

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ
ESCOLA DE CIÊNCIAS DA VIDA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

FRANCISCO ROMANO GAIEVSKI

**COMPARAÇÃO ENTRE PROTOCOLOS PARA A INSEMINAÇÃO
ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO COM UMA, DUAS INSEMINAÇÕES OU COM
A RESSINCRONIZAÇÃO DA OVULAÇÃO EM VACAS *Bos taurus indicus***

*Comparison between protocols for timed artificial insemination by one, two
inseminations or by ovulation resynchronization in bos taurus indicus cows*

Francisco Romano Gaievski – Programa de Pós Graduação em Ciência Animal
– Pontifícia Universidade Católica do Paraná – Curitiba – Brasil.

CURITIBA PR

2019

**COMPARAÇÃO ENTRE PROTOCOLOS PARA A INSEMINAÇÃO
ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO COM UMA, DUAS INSEMINAÇÕES OU COM
A RESSINCRONIZAÇÃO DA OVULAÇÃO EM VACAS *Bos taurus indicus***

*Comparison between protocols for timed artificial insemination by one, two
inseminations or by ovulation resynchronization in bos taurus indicus cows*

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, área de concentração Saúde, Tecnologia e Produção Animal, da Escola de Ciências da Vida da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, para obtenção do título de Doutor em Ciência Animal em Saúde, Tecnologia e Produção Animal Integrada.

Orientador(a): Luiz Ernandes
Kozicki

**CURITIBA PR
2019**

SUMÁRIO

DEDICATÓRIA	iv
AGRADECIMENTOS	v
FORMATO DA DISSERTAÇÃO	vi
RESUMO GERAL	vii
ABSTRACT	ix
CAPÍTULO 1	11
1. INTRODUÇÃO	11
1.1 CONTEXTUALIZAÇÃO	11
1.2 IMPACTO DA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO	12
1.3 PROTOCOLOS HORMONAIIS NOS PROGRAMAS DE IATF	12
1.4 PROTOCOLOS COM PROGESTÁGENOS	15
1.5 RESSINCRONIZAÇÃO	18
1.6 DIAMETRO DO FOLÍCULO NA IATF	19
1.7 GnRH	20
2.0 HIPÓTESE	21
3.0 OBJETIVO	21
CAPÍTULO 2	22
COMPARAÇÃO ENTRE PROTOCOLOS PARA A INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO COM UMA, DUAS INSEMINAÇÕES OU COM A RESSINCRONIZAÇÃO DA OVULAÇÃO EM VACAS <i>Bos taurus indicus</i> <i>Comparison between protocols for timed artificial insemination by one, two inseminations or by ovulation resynchronization in bos taurus indicus cows</i>	
CAPITULO 3	43
CONSIDERAÇÕES FINAIS	43
REFERÊNCIAS	44

Dedico a todos aqueles que de algum modo contribuíram e/ou possibilitaram a realização desta Tese!

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente a Deus, por ter me guiado em todos os momentos da minha vida.

Ao meu professor orientador Dr Luiz Ernandes Kozicki por todo apoio, dedicação e paciência! Muito obrigado por ter acreditado em mim e, por ter mostrado e demonstrado os caminhos a serem percorridos. O Sr simboliza o verdadeiro significado da palavra Mestre; é fonte de conhecimento técnico diferenciado, mas também inspiração para todos aqueles que acreditam em um Mundo melhor, mais justo e fraterno.

À minha família que soube compreender e incentivar nesta jornada que hora encerra-se.

À Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR) pela possibilidade de realizar este Doutorado.

À todos os Professores do Corpo Docente do Programa de Pós Graduação em Ciência Animal, meu eterno agradecimento pela convivência e por todo conhecimento repassado.

A Carol, que tão responsavelmente, soube orientar, indicar e auxiliar na busca incessante pelo melhor possível.

À todos os Amigos, Colegas, Colaboradores, Proprietários, Funcionários e demais pessoas que de uma ou outra forma contribuíram para realização da presente tese, meu Muito Obrigado.

FORMATO DA TESE

A presente Tese é composta por capítulos.

O capítulo 1 apresenta uma introdução geral, a contextualização, justificativa do tema e os objetivos do estudo, itens determinados pelo Regulamento do Programa de Pós Graduação em Ciência Animal da PUCPR.

O capítulo 2 refere-se ao Artigo científico completo, o qual será formatado nas normas de um Periódico, onde o mesmo será submetido para posterior publicação.

O capítulo 3 finaliza esta Tese com as Conclusões oferecidas pela presente Tese .

As referências Bibliográficas encontram-se ao final da Tese.

RESUMO GERAL

No decurso das últimas décadas a inseminação artificial em tempo fixo (IATF) tem ganhado considerável impulso na sua utilização. A não-necessidade de observação de estro, ou seja a execução da sincronização do estro e da ovulação em qualquer fase do ciclo estral trouxe alento para esta biotécnica. Isto gerou um considerável impulso para a inseminação artificial no todo, aumentando a comercialização de sêmen. O presente estudo objetivou (1) comparar as taxas de prenhez em vacas múltiparas *Bos taurus indicus*, submetidas a programa de Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF), administrando protocolo hormonal com uma Inseminação artificial (IA), com duas IAs consecutivas (a intervalo de 20 horas) e a ressincronização da ovulação (RES), e (2) verificar os efeitos da aplicação do acetato de buserelina (BUS) no 6º e no 12º dia após a IATF sobre os níveis de progesterona sérica. Duzentas e setenta e quatro vacas múltiparas foram distribuídas em três grupos: grupo uma inseminação artificial (G1IA; n=88) submetido no dia zero(D0) à inserção de dispositivo intravaginal com progesterona (P4, 1g) + benzoato de estradiol (BE; 2mg IM); no D7 foi aplicada a prostaglandina $F_{2\alpha}$ (500mcg $PGF_{2\alpha}$, IM); em D8 a P4 foi retirada; em D9 foi aplicado o BE (1mg, IM); em D10 executou-se a IATF + exames de ultrassonografia (US) dos folículos com mensuração do diâmetro; no D16 foi aplicado BUS (21,0 mcg; IM) e coletado sangue para determinação hormonal de P4 sérica; em D22 coleta de sangue; em D41 foi executado o diagnóstico da prenhez (US) + entrada de touros de repasse; em D90 ocorreu a retirada dos touros; em D110 executou-se o DG; o grupo duas IAs (G2IA; n= 88) foi submetido a idêntico protocolo exceto que em D11 foi executada uma segunda IA,(intervalo de 20 horas entre a primeira e a segunda); em D17 houve a coleta de sangue + BUS; em D23 coleta de sangue; o grupo ressincronização (GRES; n=98) foi submetido a idêntico protocolo ao do G1IA, exceto que em D40 executou-se o DG e as vacas não-prenhes receberam o dispositivo de P4+BE; em D47 aplicou-se a $PGF_{2\alpha}$; em D48 procedeu-se a remoção da P4; em D49 BE; em D50 IATF; em D56 coleta de sangue + BUS; em D62 coleta de sangue; em D80 DG (US) + entrada de touros; em D110 retirada dos touros e em D140 executou-se o DG. Foi obtido 50,0 e 47,0% de taxa de prenhez (TP) respectivamente para o G1IA

e GRES referente à uma IA; a TP no G2IA e GRES (relativo a somente à 2ª IA) resultou respectivamente em 58,0% e 50,0% ($P=0,36$); a TP acumulada do GRES e do G2IA foi respectivamente de 73,4 e 58,0 % ($P=0,025$); a TP ao final da estação de monta resultou em 85,2; 88,6 e 87,7 para G1IA, G2IA e GRES respectivamente ($P>0,05$). A média do diâmetro do folículo pré-ovulatório (FPO) à primeira IATF foi de 12,81, 12,16 e 12,76 (G1IA, G2IA e GRES respectivamente), porém alterou-se para 12,69 mm (no GRES) e 13,64 mm (G2IA) ($P=0,031$) à 2ªIA; ovulação antes da IATF ocorreu somente no G2IA, sendo 3,4 % antes da primeira e 27,3% antes da segunda IA; os perfis de progesterona sérica no G1IA, G2IA e GRES mostraram respectivamente 3,47; 3,73 e 3,34 ng/mL no D6, e 4,45; 5,21 e 5,23 ng/mL no D12 após a IATF. Concluiu-se que a ressincronização da ovulação resultou em maior taxa de prenhez ($P<0,05$) que a IATF com uma ou com duas IAs; vacas do G2IA evidenciaram maior diâmetro do FPO que do GRES ($P<0,05$); o diâmetro do FPO à segunda IA, correlacionou-se com a TP; ao final da estação reprodutiva não se observou diferenças na TP entre os grupos; a administração de BUS no 6.dia pós IATF aumentou a concentração de progesterona sérica.

Palavras chaves: Inseminação Artificial, Bovinos, Progesterona, Folículo ovulatório

ABSTRACT

Over the past decades, timed artificial insemination (TAI) has achieved considerable impulse in its use. The lack of estrus observation, ie, the execution of estrus synchronization and ovulation at any stage of the estrous cycle brought encouragement to this biotechnology. This generated considerable impulse for artificial insemination *in totum*, increasing the semen trade. The study aimed to (1) compare pregnancy rates in *Bos taurus indicus* multiparous cows submitted to a Timed Artificial Insemination (TAI) program, administering a hormonal protocol with an artificial insemination (AI), with two consecutive AIs (the interval between 20 hours) and ovulation resynchronization (RES), and (2) to verify the effects of buserelin acetate (BUS) application on the 6th and 12th day after TAI on serum progesterone levels. Two hundred and seventy-four multiparous cows were divided into three groups: group one artificial insemination (G1IA; n = 88) submitted on day zero (D0) to the intravaginal progesterone device insertion (P4, 1g) + estradiol benzoate (BE; 2mg IM); in D7 prostaglandin F2 α (500mcg PGF2 α IM) was applied; in D8 to P4 was removed; in D9, BE was applied (1mg, IM); In D10, IATF + follicle ultrasound (US) examinations were performed with diameter measurement; In D16, BUS (21.0 mcg; IM) was applied and blood was collected for serum P4 hormone determination; in D22 blood collection; in D41, the diagnosis of pregnancy (US) + transfer of bulls was performed; in D90 the bulls were removed; in D110 the DG was executed; group two AIs (G2IA; n = 88) were submitted to the same protocol except that in D11 a second AI was performed (20 hour interval between the first and second); in D17 there was blood collection + BUS; in D23 blood collection; the resynchronization group (GRES; n = 98) was submitted to the same protocol as the G1IA, except that in D40 the DG was performed and the non-pregnant cows received the P4 + BE device; in D47 PGF2 α was applied; in D48 P4 was removed; in D49 BE; in D50 IATF; in D56 blood collection + BUS; in D62 blood collection; in D80 DG (US) + bulls entrance; D110 removed the bulls and D140 executed the DG. It was obtained 50.0 and 47.0% of pregnancy rate (TP) respectively for G1IA and GRES for an AI; TP in G2IA and GRES (relative to only the 2nd IA) resulted respectively in 58.0% and

50.0% ($P = 0.36$); the accumulated GRES and G2IA TP were respectively 73.4 and 58.0% ($P = 0.025$); TP at the end of the breeding season resulted in 85.2; 88.6 and 87.7 for G1IA, G2IA and GRES respectively ($P > 0.05$). The mean diameter of the preovulatory follicle (POF) at the first TAI was 12.81, 12.16 and 12.76 (G1IA, G2IA and GRES respectively), but changed to 12.69 mm (in GRES). and 13.64 mm (G2IA) ($P = 0.031$) at the 2nd IA; ovulation before TAI occurred only in G2IA, 3.4% before the first and 27.3% before the second AI; serum progesterone profiles in G1IA, G2IA and GRES showed respectively 3.47; 3.73 and 3.34 ng / ml in D6, and 4.45; 5.21 and 5.23 ng / mL at D12 after TAI. It was concluded that resynchronization of ovulation resulted in a higher pregnancy rate ($P < 0.05$) than FTAI with one or two AIs; G2IA cows showed larger diameter of the POF than GRES ($P < 0.05$); POF diameter at the second AI correlated with PT; At the end of the reproductive season there were no differences in PT between the groups; administration of BUS at day 6 post IATF increased serum progesterone concentration.

Keywords: Timed Artificial Insemination. Cattle. Progesterone. Two AI. Resynchronization.

