelo).

SANTOS, J.E.P; SA FILHO, M.F. Nutrição e reprodução em bovinos. **Bioteχνologias da Reprodução em Bovinos** (2º Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada), Londrina, p. 30-54, 2006.

SOUZA, E. M., J. C. MILAGRES, M. A. SILVA, A. J. REGAZZI E A. G. C. CASTRO. Influências genéticas e de meio ambiente sobre a idade ao primeiro parto em rebanhos de Gir leiteiro. **Revista Sociedade Brasileira Zootecnia.**, v. 24(6), p. 926-935, 1995.

TORRES, L.F.T. Inseminação artificial em rebanhos comerciais de gado de corte. *In* Anais do 4º Simpósio Sobre Pecuária de Corte: Produção do Novilho de Corte. Ed. A. M. Peixoto, J.C. Moura e V.P. Faria. FEALQ, Piracicaba, SP. pp: 129-159, 1996.

TORRES-JÚNIOR, J.R.S.; SÁ FILHO, M.F.; GIMENES, L.U.; MADUREIRA, E.H.; BARUSELLI, P.S. Efeito da administração de PGF2 $\alpha$  no início do tratamento com implante auricular de norgestomet na dinâmica folicular de novilhas Nelore (*Bos indicus*). **Reunião Sociedade Brasileira de Reprodução Animal**, p. 222, 2005.

WILTBANK, J.N., S. ROBERTS, J. NIX E L. ROWDEN. Reproductive performance and profitability of heifers fed to weigh 272 or 318 kg at the start of the first breeding season. **Journal Animal Science**, v. 60, p. 25-34, 1985.