CAPÍTULO I

1. Introdução

1.1 Contextualização

O Brasil possui o maior rebanho bovino comercial do mundo, composto por mais de 220 milhões de cabeças. Deste total, os abates superaram 24 milhões, e as exportações de carne bovina brasileira alcançaram volume superior a 1,4 milhões de toneladas (CNA, 2018). Apesar destes números, a pecuária brasileira ainda apresenta entraves de produtividade como: taxa de lotação de 0,6 cabeças por ha; taxa de prenhez (TP) de 56%; e taxa de desfrute na ordem de 20% (Parra, 2008).

Entretanto, esse efeito pode ser minimizado submetendo vacas paridas a protocolos de Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF), que se tem demonstrado eficiente, com vistas ao incremento na TP no início da estação de monta. Isso resultará em menor número de dias para conceber em relação ao sistema de Inseminação Artificial (IA) convencional ou Monta Natural (MN) (Silva et al.,2004). A Inseminação Artificial (IA) apresenta muitas vantagens sobre o sistema de monta natural (MN), dentre as quais cabe destacar o controle zootécnico, controle sanitário, melhoramento genético, relação custo benefício, dentre outras.

A necessidade de se observar a manifestação de estro (visível), para ser utilizado no momento mais apropriado, limitaram a adoção da IA, fato este somente superado com o desenvolvimento da Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF) (Alvarez e Salas,2016). A IATF consiste em protocolos hormonais que permitem realizar a IA em um momento específico, e sem a necessidade de detecção de estro. Rapidamente, a IATF mudou o panorama do uso da IA no rebanho nacional, e o Brasil tornou-se referência mundial na aplicação da técnica de IATF em bovinos de corte.

A IATF vem apresentando um aumento considerável em sua aplicação, atingindo significativos progressos em função do número de protocolos administrados (100 mil em 2002 e 5,2 milhões em 2010), o que equivale à 50% de todas inseminações no Brasil (Baruselli et al.,2010). A IATF foi implantada em larga escala nos rebanhos do Centro-Oeste e Norte do país, em

consequência do maior interesse dos proprietários em ampliar e qualificar a genética e produtividade de seus rebanhos (Almeida et al., 2011).

1.2 O Impacto da Inseminação Artificial em Tempo Fixo

O objetivo primordial de uma propriedade que investe em pecuária de corte deve ser o de alcançar um intervalo entre partos de 12 meses nas matrizes. Para isto, segundo Rossa et al. (2009), é fundamental o emprego da Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF), cuja biotécnica reprodutiva gera incremento na taxa de prenhez.

Devido aos seus resultados e indicações, o uso da IATF alcançou a marca de 50% do total de inseminações realizadas no Brasil em 2010 (Baruselli et al., 2011).

Torres Jr et al. (2009), recomendam o uso da IATF em pecuária de corte, comprovando retorno de 19,1% sobre o investimento, além de redução do intervalo entre partos e ganho genético com os produtos nascidos com esta biotécnica. Entretanto, alertam para a necessidade de mão de obra qualificada para conduzir de modo correto um programa de IATF, maximizando os resultados e minimizando os riscos.

A IATF pode ser empregada também em novilhas de reposição. A utilização de IATF em novilhas, seguido de repasse com touros, não apresentou índice de prenhez significativamente superior em comparação às novilhas submetidas somente à Monta Natural (MN). Entretanto, na estação de monta (EM) seguinte, resultaram em TP mais elevada, sinalizando um efeito benéfico da IATF também sobre esta categoria (Azeredo et al., 2007).

1.3 Protocolos Hormonais nos programas de IATF

A utilização de alguns fármacos permite o controle do ciclo estral, incluindo a sincronização do estro, a luteólise e a ovulação em tempo pré-determinado, obtendo-se índices de fertilidade viáveis com o estro induzido (Sá Filho et al., 2008). Um bom protocolo de sincronização deve ser de fácil aplicabilidade, ter alta probabilidade de sucesso, ser viável economicamente, e ser utilizado em um reduzido espaço de tempo (Vasconcelos e Meneghetti, 2006).

Para a correta manipulação do ciclo estral deve-se: 1) Sincronizar a onda folicular; 2) Controlar a fase progesterônica e 3) Induzir a ovulação. (Baruselli et al.,2015). O desenvolvimento de protocolos hormonais tem evoluído substancialmente nos últimos anos, com destaque ao lançamento de vários esteróides na década de 50, pela disponibilidade das prostaglandinas e sua associação com os progestágenos e estrógenos nos anos 70, pelo uso de exames de ultrassonografia e pelas técnicas de quantificação hormonal a partir de 1980. Na década de 90, novos conceitos, manejos, protocolos e produtos foram disponibilizados e adotados, visando a disseminação da IATF (Madureira e Maturana Filho, 2012).

1.3.1 Prostaglandina F_{2α}

Um dos primeiros protocolos desenvolvidos para a sincronização de estro e da ovulação, visando a inseminação artificial (IA), fundamentou-se no uso da prostaglandina F_{2α} (PGF_{2α}), a qual provoca a lise do corpo lúteo e a consequente manifestação de estro em média aos $2,9 \pm 0,1$ dias pós aplicação, levando a uma sincronização de até 81,2% (Barnabé et al.,1976). O emprego deste fármaco, baseado em seu efeito luteolítico, com aplicação de duas doses de PGF_{2α} intervalo de 14 dias entre as mesmas, e com posterior observação de sinais de estro para proceder à IA, foi possível obter TP na ordem de 51,3% (Alvarez et al.,2003).

Com relação a utilização de PGF_{2α} em protocolos de IATF, baseados em uma fonte exógena de progesterona, a prostaglandina poderá ser aplicada no dia 7 (D7) ou dia 9 (D9) do protocolo, provocando uma queda controlada dos níveis circulantes de progesterona com tendência a uma superior TP na IATF (Vasconcelos e Meneghetti, 2006).

1.3.2 OVSYNCH

Pursley et al. (1995) desenvolveram um protocolo conhecido como Ovsynch, o qual inclui uma dose de hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH) no início do protocolo (dia zero), uma dose de PGF_{2α} após 7 dias (D7), e uma segunda dose de GnRH após 48 horas (D9); finalmente, procede-se a inseminação artificial em tempo fixo 16 horas após, independente de

manifestação comportamental de estro. De acordo com estes autores, a sincronização de estro e da ovulação aproxima-se a 90% quando da aplicação deste protocolo, e assim os animais poderão ser inseminados sem a necessidade de observação de cio, apresentando resultados satisfatórios quando comparados à IA convencional (observação de estro e IA 12 horas após).

Alvarez et al. (2003), utilizando o protocolo Ovsynch, procederam a IA com intervalo pré-fixado de 20 horas e obtiveram TP de 41,4%, sendo que, dos animais que ficaram gestantes, 80% haviam manifestado sinais comportamentais de estro. Desta forma, concluíram ser possível a obtenção de TP semelhantes àquelas alcançadas com a observação de estro, e aumentar a taxa de prenhez aos 90 dias com este protocolo.

Destacando a importância de buscar alternativas de protocolos que não utilizem fontes de estrógenos como indutores de ovulação (Benzoato de Estradiol – BE, por exemplo), devido a proibição em alguns países, Bó e Mapletoft (2010), recomendam utilizar o protocolo conhecido como Ovsynch, como alternativa para a adoção da IATF. De acordo com Furtado et al. (2011), o uso de tal protocolo permite que as IAs possam ser realizadas de 8 a 12 horas após a segunda dose de GnRH, sem a necessidade de observar sinais de estro.

1.3.3 COSYNCH, PRESYNCH e SELECTSYNCH

Com variação ao protocolo Ovsynch, outro protocolo foi proposto – o Cosynch - que difere do primeiro pelo fato de se realizar as inseminações artificiais concomitantemente à aplicação da segunda dose de GnRH, ou seja, 48 hs após a aplicação de PGF2 α , otimizando o tempo e a mão de obra utilizada nos protocolos (DeJarnette e Marshall, 2003).

Procurando obter melhor resposta ao protocolo Ovsynch, desenvolveu-se um protocolo de pré sincronização (Presynch) o qual consiste em aplicar duas doses de PG, intervaladas 14 dias entre cada aplicação, e que, segundo Moreira et al. (2001), proporcionou aumento de 18% na taxa de gestação (25% para 43%).

As variações entre os protocolos foram se sucedendo, dando origem ao Selectsynch, no qual os animais, após receber a dose de PGF2 α , são

inseminados artificialmente com observação de cio; este protocolo é utilizado, principalmente, em locais onde a detecção de cio é mais eficiente (Rudolph et al., 2011).

1.4 Protocolos com progestágenos

Wiltbank et al. (1971) investigaram a sincronização do estro em bovinos de corte através do uso de implantes subcutâneos (auriculares) de progestágenos (norgestomet), associados ao estradiol (intramuscular).

Posteriormente, os dispositivos liberadores de progesterona, passaram a serem constituídos de silicone e utilizados via intravaginal, com o objetivo de controlar o momento do estro e da ovulação nas fêmeas bovinas (Schneider et al., 2009).

Desde então, novos protocolos despertaram o interesse dos pesquisadores, visando a indução e a sincronização do estro através de uma fonte exógena de P4. Estes protocolos incluem a aplicação conjunta de progestágenos e estrógenos no início do protocolo (D0); a retirada da fonte de progesterona exógena concomitante com a aplicação de PGF2 α (ou seus análogos) no oitavo dia (D8); a aplicação de uma fonte de estrógeno após 48 horas (D10); e a realização da IATF 30 horas após (Ereno et al. 2007; Moreira et al., 2007),

A exposição das fêmeas bovinas a uma fonte exógena de progesterona por um período de 7 a 10 dias mimetiza a fase luteínica do ciclo estral, e isto pode ser obtido pela administração oral (Acetato de Melengestrol), implantes vaginais (Medroxiprogesterona –MGA; Acetato de Fluorogestona – FGA), ou ainda com implantes auriculares (Norgestomet) (Madureira e Maturana Filho, 2012).

Nestes protocolos, o estrógeno administrado concomitantemente com a presença de uma fonte exógena de progesterona (dispositivos intravaginais com P4) ou endógena (corpo lúteo), provoca a regressão folicular devido a diminuição dos níveis circulantes de hormônio Folículo Estimulante (FSH) e hormônio Luteinizante (LH) (Baruselli et al., 2010). A associação de estradiol com progestágeno, provoca inibição do FSH e LH, e, por consequência, os folículos presentes sofrem atresia, iniciando uma nova onda folicular e, na

maioria dos animais, haverá um folículo dominante na retirada dos implantes de P4.

Outros fármacos tem sido incorporados aos protocolos de IATF, entre eles a Gonadotrofina Coriônica Equina (eCG) (Ereno et al., 2007; Moreira et al., 2007; Souza et al., 2015a; Souza et al., 2016).

Sá Filho et al. (2010), após aplicarem eCG no momento de remoção do implante de Norgestomet, observaram incremento na taxa de crescimento e no diâmetro ($1,53 \pm 0,1$ vs. $0,48 \pm 0,1$ mm/dia) do folículo dominante (FD), além de melhora na taxa de ovulação (TO) (80,8% vs. 50,0%) e taxa de prenhez (TP) (80,8% vs. 50,0%).

Para Moreira et al. (2007), protocolos baseados em uma fonte exógena de progesterona podem ser acrescidos de outros hormônios, tais como benzoato de estradiol (BE), PGF2 α , GnRH e eCG. Outros protocolos tem sido divulgados associando-se o GnRH + PGF2 α + BE, com obtenção do aumento do diâmetro folicular e taxa de ovulação em vacas acíclicas (Vasconcelos et al., 2009).

Gaievski et al. (2015), utilizaram um protocolo incluindo P4 + BE + PGF2 α em vacas multíparas, obtendo TP de 48,0%; ao adicionar GnRH no momento da IATF, obtiveram TP de 53,84%; ao aplicar o eCG no momento da retirada do progestágeno, obtiveram 57,69% de TP; e quando associaram GnRH + eCG obtiveram TP de 58,33%. Em nulíparas os resultados de TP foram de 53,33%, 57,14%, 57,14% e 56,25% para os mesmos protocolos, respectivamente.

Procurando determinar o impacto do uso da eCG associada a outros fármacos e práticas de manejo, Souza et al. (2016) utilizaram em torno de 500 vacas *Bos indicus*, submetendo-as a protocolo de IATF: Grupo eCG + Desmama temporária; Grupo eCG + Benzoato de Estradiol; Grupo eCG + Cipionato de Estradiol obtendo TP de 51,1%; 47,1% e 47,8 %, respectivamente.

Um trabalho conduzido por Souza et al. (2015a) objetivou comparar a eficiência reprodutiva de vacas Nelore pluríparas submetidas a protocolo de IATF com a utilização de progestágenos intravaginais, divididas em dois grupos conforme o uso de eCG no momento da retirada do implante vaginal, ou Desmama Temporária por 48hs a partir da retirada do implante de

progesterona. Ao final da estação de monta, as TPs resultaram em 59% para o grupo eCG vs. 63,3% do grupo desmame temporário. Também foram utilizados implantes vaginais de progestágenos, para checar o efeito do primeiro, segundo e terceiro uso sobre a TP em vacas Nelore submetidas à IATF (Souza et al.,2015b).

1.4.1 Indutores de ovulação nos protocolos de IATF

O controle do momento ideal da ovulação é fundamental para o sucesso de um programa de IATF. Os indutores de ovulação mais utilizados em bovinos são o benzoato de estradiol (BE) e o Hormônio Liberador de Gonadotrofinas (GnRH) (Siqueira et al.,2008).

Madureira e Maturana Filho (2012) ressaltam que, para efetuar a IATF, é necessário sincronizar o pico de LH e assim provocar ovulação em momento determinado. Isto poderá ser obtido com a aplicação do próprio Hormônio Luteinizante (LH), da gonadotrofina coriônica equina (eCG), da gonadotrofina coriônica humana (hCG), do hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH), ou ainda uma fonte de estradiol (benzoato, cipionato ou valerato de estradiol).

Segundo Moreira et al. (2007), o BE age como um agente sincronizador da ovulação pelo seu efeito indutor de um pico de LH, enquanto o GnRH provoca a ovulação do folículo dominante (FD) desde que o mesmo esteja em fase pós divergência, pois tal hormônio possui efeito de FSH e de LH, e tem uma atuação mais rápida em comparação aos estrógenos, atuando diretamente na hipófise produzindo um pico de LH, agindo no folículo pré ovulatório (Furtado et al.,2011).

Com relação ao uso de eCG, sabe-se que este possui capacidade de ligar-se aos receptores de FSH e LH (Furtado et al., 2011). Cavalieri et al. (1997), obtiveram um incremento na sincronização da ovulação, redução no tempo da ovulação e a liberação de um pico de LH acrescentando o eCG em protocolos de IATF. Sá Filho et al. (2010), concluíram que o tratamento de novilhas Nelore com eCG em rebanho comercial, apresentou aumento na taxa de ovulação e na taxa de prenhez, com relação ao grupo que não recebeu este tratamento. Entretanto, Ereno et al. (2007) não verificaram efeito positivo ao se

adicionar eCG em protocolos de IATF em vacas Nelore lactantes, com boa condição corporal, obtendo taxas de prenhez de 53,6% e 50,6% com e sem eCG, respectivamente.

Em trabalho apresentado por Moreira et al. (2007), procurando avaliar a eficiência no controle da ovulação em protocolos de IATF em vacas solteiras e com bezerro ao pé, com exposição prévia de progesterona via implante auricular (Norgestomet) e o uso concomitante de diferentes hormônios (eCG, GnRH e BE), não identificaram efeito adicional benéfico na TP nos grupos avaliados.

Visando comparar dois ésteres de estradiol como indutores de ovulação sobre o diâmetro folicular (DF) e a TP, França et al. (2015) utilizaram 50 vacas que receberam 1 mg de CE (IM), no momento da retirada do progestágeno, e outro grupo de 44 animais receberam 1 mg de BE 24 horas após a retirada do progestágeno. Os resultados para diâmetro folicular foram 11,45 mm vs. 10,71 mm; e TP de 34,10% vs. 40%, para BE vs. CE, respectivamente. Os autores concluíram que o CE poderia ser uma alternativa ao BE, por simplificar o protocolo de IATF, executando-se um manejo a menos.

1.5 Ressincronização

Procurando maximizar os resultados obtidos na IATF, implementou-se a técnica de ressincronização (RES), a qual consiste em iniciar um novo protocolo de IATF antes do diagnóstico de gestação da IATF anterior. De acordo com Baruselli et al. (2015), os objetivos desta técnica são aumentar o número de bezerros nascidos de IATF, diminuir o número de touros para repasse, melhorar a eficiência reprodutiva e aumentar o número de animais geneticamente superiores.

Utilizando a técnica de RES, Freitas et al. (2007) oportunizaram duas inseminações em 42 dias e alcançaram 75% na TP, culminando com partições mais precoces na temporada de nascimento do ano seguinte, permitindo que as matrizes tivessem melhor condição de concepção na estação reprodutiva vindoura.

Oliveira et al. (2019), relataram TPs acumuladas de 81,6% e 73,1% em animais submetidos a RES, com uso de dispositivos vaginais de progesterona novos e reutilizados, respectivamente. Em um estudo conduzido por Marques

et al. (2012), obteve-se 56,1% de TP na primeira IATF e 49,3% na RES, totalizando 77,8% de vacas prenhes com duas IATFs. Em outro estudo, obtiveram 91,1% de prenhez quando foi adotado uma IATF seguida de outras duas, ou seja, utilizando-se de duas RES, dispensando, com isso o repasse com touros.

Procurando desenvolver uma estratégia de RES, Faleiro et al. (2019) realizaram IATF em vacas zebuínas, e após a realização do diagnóstico de gestação (DG), submeteram as que não estavam gestantes a um novo protocolo de IATF similar ao primeiro. A TP obtida foi de 52% e 49% na primeira e segunda IATF, respectivamente. Neste estudo, o aumento na taxa total de prenhez foi de 23,5%, em comparação a apenas uma IATF, concluindo os autores que a RES em vacas zebuínas é eficaz para o aumento da eficiência reprodutiva.

1.6 Diâmetro folicular na IATF

Conforme relatado por Ribeiro Filho et al. (2013), a presença de um folículo de maior diâmetro no momento da inseminação é um indicador de melhor resposta ovariana e TP em vacas *Bos taurus indicus* submetidas a programas de IATF. Dessa forma, alternativas devem ser adotadas com o intuito de se aumentar o diâmetro do folículo no momento da IATF, incrementando a eficiência dos protocolos de sincronização e proporcionando uma melhor relação custo-benefício para o produtor.

O diâmetro do folículo ovulatório está relacionado com maiores concentrações de estradiol, maior probabilidade de ovulação e TP (Sá Filho et al., 2010).

De acordo com Sá Filho et al. (2010), a elevada concentração de estradiol pré ovulatória, devido a presença de um folículo ovulatório de maior diâmetro, pode influenciar na fertilização das fêmeas por promover mudanças no ambiente uterino, melhorando o transporte espermático e favorecendo a concepção.

Em estudo conduzido por Ribeiro Filho et al. (2013), os animais foram divididos em três grupos de acordo com o diâmetro do folículo no momento da inseminação, e constataram que no grupo em que as fêmeas apresentaram diâmetro folicular acima de 13,6mm, a concepção média estimada foi de

78,83%, significativamente superior àquelas que apresentavam diâmetros de até 11,2mm. Os resultados demonstraram um efeito positivo do diâmetro folicular sobre a fertilidade de vacas Nelore submetidas a um protocolo de sincronização.

Visando avaliar o efeito do diâmetro folicular na TP em vacas Nelore, Cavalieri et al (2016), dividiram os animais em cinco grupos conforme o diâmetro folicular (mm): 7-10; 10,1-13; 13,1-16; +16; e ausente. A TP comprovou que quanto maior o diâmetro folicular, maior a TP.

1.7 GnRH

Conforme afirmam Thatcher et al. (2001), a baixa concentração de P4 pós a inseminação tem sido associada à menor TP, e ao uso de drogas específicas (GnRH, hCG, por exemplo), e que teriam a capacidade de induzir a formação de um corpo lúteo e, por consequência, aumentariam a concentração sérica de P4, culminando em TP mais elevada.

Procurando demonstrar a relação positiva ao se utilizar GnRH pós IATF com a TP em vacas submetidas a stress calórico, Willard et al. (2003) conduziram um trabalho no qual protocolaram vacas Holandesas via Ovsynch e aplicaram 100 mg de gonadorelina no 5 dia (G5) e no 11(G11) pós inseminação, mantendo ainda um grupo testemunha, o qual não recebeu nenhum tratamento pós IATF. Após realizar avaliação ultrassonográfica para diagnóstico de gestação, constataram que o grupo sem GnRH apresentou TP inferior quando comparado aos demais grupos. Adicionalmente, os grupos tratados resultaram em mais tecido luteal e concentração sérica de progesterona mais elevada.

Garcia-Guerra et al. (2019), utilizaram novilhas receptoras de embriões, visando a formação de um Corpo Lúteo acessório (CLa) e, por consequência, aumento na concentração de progesterona sérica. Após a aplicação de GnRH no 5º dia do ciclo estral, e observaram a presença de um CLa em 83,9% no grupo tratado com gonadorelina vs. 3,3% no grupo controle. Relatam ainda que, a presença de CLa reduziu a perda embrionária, provocou o aumento da progesterona circulante (7,2 vs. 6,0 ng/ml) e, por consequência, incrementou a fertilidade.

As ações de indução da ovulação do folículo dominante mediante a busarelina são mais impactantes que com o uso de gonadorelina (Macmillan et al., 2003). A busarelina promove aumento nas concentrações de LH e FSH após sua administração e com a aparecimento da emergência de uma nova onda folicular de 2 a 3 dias após (Diaz et al., 1998), além de executar a ovulação em 100% de folículos em crescimento (Castillo et al., 2000).

2.0 Hipótese

A hipótese do presente estudo foi a de que a utilização de duas inseminações artificiais consecutivas a intervalos de 20 horas em programas de inseminação artificial em tempo fixo, poderia otimizar a taxa de prenhez, quando comparada a protocolos de ressincronização da ovulação em vacas multíparas.

3.0 Objetivo

O estudo objetivou (1) comparar as taxas de prenhez de vacas multíparas submetidas a protocolos de inseminação artificial em tempo fixo, administrando protocolos hormonais com uma ou duas IAs consecutivas e ressincronização, e (2) determinar os níveis de progesterona sérica no sexto e no 12º dia após a IATF, após a administração de hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), visando a formação de corpo lúteo acessório.

CAPÍTULO 2

COMPARAÇÃO ENTRE PROTOCOLOS PARA A INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO COM UMA, DUAS INSEMINAÇÕES OU COM A RESSINCRONIZAÇÃO DA OVULAÇÃO EM VACAS *Bos taurus indicus*

Francisco Romano Gaievski¹, Luiz Ernandes Kozicki¹, Tácia Gomes Bergstein-Galan², Romildo Romualdo Weiss³, Rafaela Talini¹

¹ Programa de Pós Graduação em Ciência Animal – Pontifícia Universidade Católica do Paraná – Curitiba – Brasil.

² Universidade Positivo, Curitiba, Paraná, Brazil

³ Federal University of Paraná, Curitiba, Paraná, Brazil

RESUMO – O estudo objetivou (1) comparar as taxas de prenhez (TP) de vacas *Bos taurus indicus*, submetidas a programas de Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF), mediante protocolos com uma Inseminação artificial (IA), com duas IAs e a ressinchronização da ovulação (RES), (2) verificar a influencia do diâmetro do folículo preovulatório sobre a taxa de prenhez e, (3) checar os níveis de progesterona sérica após a administração do acetato de buserelina (BUS) no 6º e no 12º dia após a IATF. Duzentas e setenta e quatro vacas lactantes foram distribuídas em três grupos: grupo uma inseminação artificial (G1IA; n=88) submetido no dia zero (D0) à inserção de dispositivo intravaginal com progesterona (P4, 1g) + benzoato de estradiol (BE; 2 mg IM); no D7 foi aplicada a prostaglandina $F_{2\alpha}$ (500 mcg $PGF_{2\alpha}$, IM); em D8 a P4 foi retirada; em D9 foi aplicado o BE (1 mg, IM); em D10 executou-se a IATF + exames de ultrassonografia (US) dos folículos com mensuração do diâmetro; no D16 foi aplicado BUS (21,0 mcg; IM) e coletado sangue para determinação de P4 sérica; em D22 coleta de sangue; em D41 foi executado o diagnóstico da prenhez (US) + touros de repasse; em D90 ocorreu a retirada dos touros; em D110 executou-se o DG; o grupo duas IAs (G2IA; n= 88) foi submetido a idêntico protocolo exceto que em D11 foi executada uma segunda IA, (intervalo de 20 horas entre a primeira e a segunda); em D17 houve a coleta de sangue + BUS; em D23 coleta de sangue; o grupo ressinchronização (GRES; n=98) foi submetido a idêntico protocolo ao do G1IA, exceto que em D40 executou-se o

DG e as vacas não-prenhes receberam P4+BE; em D47 aplicou-se a PGF_{2α}; em D48 a remoção da P4; em D49 BE; em D50 IATF; em D56 coleta de sangue + BUS; em D62 coleta de sangue; em D80 DG (US) + entrada de touros; em D110 retirada dos touros e em D140 executou-se o DG. Os resultados apontaram TP de 50, 58 e 73.4 % respectivamente para os G1IA, G2IA e GRES (P<0.05) referente à IATF propriamente dita e a TP ao final da estação de monta resultou em 85,2; 88,6 e 87,7 (P>0,05). A média do diâmetro do folículo pré ovulatório (FPO) à primeira IATF foi de 12,81, 12,16 e 12,76 (G1IA, G2IA e GRES respectivamente) e de para 12,69 mm (GRES) e 13,64 mm (G2IA) (P=0,031) à 2ªIA; ovulação antes da IATF ocorreu somente no G2IA, sendo 3,4% antes da primeira e 27,3% antes da segunda IA; folículos pré ovulatórios com diâmetros entre 12 e 14.1 mm incidiram em 84.7% dos animais prenhes, seguidos do folículos com 14.0 a 16.1 mm (64.7%). Os perfis de progesterona sérica no G1IA, G2IA e GRES mostraram respectivamente 3,47; 3,73 e 3,34 ng mL no D6; e 4,45; 5,21 e 5,23 ng mL no D12 após a IATF. Concluiu-se que a ressincronização da ovulação resultou em maior taxa de prenhez (P<0,05) que as IATFs com uma ou com duas IAs; animais inseminados com folículos preovulatórios maiores que 12.1 mm de diâmetro resultaram em maiores taxas de prenhez; a administração de buserelina no sexto dia pós IATF aumentou a concentração de progesterona sérica nos animais prenhes, recomendando-se seu emprego; não se verificou diferenças nas taxas de prenhez ao final da estação reprodutiva.

Palavras chave: *Bos taurus indicus*. Duas IA. Ressincronização. Progesterona. Folículo pré ovulatório.

COMPARISON BETWEEN PROTOCOLS FORTIMED ARTIFICIAL
INSEMINATION BY ONE, TWO INSEMINATIONS OR BY OVULATION
RESYNCHRONIZATION IN COWS *Bos taurus indicus*

ABSTRACT - The study aimed to (1) compare pregnancy rates in *Bos taurus indicus* multiparous cows submitted to a timed artificial insemination (TAI) program, using a hormonal protocol with an artificial insemination (AI), with two consecutive AIs (the interval between 20 hours) and ovulation resynchronization (RES), and (2) to verify the effects of buserelin acetate (BUS)

application on the 6th and 12th day after TAI on serum progesterone levels. Two hundred and seventy-four multiparous cows were divided into three groups: group one artificial insemination (G1IA; n = 88) submitted on day zero (D0) to the intravaginal progesterone device insertion (P4, 1 g) + estradiol benzoate (BE; 2 mg IM); in D7 prostaglandin F2 α (500 mcg PGF2 α IM) was applied; in D8 to P4 was removed; in D9, BE was applied (1 mg, IM); In D10, IATF + follicle ultrasound (US) examinations were performed with diameter measurement; In D16, BUS (21.0 mcg; IM) was applied and blood was collected for serum P4 hormone determination; in D22 blood collection; in D41, the diagnosis of pregnancy (US) + transfer of bulls was performed; in D90 the bulls were removed; in D110 the DG was executed; group two AIs (G2IA; n = 88) were submitted to the same protocol except that in D11 a second AI was performed (20 hour interval between the first and second); in D17 there was blood collection + BUS; in D23 blood collection; the resynchronization group (GRES; n = 98) was submitted to the same protocol as the G1IA, except that in D40 the DG was performed and the non-pregnant cows received the P4 + BE device; in D47 PGF2 α was applied; in D48 P4 was removed; in D49 BE; in D50 IATF; in D56 blood collection + BUS; in D62 blood collection; in D80 DG (US) + bulls entrance; D110 removed the bulls and D140 executed the DG. It was obtained 50% and 47% of pregnancy rate (TP) respectively for G1IA and GRES for an AI; TP in G2IA and GRES (relative to only the 2nd IA) resulted respectively in 58% and 50% (P = 0.36); the accumulated GRES and G2IA TP were respectively 73.4% and 58% (P = 0.025); TP at the end of the breeding season resulted in 85.2; 88.6 and 87.7 for G1IA, G2IA and GRES respectively (P > 0.05). The mean diameter of the preovulatory follicle (POF) at the first TAI was 12.81, 12.16 and 12.76 (G1IA, G2IA and GRES respectively), but changed to 12.69 mm (in GRES). and 13.64 mm (G2IA) (P = 0.031) at the 2nd IA; ovulation before TAI occurred only in G2IA, 3.4% before the first and 27.3% before the second AI; serum progesterone profiles in G1IA, G2IA and GRES showed respectively 3.47; 3.73 and 3.34 ng mL in D6, and 4.45; 5.21 and 5.23 ng mL⁻¹ at D12 after TAI. It was concluded that resynchronization of ovulation resulted in a higher pregnancy rate (P < 0.05) than FTAI with one or two AIs; G2IA cows showed larger diameter of the POF than GRES (P < 0.05); POF diameter at the second AI correlated with PT; At the end of the reproductive

season there were no differences in PT between the groups; administration of BUS at day six post IATF increased serum progesterone concentration.

Keywords: Timed Artificial Insemination. Cattle. Progesterone. Two AI. Resynchronization.

Introdução

Atualmente, a inseminação artificial (IA) é empregada em torno de 12,0% do rebanho bovino brasileiro. A IA padroniza o rebanho, possibilita a organização do manejo nas fazendas, reduz custos de reposição de touros, além de controlar doenças venéreas, dentre outras vantagens. A IA convencional confrontou-se com desafios (necessidade de detecção visível de estro, redução da quantidade de animais inseminados, necessidade de pessoal em tempo integral), onerando os custos. Estes fatos contribuíram para o desenvolvimento de técnicas e protocolos de sincronização do estro e da ovulação, dando origem à inseminação artificial em tempo fixo (IATF). A IATF possibilita inseminar centenas de animais em um momento pré-determinado, sem a necessidade de observação de cios e sem comprometer a eficiência reprodutiva, concentrando as parições em período desejado (Baruselli et al., 2004; Ayres et al., 2006; Torres Júnior et al., 2009).

Os protocolos hormonais com vistas à IATF ganharam destaque a partir do desenvolvimento do ovsynch (Pursley et al., 1995). A partir deste, diversas modificações surgiram destacando-se a inclusão de dispositivos intravaginais com progesterona associada a ésteres, agentes luteolíticos e indutores da ovulação, visando incrementar ainda mais o controle sobre o ciclo estral e principalmente sincronizar a ovulação nos animais (Bó et al., 2002; Souza, 2013).

Dentre os incrementos aos protocolos para a IATF, o emprego de progestágenos intravaginais destacou-se, agindo como bloqueadores das gonadotrofinas liberadas da adeno hipófise. Os progestágenos foram então empregados em combinação com esteróides ou com fatores liberadores de gonadotrofinas (GnRH), para que após sua retirada do protocolo, agentes luteolíticos e indutores da ovulação pudessem atuar sem obstáculos

sincronizando a ovulação, um dos pontos mais relevantes ao aumento das taxas de prenhez (TP) (Bó et al., 2002; Ferreira et al., 2012).

Em que pesem os progressos obtidos na melhoria dos protocolos hormonais para incrementar as TPs na IATF, estas ainda encontram-se parcialmente satisfatórias por força das variações sobre a fertilidade dos animais. As oscilações nas TPs à IATF, ainda atualmente verificadas, podem ser consideradas significativas, porquanto estendem-se de 35 a 70% (Baruselli et al., 2002; Rocha et al., 2007; Oliveira et al., 2019).

Uma das técnicas que visam o aumento dos indicadores reprodutivos refere-se à ressincronização (RES) do estro e da ovulação, condicionando a aplicação de duas IAs dentro de 42 dias de protocolo. A RES pode melhorar as TP em até 77,0%, quando somados os percentuais da 1ª mais a 2ª IATF (Freitas et al., 2007; Doroteu et al., 2015), destacando-se como uma biotécnica a ser utilizada com mais frequência, ampliando o emprego da IA (Baruselli et al., 2017; Oliveira et al., 2019). Protocolos de RES na IATF em vacas *Bos taurus indicus* resultaram em TP de 81,6% (taxa acumulada), otimizando os indicadores reprodutivos (Oliveira et al., 2019).

Neste contexto, e objetivando aumentar a eficiência reprodutiva em vacas *Bos taurus indicus*, o presente estudo formulou a hipótese de que duas inseminações artificiais executadas a intervalo de 20 horas entre uma e outra, poderiam impactar positivamente no aumento das TPs em protocolos de IATF, uma vez que relatos com duas inseminações artificiais seguidas em protocolos de IATF são escassos, impossibilitando citações nesse sentido.

O objetivo do presente estudo foi (1) comparar os indicadores da eficiência reprodutiva em vacas *Bos taurus indicus*, submetidas à programa de inseminação artificial em tempo fixo, empregando protocolo hormonal com uma Inseminação artificial, com duas inseminações artificiais consecutivas (a intervalo de 20 horas) versus a ressincronização da ovulação, e (2) verificar a influencia do diâmetro do folículo pré-ovulatório sobre a taxa de prenhez; e (3) checar os níveis de progesterona sérica no sexto e no 12º. dia pós IATF depois da aplicação do acetato de buserelina (BUS).

Materiais e Métodos

Animais e local

O estudo foi conduzido em uma fazenda com fins comerciais, localizada nas coordenadas 26 10' 12" S e 53 21' 39" O, durante a estação reprodutiva 2017/2018. O clima da região caracteriza-se como subtropical, com estações climáticas definidas e chuvas regulares com precipitação pluviométrica anual de 1.200 mm; a temperatura média de outubro a dezembro variou de 15,48 a 28,87 graus Celsius. As vacas eram lactantes da raça Nelore (*Bos taurus indicus*; n = 274); a idade oscilou entre 3,6 e 6,5 anos; o escore da condição corporal foi de 3,1 (2,5 a 4,0) (1 = magra; 5 = obesa; Bohnert et al., 2014) e o peso médio foi de 455 kg (398 a 460).

As vacas pastoreavam em invernadas dotadas de *Brachiaria brizantha*, com livre acesso ao sal mineral (Composição: Ca 120; P 40; Na 80; S18 [g/kg]; e Mg 5000; Zn 2500; Cu 675; Fe 666; Mn 520; Co 40; I 50; Se 13 [mg/kg]) (BellMais Fertilidade, Trouw Nutrition®, São Paulo) e à água *ad libitum*. As vacas foram submetidas a controle sanitário de 30 dias antes do início do estudo com a adoção de profilaxia vacinal contra a rinotraqueíte infecciosa bovina, diarreia viral bovina, campilobacteriose, leptospirose e clostridioses.

Critérios de inclusão de animais:

Antes do estudo, os animais foram submetidos a exames de ultrassonografia (Mindray DP 2200 Vet, China) transretal para o monitoramento dos ovários. Vacas com folículos ≥ 8 mm de diâmetro (diâmetro maior + diâmetro menor dividido por 2) (Gastal et al., 2008), ou com CL, foram considerados animais ciclando (Souza et al., 2015) e utilizadas no estudo. As vacas com dias abertos > que 40 dias e livres de endometrites, assim como animais com ECC > que 2,5 foram utilizadas.

Critérios de exclusão de animais:

Vacas com folículos abaixo de 8 mm de diâmetro e com ausência de corpo lúteo foram consideradas em anestro e vacas com corrimento vaginovulvar muco-turvo ou sinais mais comprometedores não foram utilizadas.

Formação dos grupos

Exames de ultrassonografia foram executados sete dias antes (D-7) da administração do protocolo, visando avaliar o status uterino e ovariano, e eventuais patologias.

As vacas foram aleatoriamente distribuídas em três grupos (Figura 1): grupo uma inseminação artificial (G1IA; n=88), submetido no dia zero (D0) à inserção de dispositivo intravaginal com P4 (1 g) + benzoato de estradiol (BE; 2 mg IM); no D7 foi aplicado prostaglandina $F_{2\alpha}$ (500 mcg $PGF_{2\alpha}$, IM); em D8 ocorreu a remoção da P4; em D9 foi aplicado o BE (1 mg, IM); em D10 houve a IATF + exames de ultrassonografia (US) do folículo pré ovulatório com mensuração do diâmetro; no D16 foi aplicado o acetato de buserelina (BUS; 21,0 mcg; IM) e coletado sangue para determinação hormonal de P4 sérica; em D22 coleta de sangue; em D41 foi executado o diagnóstico da prenhez (US) + touros de repasse; em D90 a retirada dos touros; em D110 executou-se o DG.

O grupo duas IAs (G2IA; n= 88) foi submetido a idêntico protocolo exceto que em D11 foi executada uma segunda IA, perfazendo um intervalo de 20 horas entre a primeira e a segunda; em D17 executou-se a coleta de sangue, e foi aplicado a BUS (21,0 mcg, IM); em D23 nova coleta de sangue.

O grupo ressincronização (GRES; n=98) foi submetido a idêntico protocolo ao do G1IA, exceto que em D40 procedeu-se ao DG e as vacas vazias receberam o dispositivo de P4+BE; em D47 aplicou-se a $PGF_{2\alpha}$; em D48 o dispositivo com a P4 foi removido; em D49 aplicou-se o BE; em D50 ocorreu a IATF; em D56 coleta de sangue + BUS; em D62 coleta de sangue; em D80 DG (US) + touros; em D110 retirada dos touros e em D140 executou-se o DG. As inseminações foram precedidas por higienização da vulva (água e toalha de papel), com deposição intrauterina do sêmen + massagem manual do clitóris.

A descongelação do sêmen foi feita mediante descongelador eletrônico (modelo WTA, Cravinhos, São Paulo) à temperatura de 35°C por 30 segundos. Antes do estudo, foi executada uma avaliação do sêmen obedecendo aos critérios definidos pelo Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA, 2013). O sêmen congelado (20.000.000 espermatozoides) empregado era das raças Red Angus e Aberdeen Angus. A monta natural foi realizada por touros comprovadamente férteis, à base de 1:30 vacas.

As vacas foram aleatoriamente distribuídas em três grupos, conforme diagramas abaixo:

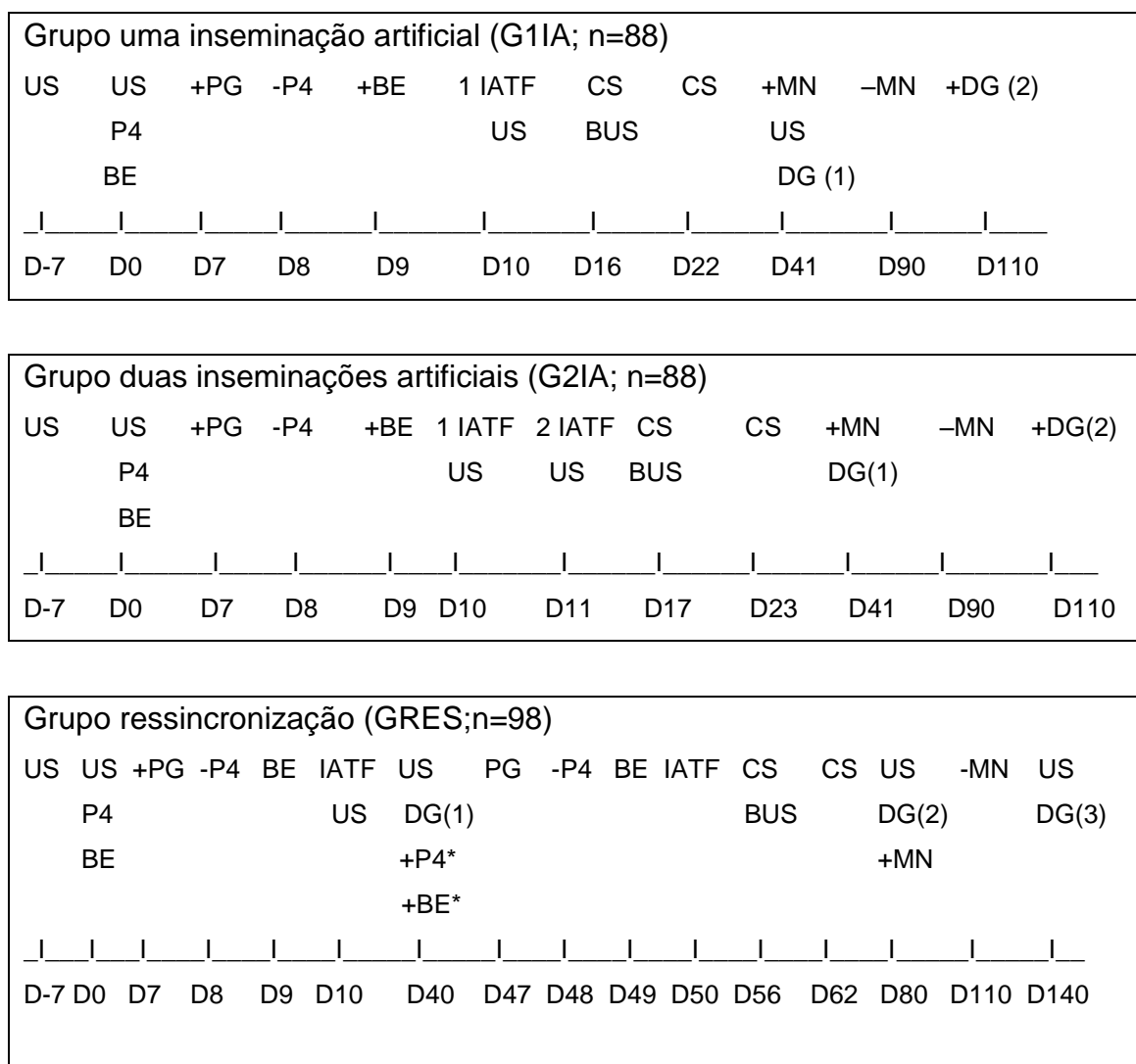


Figura 1 – Diagrama dos protocolos administrados às vacas múltíparas *Bos taurus indicus* com vistas à inseminação artificial em tempo fixo com uma, duas inseminações ou com a ressincronização.

Legenda: *nas vacas vazias. US: Ultrassonografia; P4: Dispositivo intravaginal com Progesterona (1g; Cronipress- Biogenesis Bago, Curitiba – Paraná - Brasil) BE: Benzoato de estradiol (2mg IM; Bioestrogen – Biogenesis Bago); PG: Prostaglandina (500 mcg IM; Croniben Biogenesis Bago); IATF: Inseminação Artificial em Tempo Fixo; CS: Coleta de sangue; BUS: acetato de buserelina (21,0mcg IM; Gonaxal Biogenesis Bago); MN: Monta Natural; DG: Diagnóstico de Gestação, D-7= monitoramento ovariano 07 dias antes do estudo; D=dia).

Determinações hormonais da progesterona sérica

As amostras de sangue foram coletadas no D6 (= dia da administração do acetato de buserelina) e D12 após a inseminação artificial em tempo fixo. O sangue foi colhido por veno punção (*Vena caudalis*) mediante vacutainer e submetidas à centrifugação a 3.000 rpm. O soro obtido foi colocado em eppendorfs (identificados) e congelados a -20°C . As determinações hormonais

da P4 foram executadas, pela metodologia da imunoenquimioluminiscência (CLIA) (ng/mL soro), tendo como referência os valores de progesterona sérica (Kozicki et al., 2018).

Análise estatística

Os grupos uma inseminação artificial, duas inseminações, ressincronização ou após a monta natural dos touros foram confrontados entre si em delineamento inteiramente casualizado, tendo como principal variável o efeito dos tratamentos sobre as taxas de prenhez (independente dos fatores) auferidas. As taxas de prenhez entre os grupos foram comparadas por meio do teste de Qui-quadrado ($P < 0,05$). Também foram executados testes de correlação das variáveis independentes, dias pós-parto em aberto, ECC, idade, paridade, touro, diâmetro de FPO à 1ª IA, diâmetro do FPO à 2ª IA utilizando o teste de Kendall tau. As variáveis independentes e a variável dependente (taxa de prenhez) foram submetidas ao teste de regressão logística binária. No teste de regressão logística foram considerados os três grupos juntos, nominando a taxa de prenhez como variável dependente e dias pós parto em aberto, ECC, idade, paridade, diâmetro de FPO à 1ª IA, diâmetro do FPO à 2ª IA e touro, como independentes. Para verificar a incidência de folículos pré-ovulatórios sobre o total de animais nos animais, e checar a influencia dos diâmetros dos folículos pré-ovulatórios e sua relação sobre a taxa de prenhez à IATF, distribuiu-se os folículos em faixas com dimensões (mm): $< 10,0$; $10,0 - 12,0$; $12,1 - 14,0$; $14,1 - 16,0$ e $> 16,0$ mm. Para checar as diferenças entre as dimensões dos folículos foi empregado o teste do Qui-Quadrado. Todos os cálculos tiveram os níveis de significância ao nível de $P < 0,05$.

Resultados

Na tabela 1 estão expressos os dados de todos os grupos referentes às taxas de prenhez após a IATF, bem como a TP das IATFs mais monta natural (taxas acumuladas). Verificou-se resultados significativamente melhores em favor do GRES perante os demais ($P < 0,05$), relativamente a IATF, não se confirmando porem diferenças na taxa de prenhez ao final da estação reprodutiva entre os grupos.

No estudo foram executados cálculos de regressão logística sobre as variáveis independentes (dias em aberto, ECC, idade, paridade e touros) e suas repercussões sobre a TP (variável dependente), considerando-se os três grupos constituídos. Assim, verificou-se a influência do diâmetro do FPO sobre a TP apenas no G2IA. Aplicando-se a regressão logística sobre as variáveis independentes e a variável dependente, apenas no G1IA, houve influência do diâmetro do FPO sobre a TP ($P < 0,0001$); no G2IA não houve influência de qualquer das variáveis independentes; no GRES houve influência do diâmetro do FPO sobre a TP ($P < 0,0001$). Aplicando-se o teste de correlação de Kendall's tau em todos os grupos ao primeiro diagnóstico de prenhez após a IATF, observou-se influência do diâmetro do FPO ($P < 0,0001$). No GRES houve correlação para o diâmetro do FPO ($P < 0,005$). Verificou-se influência do diâmetro do FPO na segunda IA do G2IA sobre a TP. Posteriormente executou-se a regressão logística de cada grupo de *per se*, tendo como variável dependente a taxa de prenhez e as variáveis independentes já mencionadas ($P < 0,05$). Verificou-se no G1IA: efeitos do diâmetro do FPO sobre a TP; no G2IA não houve efeitos; no GRES ocorreu efeito do diâmetro do FPO (na 1ª IA).

Tabela 1- Taxas de prenhez no grupo uma inseminação artificial em tempo fixo (G1IA), duas IAs (G2IA) e grupo ressincronização (GRES) em programas administrados às vacas *Bos taurus indicus lactantes*.

Grupos	Taxa de prenhez após a IATF	Taxa de prenhez à IATF+Touros
	n (%)	n (%)
G1IA	44/88 (50,0) ^a	75/88 (85,2)
G2IA	51/88 (58,0) ^a	78/88 (88,6)
GRES	72/98 (73,4) ^b	86/98 (87,7)

Letras diferentes na mesma coluna indica significância ao nível de $P < 0,05$

MN = monta natural

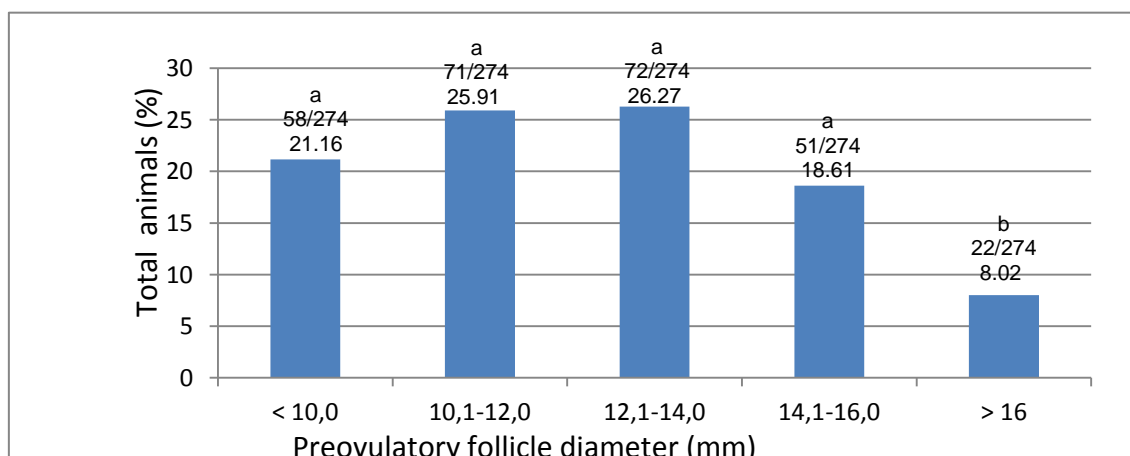
Tabela 2 – Diâmetro do folículo pré ovulatório, ovulação antes da IATF e concentração sérica de progesterona no D6 e D12 após a IATF em vacas *Bos taurus indicus* lactantes

Grupos	∅ FPO na 1ª IA (mm) (x ± s)	∅ FPO na RES (mm) (x ± s)	∅ FPO na 2ª IA (mm) (x ± s)	Ovulação antes da 1ª IATF n (%)	Ovulação antes da 2ª IATF n (%)	P4 no D6 pós IATF nas prenhes ng mL ⁻¹ (x ± s)	P4 no D12 pós IATF nas prenhes ng mL ⁻¹ (x ± s)	Ovulação pós GnRH baseada na P4 sérica (%)
G1IA(n=88)	12,81±2,41			0/88		3,47±2,51	4,49±2,91	61,37
G2IA(n=88)	12,16±2,43		13,64±0,29	3/88 (3,4)	24/88 (27,3)	3,73± 2,9 ^a	5,21±3,7 ^b	67,4
GRES(n=98)	12,76±2,44	12,69±0,32		0/98		3,34±2,8 ^a	5,23±3,8 ^b	75,00

Letras diferentes na mesma coluna indicam significância ao nível de P<0,05.

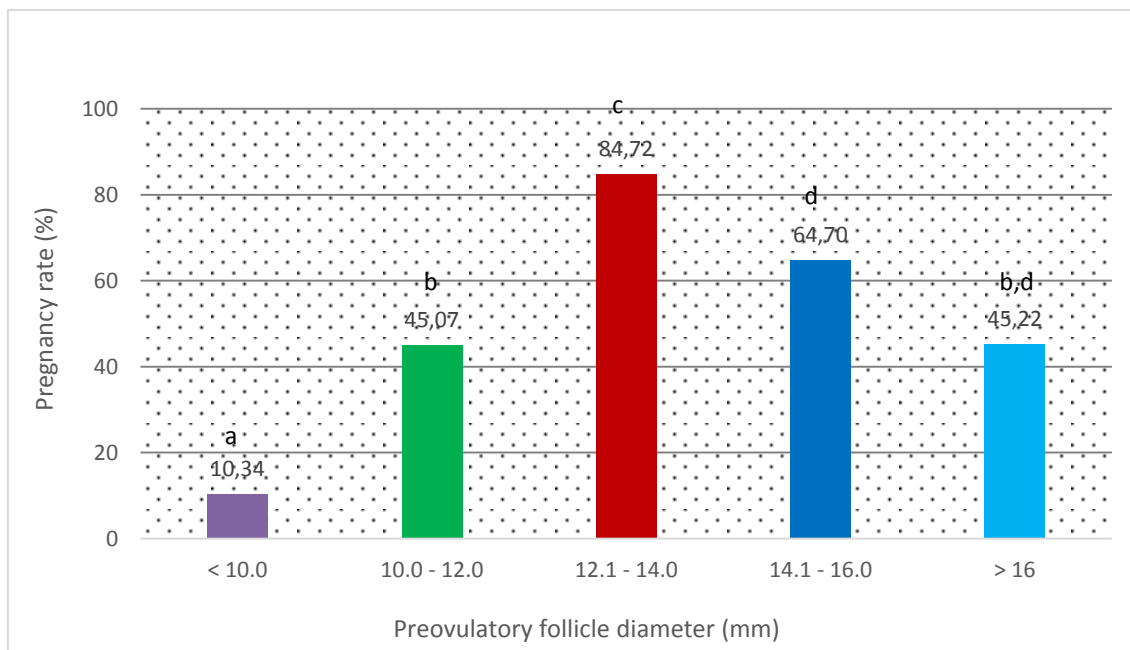
Letras diferentes na mesma linha indica significância ao nível de P<0,05

O Gráfico 1 apresenta dados da quantidade de animais (total de todos os grupos) versus o diâmetro dos FPO, apresentando as dimensões de <10.0; 10.0 – 12.0; 12.1 – 14.0; 14.1 – 16.0 e > 16.0 mm e o percentual verificado. Igualmente idênticas dimensões do folículo pré ovulatório foram confrontadas com as taxas de prenhez (Gráfico 2).



Letras diferentes nas barras indicam significância ao P<0,005.

Gráfico 1 – Diâmetros dos folículos pré ovulatórios (mm) mensurados no dia dez dos protocolos e o total de animais de todos os grupos (%) de vacas *Bos taurus indicus*, submetidas a inseminação artificial em tempo fixo com uma ou duas ou à ressincronização da ovulação.



Letras diferentes indicam significância ao $P < 0,05$.

Gráfico 2 – Diâmetros dos folículos pré ovulatórios mensurados no dia dez dos protocolos versus a taxa de prenhez (%) em vacas *Bos taurus indicus lactantes*, submetidas a inseminação artificial em tempo fixo com uma ou duas ou à ressincronização da ovulação.

5. Discussão

Os protocolos com vistas à inseminação artificial em tempo fixo tem sido alvo de inúmeras pesquisas mundo afora, uma vez que os indicadores de prenhez ainda estão aquém do esperado.

Um dos objetivos do presente estudo foi comparar a eficiência reprodutiva (taxa de prenhez como principal parâmetro avaliado) entre protocolos para a IATF com uma, duas inseminações artificiais (intervalo de 20 horas entre uma e outra) e a ressincronização tradicional (diagnóstico de gestação 30 dias após a IATF).

A priori, a TP oriunda de duas IAs (G2IA) foi superior em 8.0% em relação ao grupo uma inseminação artificial, porém o grupo da ressincronização mostrou-se significativamente diferente a todos os grupos ($P < 0.05$) (Tabela 1). Estudos mostram que a ressincronização do estro e da ovulação aumenta a TP/IA, comparada a IATF convencional. Pessoa et al. (2018) obtiveram TP de 81,5% e 83,7% para vacas de corte ressincronizadas após 22 e 30 dias da primeira IATF respectivamente. Muito embora os protocolos de RES requeiram maior número de manejos dos animais e também

custo mais elevado que os de duas IAS consecutivas, parece sustentável e plausível seu emprego, porquanto confere substanciais ganhos genéticos pelo maior número de animais gerados.

O emprego de protocolos para a RES pode adicionar em torno de 25% de TP de ganhos médios no rebanho (Oliveira et al., 2019). Desta forma, a somatória da primeira IATF mais o percentual da segunda IA (na RES), pode resultar entre 75 e 81 % de TP (Freitas et al., 2007; Doroteu et al., 2015; Oliveira et al., 2019). Nossos resultados aproximaram-se aos de Doroteu et al. (2015) ao trabalharem com vacas multíparas *Bos taurus indicus* em condições similares as das do presente estudo, corroborando os efeitos cumulativos benéficos dos programas de RES num rebanho.

A priori poder-se-iam considerar os custos que os protocolos da RES acarretam. Dois pontos devem ser considerados: (1) A RES é aplicada somente nos animais que ficaram vazios após o diagnóstico da gestação da primeira IATF; e (2), ao se reaplicar os protocolos hormonais nos animais vazios da primeira IATF, estes já estarão em condições mais favoráveis de ciclicidade ovariana, por força da atuação hormonal advinda do primeiro protocolo administrado. Assim, o status fisiológico do sistema hipotalâmico-hipofisário-gonadal estará mais favorável e propenso a bons resultados nas TP na RES do que animais não submetidos a RES (Marques et al., 2015). Tal afirmativa pode ser sustentada pelos relatos de Souza et al. (2016), os quais podem fundamentar os pontos aqui mencionados, isto é, os animais adquirem melhores condições de ciclicidade após submissão à primeira IATF. Essa conceituação remete aos protocolos de pré sincronização utilizados, onde melhores condições de ciclicidade ovariana são verificadas quando comparados a animais não submetidos a esta prática (pré sincronização), enfatizando inclusive sua adoção em animais com aciclicidade ovariana sazonal (Souza et al., 2008; Gumen et al., 2012).

Relativamente à prática de se utilizar duas inseminações artificiais consecutivas nos protocolos de IATF no mesmo dia, os relatos da literatura mostraram-se muito escassos, impossibilitando a condução de uma discussão mais aprofundada a respeito. Os autores do presente estudo darão continuidade às pesquisas nesta linha (duas IAs na IATF), desta vez com redução do intervalo (em horas) entre as IAs. Adotou-se no presente estudo,

um intervalo de 20 horas entre as IAs, por força das condições de manejo disponibilizados nas fazendas, quando não foi possível reduzir o intervalo entre as IAs. A redução do intervalo de 20 horas entre as IAs, poderá impactar em melhores TP, devido à maior disponibilidade de espermatozoides viáveis por um período de tempo mais longo dentro do trato genital feminino, servindo conseqüentemente às ovulações ocorridas num espaço mais amplo de tempo. Assim futuros estudos estão em pauta pela nossa equipe.

Com referência ao diâmetro do FPO dimensionado à primeira IATF, as médias verificadas estenderam-se de 12,16 a 12,81 mm nos grupos, consistente com as mensurações relatadas por Coutinho et al. (2007), também em vacas *Bos taurus indicus*. O diâmetro médio do FPO no presente estudo à segunda IA (relativo ao G2IA) resultou em 13,64 mm (Tabela 2). A taxa de crescimento do diâmetro dos FPOs entre a primeira e a segunda IA (no G2IA) foi de 1,48 mm/em 20 horas, estando em consonância com a taxa de crescimento diário de FPO em *Bos taurus indicus* (1,40 mm dia) relatada por Borges et al. (2004), muito embora Prata et al. (2018) tenham verificado menores taxas (1,1 mm dia).

Observou-se que folículos entre 12 e 14 mm de diâmetro, incidiram em maior número de animais (26.27%), considerando-se todos os animais (Gráfico 1). Por outro lado, os FPOs situados na faixa de 12,1 a 14,0 mm de diâmetro (considerando-se também todos os grupos), exerceram maior impacto sobre a TP (84,72%; $P < 0,05$) (Gráfico 2), corroborando relatos de que folículos pré ovulatórios, com maiores dimensões, irão incorporar após a ovulação, maior área de tecido luteal, e conseqüentemente em maior produção de P4 e maior percentual de TP (Viana et al., 1999; Ribeiro Filho et al., 2013).

Relativamente às taxas de ovulação antes da IATF, foi constatado que somente no G2IA ocorreu tal evento à base de (3,4%) antes da primeira IATF, aumentando este percentual em 27,3% à segunda IATF (Tabela 2).

Protocolos de indução da ovulação do primeiro folículo dominante (FD) após a IA foram relatados por Fantini Filho et al. (2003). Estas práticas objetivam aumentar os teores de P4 circulante (formação de corpo lúteo acessório ou a luteinização de folículos) visando otimizar as condições de manutenção da gestação nos animais. O aumento da concentração de P4 materna circulante impacta no favorecimento de reconhecer a gestação

precoce, reduzindo assim os percentuais de rejeição (Lima e Souza, 2009). Períodos de tempo intercalados entre oito e dezesseis dias após a fertilização são considerados os mais críticos à manutenção da gestação em vacas (Dunne et al., 2000). Por isso, optou-se por executar uma aplicação de buserelina no sexto dia pós IATF, visando promover a ovulação do primeiro folículo dominante. Isto acarreta o aumento das concentrações de P4 circulante, oportunizando o aumento de fatores sinalizadores da prenhez (Lima e Souza, 2009).

No presente estudo foram administradas doses de 21,0 mcg de acetato de buserelina. Esta medida possibilitou uma taxa de sucesso, que variou de 61,37 (G1IA) a 75% (GRES) de ovulações ou luteinizações dos maiores folículos daquela onda. Assim, os teores de progesterona do dia 6 após a IATF (variação de 3,3 a 3,7 ng mL de soro) aumentaram para 4,4 a 5,23 de P4 no dia 12 pós a IATF, evidenciando os efeitos da administração da buserelina. Em idêntica linha, Fantini Filho et al. (2004) executaram um estudo para promover a ovulação/luteinização dos maiores folículos presentes no dia sete (folículos da primeira onda folicular pós estro) do ciclo estral, administrando 2.500 UI (IM) de gonadotrofina coriônica humana (hCG), obtendo uma taxa de sucesso de 96,87%; a atuação do hCG foi tão intensa que houve luteinização inclusive de alguns folículos subordinados maiores (25%). Assim, no presente estudo, verificou-se sucesso da atuação do acetato de buserelina, devido ao aumento da concentração de P4 sérica, sinalizando constituir boa indicação para práticas de bovinos de corte para aumentar às TPs. Com similares objetivos aos do presente estudo, Beltran e Vasconcelos (2008) trabalharam com vacas *Bos taurus taurus* em protocolos de IATF. Foi verificado que a administração de GnRH ou hCG havia acarretado o aumento da P4 sérica entre os dias sete e 12 nos animais tratados, sugerindo indução de CL acessório, e repercutindo significativamente sobre o incremento da TP ao final da estação de monta.

A hipótese do presente estudo não pode ser confirmada, uma vez que a TP derivada da ressincronização foi superior a TP do grupo duas inseminações artificiais. Futuros estudos deverão ser executados aplicando-se protocolos com duas IAs com redução do intervalo de horas entre as inseminações. Nosso time hipotetiza que concentre-se aí um considerável potencial para incrementar

os indicadores reprodutivos, podendo até substituir os protocolos de ressincronização.

Conclui-se que animais submetidos à ressincronização da ovulação resultaram em maior taxa de prenhez que os com uma ou duas inseminações artificiais; ao final da temporada reprodutiva não se observou diferenças na taxa de prenhez entre os grupos; vacas do grupo duas inseminações artificiais evidenciaram maior diâmetro do folículo pré-ovulatório que do grupo ressincronização ($P < 0,05$); folículos préovulatórios ≥ 12.1 mm de diâmetro originaram maior taxa de prenhez; a buserelina aplicada após a IATF resultou em até 75% de ovulações do primeiro folículo dominante após a IATF e aumentou significativamente as concentrações de P4 sérica.

Agradecimentos

À Pontifícia Universidade Católica do Paraná pela possibilidade de realizar o presente estudo; à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES por todo apoio durante o estudo.

Não há conflito de interesses.

Referências

Ayres H, Torres-Júnior JRS, Penteado L, Souza AH, Baruselli PS. Efeito do momento da inseminação e do tratamento com GnRH na IATF sobre a taxa de concepção de vacas de corte lactantes sincronizadas com norgestomet e valerato de estradiol. *Acta Scientiae Veterinariae*. 2006; 34:408.

Barnabé VH, Mucciolo RG, Barnabe RC Utilização da prostaglandina F2 alfa (PGF2 alfa) na sincronização do ciclo estral em bovinos. II. Inseminações artificiais praticadas em horários pré determinados, com observação de sintomas de cio *Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo* 1976;2:367-376

Baruselli PS, Ferreira RM, Colli MHA, Elliff FM, Sá Filho MF, Vieira L, Freitas BG. Timed artificial insemination: current challenges and recent advances in reproductive efficiency in beef and dairy herds in Brazil. *Animal Reproduction*. 2017; 14(3):558-571.

Baruselli PS, Marques MO, Carvalho NAT, Madureira EH, Campos Filho EP. Efeito de diferentes protocolos de inseminação artificial em tempo fixo na eficiência reprodutiva de vacas de corte lactantes. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*. 2002; 26(3): 218-221.

Baruselli PS, Reis EL, Marques MO, Nasser LF, Bó GA. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrus beef cattle in tropical climates. *Animal Reproduction Science*. 2004; 82/83:479-486.

Beltran MP, Vasconcelos JLM. Conception rate in Holstein cows treated with GnRH or hCG on the fifth day post artificial insemination during summer. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 2008; 60(3): 580-586.

Bó GA, Baruselli PS, Moreno D, Cutaia L, Caccia M, Tribulo R, et al. The control of follicular wave development for self-appointed embryo transfer programs in cattle. *Theriogenology*. 2002; 57: 53-72.

Bohnert DW, Stalker LA, Mills RR, Nyman A, Falck SJ, Cooke RF. Late gestation supplementation of beef cows differing in body condition score: Effects on cow and calf performance. *Journal of Animal Science*. 2014; 91: 5485–5491.

Borges AM, Torres CAA, Rocha Junior VR, Ruas JRM, Gioso MM, Fonseca JF, Carvalho GR, Maffili VV. Dinâmica folicular e momento da ovulação em vacas não lactantes das raças Gir e Nelore durante duas estações do ano. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 2004; 56(3): 346-354.

Cavaliere FLB, Bezerra AHC, Andreazzi MA, Gonçalves EA. Relação entre o Diâmetro do Folículo no momento da Inseminação Artificial em Tempo Fixo e a Taxa de Gestação em Vacas Nelore. *Arquivos de Ciência Veterinária* 2016, 21 (1):25-32.

Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA). Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal. 3 ed. 2013.

Coutinho GTRM, Viana JHM, Sá WF, Camargo LS, Ferreira AM, Palhão PM, Nogueira LAG. Avaliação ultra-sonográfica da dinâmica folicular e lútea em vacas da raça Guzerá. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 2007; 59(5): 1089-1096.

Doroteu EM, Oliveira RA, Pivato I. Avaliação de diferentes doses de eCG na ressinchronização da ovulação em vacas nelore lactantes submetidas à IATF. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*. 2015;16(2):449-457.

Dunne LD, Diskin MG, Sreenan JM. Embryo and foetal loss in beef heifers between day14 of gestation and full term. *Animal Reproduction Science*. 2000; 58: 39–44.

Fantini Filho JC, Kozicki LE, Souza FP. Hormônio coriônico gonadotrófico (hCG) na indução do corpo lúteo acessório e sua relação com a concentração de progesterona plasmática em bovinos de corte. *Archives of Veterinary Science*. 2004; 9(1): 115-120.

Fantini Filho JC, Kozicki LE, Souza FP. Gonadotrofina coriônica humana (hCG) na indução de corpo lúteo acessório em vacas da raça Caracú. *Archives of Veterinary Science*. 2003; 8(2): 63-67.

Ferreira MCN, Miranda R, Abidu-Figueiredo M, Palhano HB. Avaliação da taxa de gestação em vacas nelore multíparas submetidas à inseminação artificial e inseminação artificial em tempo fixo. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*. 2012; 34: 152-156.

Freitas DS, Chalhoub M, Almeida AKC, Silva, AAB, Santana RCM., Ribeiro ALF. Associação do diagnóstico precoce de prenhez a um protocolo de ressinchronização do estro em vacas zebuínas. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*. 2007;8(3):170-177.

Gastal EL., Neves JP, Mattos RC, Petrucci BPL, Gastal MO, Ginther OJ. Miniature ponies: 1. Follicular, luteal and endometrial dynamics during the oestrous cycle. *Reproduction, Fertility and Development*, 2008; 20:376–385.

Gumen A, Keskin A, Yilmazbas-Mecitoglu G, Karakaya E, Alkan A, Okut H, Wiltbank MC. Effect of presynchronization strategy before Ovsynch on fertility at first service in lactating dairy cows. *Theriogenology*. 2012; 78(8): 1830-1838.

Kozicki LE, Weber SL, Bacher LH, Ramos IS; Gaievski FR, SchausMV ;Talini R, Weiss RR, Bergstein-Galan TG, Segui MS, Mayora ACA. Determination of progesterone concentration during the estrous cycle in dairy cows using a chemiluminescence assay. *Revista Acadêmica: Ciência Animal*. 2018; 16:1-11.

Lima IMT, Souza AL. Desenvolvimento e sobrevivência de embriões no período de pré-implantação: enfoque em ruminantes. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*. 2009; 33(4): 194-202.

Madureira HE, Maturana Filho M. Avanços tecnológicos no emprego de fármacos para o controle da reprodução de fêmeas bovinas destinadas á IATF. *Anais IV Simpósio Internacional de Produção de Gado de Corte*. Departamento de Zootecnia – Universidade Federal de Viçosa. 2012: IV:305-327.

Marques MO, Morotti F, Silva CB, Ribeiro Junior M, Silva RCP, Baruselli PS, Seneda MM. Influence of category–heifers, primiparous and multiparous lactating cows–in a large-scale resynchronization fixed-time artificial insemination program. *Journal of Veterinary Science*. 2015; 16(3): 367-371.

Oliveira DAM, Kozicki LE, Gaievski FR, Pedrosa VB, Weiss RR, Segui MS, Bergstein-Galan TC. Resynchronization of ovulation with new and reused intravaginal progesterone-releasing devices without previous pregnancy diagnosis in *Bos taurus indicus* cows subjected to timed-artificial insemination. *Reproduction in Domestic Animals*. 2019;54:779–785.

Pessoa GA, Martini AP, Sá Filho MF, Rubin MIB. Resynchronization improves reproductive efficiency of suckled *Bos taurus* beef cows subjected to spring-summer or autumn-winter breeding season in South Brazil. *Theriogenology*. 2018; 122: 14-22.

Prata AB, Drum JN, Melo LF, Araujo ER, Sartori R. Effect of different chorionic gonadotropins on final growth of the dominant follicle in *Bos indicus* cows. *Theriogenology*. 2018; 111: 52-55.

Pursley JR, Mee MO, Wiltbank MC. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF2alpha and GnRH. *Theriogenology*. 1995; 44: 915-923.

Ribeiro Filho AL, Ferraz PA, Rodrigues AS, Bittencourt TCBSC, Loiola MVG, Chalhoub M. Diâmetro do folículo no momento da inseminação artificial em tempo fixo e taxa de concepção em vacas Nelore. *CiênciaAnimalBrasileira*. 2013; 14(4): 501-507.

Rocha JM, Rabelo MC, Santos MHB, Machado PP, Bartolomeu CC, Neves JP, Lima PF, Oliveira MAL. IATF em vacas Nelore: Avaliação de duas doses de eCG e reutilização de implantes intravaginais de progesterone. *Medicina Veterinária*. 2007; 1(1):40-47.

Souza AB, Talini R, Kozicki LE, Segui MS, Pedrosa VB, Weiss RR, Abreu ACMR, Gassenferth G, Bacher LH, Ramos IS. Pré-sincronização do estro em novilhas *Bos taurus indicus* visando a maximização da eficiência reprodutiva na estação de monta. *Revista Acadêmica Ciência Animal*. 2016; 14: 209-216.

Souza AH, Ayres H, Ferreira RM, Wiltbank MC. A new presynchronization system (Double-Ovsynch) increases fertility at first postpartum timed AI in lactating dairy cows. *Theriogenology*. 2008; 70(2): 208-215.

Souza ALB, Kozicki LE, Pereira JFS, Segui MS, Weiss RR, Bertol MAF. Eficiência da gonadotrofina coriônica eqüina (eCG) e do desmame temporário (DT) em protocolos para a inseminação artificial em tempo fixo (IATF) em

vacas Nelore, previamente tratadas com progesterona (P4) e benzoato de estradiol (BE). Archives of Veterinary Science. 2015; 20(1):22-29.

Souza MIL. Indução e sincronização de estro em ovelhas: desafios e potencial. Revista Brasileira de Reprodução Animal. 2013; 37(2): 220-225.

Torres Jr JR, Melo WO, Elias AKS, Rodrigues LS, Penteado L, Baruselli PS. Considerações técnicas e econômicas sobre reprodução assistida em gado de corte. Revista Brasileira de Reprodução Animal. 2009;33:53-58.

Viana JHM, Ferreira AM, Sá WF, Camargo LSA. Características morfológicas e funcionais do corpo lúteo durante o ciclo estral em vacas da raça Gir. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia. 1999; 51(3): 251-256.

CAPÍTULO 3

Considerações Finais

Ao considerarmos a importância da Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF), quer seja sob o aspecto de biotécnica da reprodução Animal ou pelo Melhoramento Genético por ela proporcionada e, por consequência a valorização mercantil do produto gerado, reveste-se de extrema importância otimizar os resultados nas taxas de prenhez, posterior a sua aplicação.

Buscar alternativas, que elevem a taxa média de prenhez obtida atualmente (aproximadamente de 50%), em inúmeros protocolos de IATF realizados (mais de 10 milhões por ano, no Brasil) é extremamente salutar e necessário.

Associando-se os novos fármacos e os manejos de bem-estar animal, os quais vem sendo implementados aos já consagrados e provados conceitos de qualificação da mão de obra, qualidade seminal e da boa condição sanitária e nutricional, certamente teremos novos incrementos nos indicadores de prenhez através da Inseminação Artificial em Tempo Fixo.

Acreditamos que para aumentar a performance reprodutiva da modalidade IATF (cerca de 50,0% atualmente obtida), alterações nos protocolos poderão ser implementados, dos quais a redução do número de horas entre duas IAs, ou aplicar a IATF (Split-timed AI). Finalmente destacamos a importância de dosar progesterona e mensurar diâmetro folicular como parte de estratégias que visem identificar parâmetros possíveis de prever com maior precisão o momento ideal de realizar a IATF, contribuindo para maximizar os índices de concepção e parição.

Referências

Almeida MR, Magero J, Tolotti F, Gottschall CS. Considerações para aplicação da técnica de IATF em rebanhos de cria de bovinos de corte. *A Hora Veterinária* 2011; 182:32-38.

Alvarez RH, Martinez AC, Carvalho JBP, Arcaro JRP, Pires RML, Oliveira AC. Eficácia do tratamento Ovsynch associado à inseminação artificial prefixada em rebanhos *Bos taurus* e *Bos indicus*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 2003;38:317-323.

Alvarez RH, Salas NP. Atualidades sobre o uso da Inseminação Artificial na Pecuária de Corte no Brasil. *Pesquisa & Tecnologia* 2016;13(2):18-19.

Azeredo DM, Rocha DC, Jobim MIM, Mattos RC, Gregory RM. Efeito da Indução de estro em novilhas sobre a prenhez e o índice de repetição de crias na segunda estação reprodutiva. *Ciência Rural* 2007; 37:201-205.

Barnabé VH, Mucciolo RG, Barnabe RC Utilização da prostaglandina F2 alfa (PGF2 alfa) na sincronização do ciclo estral em bovinos. II. Inseminações artificiais praticadas em horários pré determinados, com observação de sintomas de cio *Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo* 1976;2:367-376

Baruselli OS, Marques MO, Vieira LM, Konrad JL, Crudeli GA. Aplicación de biotecnologías para una mayor producción de terneros. *Revista Veterinária* 2015; 26(2): 154-159.

Baruselli PS, Ferreira RM, Sá Filho MF, Batista EOS, Vieira LM. Impacto no intervalo entre partos e na sustentabilidade do sistema de Produção. *Anais 8 Congresso Brasileiro de raças Zebuínas* 2011:131-142.

Baruselli PS, Sales JNS, Sá Filho MF. Atualização dos protocolos de IATF E TETF. Anais 4 Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada 2010;4:166-182.

Bó GA, Mapletoft RJ. Estado Del arte de las técnicas de control de desarrollo folicular y la ovulacion para el empleo de las biotecnologias. 4 Simpósio Internacional de Reprodução Animal . 2010; 4:23-48.

Cavaliere J. Synchronization of estrus and ovulation and associated endocrines changes in *Bos taurus indicus* cow. Theriogenology 1997;47:801-814.

Cavaliere FLB, Bezerra AHC, Andreazzi MA, Gonçalves EA. Relação entre o Diâmetro do Folículo no momento da Inseminação Artificial em Tempo Fixo e a Taxa de Gestação em Vacas Nelore Arquivos de Ciência Veterinária 2016, 21 (1):25-32.

DeJarnette JM, Marshall CE. Effects of pre-synchronization using combinations PGF(2alpha) and (or) GnRH on pregnancy rates of Ovsynch and Cosynch-treated lactating Holstein cows. Animal Reproduction Science 2003; 77: 51-60.

Ereno RL, Barreiros TRR, Seneda MM, Baruselli PS, Pegorer MF, Barros CM. Taxa de prenhez de vacas Nelore lactantes tratadas com progesterona associada à remoção temporária de bezerros ou aplicação de gonadotrofina coriônica equina. Revista Brasileira de Zootecnia 2007;36(5): 1288-1294.

Faleiro NS, Neves KAL, Pereira LL, Silva CMGD, Vale WG, Minervino AHH. Effect of oestrous resynchronization on the reproductive efficiency of zebu cows. Reproduction Domestic Animals 2019; 54(7): 1050-1053.

França LM, Rodrigues AS, Brandão LGN, Loiola MVG, Chalhoub M, Ferraz PA, Bittencourt RF, Jesus EO, Ribeiro Filho AL. Comparação de dois ésteres de estradiol como indutores da ovulação sobre o diâmetro folicular e a taxa de gestação de bovinos leiteiros submetidos a programa de Inseminação Artificial em Tempo Fixo. Revista Brasileira Saúde Prod. Animal 2015; 16(4): 958-965.

Freitas DS, Chalhoub M, Almeida AKC, Silva AAB, Santana RCM, Ribeiro ALF. Associação do diagnóstico precoce de prenhez a um protocolo de resincronização do estro em vacas zebuínas. *Revista Brasileira Saúde Prod.* 2007; 8(3): 170-177.

Furtado DA, Tozetti DS, Avanza MFB, Dias LGG. Inseminação Artificial em Tempo Fixo em Bovinos de Corte. *Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária* 2011;16: 1-25.

Gaievski FR, Lamb GC, Weiss RR, Bertol MAF, Segui MS, Abreu ACMR, KozickiLE. Gonadotropin Releasing Hormone (GnRH) and equine Chorionic Gonadotropin (eCG) improve the Pregnancy rate on protocols for timed-artificial insemination in beef cattle. *Veterinária e Zootecnia* 2015; 22(3): 471-480.

Garcia-Guerra A, Sala RV, Careño-Sala G, Sala LC, Baez GM, Motta JCL, Fosado M, Moreno JF, Wiltbank MC. Postovulatory treatment with GnRH on day 5 reduces pregnancy loss in recipients receiving an *in vitro* produced expanded blastocyst. *Theriogenology* 2019.05.010

[CNA – Brasil - Bovinocultura corte balanço 2017.pdf](#)

Madureira HE, Maturana Filho M. Avanços tecnológicos no emprego de fármacos para o controle da reprodução de fêmeas bovinas destinadas á IATF. *Anais VIII Simpósio de Produção de Gado de Corte e IV Simpósio Internacional de Produção de Gado de Corte. Departamento de Zootecnia – Universidade Federal de Viçosa* 2012:305-327.

Marques MO, Ribeiro Júnior M, Silva RCP, Manoel F, Sá Filho MF, Lais M, Vieira LM, Baruselli PS. Resincronização em bovinos de corte. 5º Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada 2012. *Anais* 82-92.

Moreira F, Orlandi C, Risco CA, Mattos R, Lopes F, Thatcher WW. Effects of presynchronization and bovine somatotropin on pregnancy rates to a timed

artificial insemination protocol in lactating dairy cows. *Journal Dairy Science* 2001; 84: 1646-1659.

Moreira RJC, Pires AV, Maluf DZ, Madureira EH, Binelli M, Gonçalves JR, Lima LG, Susin I. Uso do protocolo Crestar em tratamentos utilizando BE, PG, PMSG e GnRH para controle do ciclo estral e ovulação em vacas de Corte. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science* 2007; 44:56-62.

Oliveira DAM, Kozicki LE, Gaievski FR, Pedrosa VB, Weiss RR, Segui MS, Bergstein-Galan TC. Resynchronization of ovulation with new and reused intravaginal progesterone - releasing devices without previous pregnancy diagnosis in *Bos taurus indicus* cows subjected to timed - artificial insemination. *Reproduction in Domestic Animals* 2019; 54:779–785.

Parra BC, Beltram MP. Interação entre nutrição e reprodução em vacas de corte. *Revista Eletrônica de Veterinária* 2008;11: 1-7.

Pursley JR, Mee MO, Wiltbank MC. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF2alpha and GnRH. *Theriogenology* 1995;44:915-923.

Ribeiro Filho AL, Ferraz PA, Rodrigues AS, Bittencourt TCBSC, Loiola MVG, Chalhoub M. Diâmetro do folículo no momento da inseminação artificial em tempo fixo e taxa de concepção em vacas Nelore. *Ciência Animal Bras.* 2013 14 4 Goiânia Oct./Dec

Rossa LAF, Bertan CM, Almeida AB, Gaspar PS, Mazza PH, Binelli M, Baruselli PS, Madureira EH. Efeito do eCG ou benzoato de estradiol associado ao norgestomet na taxa de concepção de vacas de corte submetidas à IATF no pós-parto. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science* 2009;46(3): 199-206.

Rudolph J, Bruckmaier RM, Kasimanickam R, Steiner A, Kirchhofer M, Hüsler J, Hirsbrunner G. Comparison of the effect of a CIDR-Select Synch versus a long-

term CIDR based AI protocol on reproductive performance in multiparous dairy cows in Swiss dairy farms. *Reproduction Biological Endocrinology* 2011; 9: 151.

Sá Filho MF, Ayres H, Ferreira RM, Marques MO, Reis EL, Silva RCP, Rodrigues CA, Madureira EH, Bó GA, Baruselli PS. Equine chorionic gonadotropin and gonadotropin-releasing hormone enhance fertility in a norgestomet-based, timed artificial insemination protocol in suckled Nelore (*Bos indicus*) cows. *Theriogenology* 2010; 73(5): 651-658.

Sá Filho OG, Meneghetti M, Peres RFG, Lamb GC, Vasconcelos JLM. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows II: Strategies and factors affecting fertility. *Theriogenology* 2008;72:210-218.

Schneider A, Bianchi I, Hax LT, Madeira EM, Lima ME, Antunes MM, Vieira MB, Xavier EG, Schmitt E, Corrêa MN. Efeito da reutilização do CIDR na taxa de prenhez de vacas de corte. *Acta Scientiae Veterinariae* 2009; 37(4):337-340.

Silva RCP, Rodrigues CA, Marques MO, Ayres H, Reis EL, Nichi M, Madureira EH, Baruselli PS. Efeito do eCG e do GnRH na taxa de prenhez de vacas nelore lactantes inseminadas em tempo fixo. *Acta Scientiae Veterinariae* 2004;32:221.

Siqueira CL, OliveiraJFC, Loguércio RS, Lof HK, Gonçalves PBD. Sistema de inseminação artificial em dois dias com observação de estro ou em tempo fixo para vacas de corte amamentando. *Ciência Rural* 2008;38:411-415.

Souza ALB, Kozicki LE, Pereira JFS, Segui MS, Weiss RR, Bertol MAF. Eficiência da Gonadotrofina Coriônica Equina (eCG) e do Desmame Temporário (DT) em protocolos para Inseminação Artificial em Tempo Fixo em vacas Nelore, tratadas previamente com Progesterona (P4) e Benzoato de Estradiol (BE). *Archives of Veterinary Science* 2015a;20(1): 22-29.

Souza ALB, Kozicki LE, Segui MS, Weiss RR, Bertol MAF, Oliveira LSR. Timed Artificial Insemination (TAI) based on CIDR first, second or third use in *Bos Indicus* cows. *Archives of Veterinary Science* 2015b;20(4):82-87.

Souza ALB, Segui MS, Kozicki LE, Weiss RR, Abreu A, Bertol MAF, Oliveira DMA. Impact of Equine Chorionic Gonadotropin Associated with Temporary Weaning, Estradiol Benzoate, or Estradiol Cypionate on Timed Artificial Insemination in Primiparous *Bos Indicus* Cows. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 2016;59: 1-7.

Thatcher WW, Moreira F, Santos JEP, Mattos RC, Lopes FL, Pancarci SM, Risco CA. Effects of hormonal treatments on reproductive performance and embryo production. *Theriogenology* 2001; 55:75-89.

Torres Jr JR, Melo WO, Elias AKS, Rodrigues LS, Penteado L, Baruselli PS. Considerações técnicas e econômicas sobre reprodução assistida em gado de corte. *Revista Brasileira de Reprodução Animal* 2009;33:53-58.

Vasconcelos JLM, Meneghetti M. Sincronização da ovulação como estratégia para aumentar a eficiência reprodutiva de fêmeas bovinas em larga escala. *Anais I Simpósio Internacional de Produção de Gado de Corte* 2006:529-541.

Vasconcelos JLM, Vilela ER, Sá Filho OG. Remoção temporária de bezerros em dois momentos do protocolo de sincronização da ovulação GnRH-PGF2 α -BE em vacas Nelore pós-parto. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 2009; 61(1): 95-103.

Willard S, Gandy S, Bowers S, Graves K, Elias A, Whisnant C. The effects of GnRH administration post insemination on serum concentrations of progesterone and pregnancy rates in dairy cattle exposed to mild summer heat stress. *Theriogenology* 2003; 59(8):1799-1810.

Wiltbank JN, Sturges JC, Wildeman D, Lefever DG, Faulkner LC. Control of oestrus and ovulation using subcutaneous implant and oestrogen in beef cattle. *Journal of Animal Science*. 1971; 33: 600-606.