

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E
TECNOLOGIA GOIANO - CÂMPUS RIO VERDE
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

APLICAÇÃO DE GnRH NO DIA DA INSEMINAÇÃO
ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO (IATF) E ADMINISTRAÇÃO
DE MGA APÓS IATF EM VACAS NELORE SOLTEIRAS

Autora: Rossane Pereira da Silva

Orientadora: Karen Martins Leão

Rio Verde - GO

junho - 2013

APLICAÇÃO DE GnRH NO DIA DA INSEMINAÇÃO
ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO (IATF) E ADMINISTRAÇÃO
DE MGA APÓS IATF EM VACAS NELORE SOLTEIRAS

Autora: Rossane Pereira da Silva

Orientadora: Karen Martins Leão

Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Câmpus Rio Verde – Área de concentração Zootecnia.

Rio Verde - GO

junho - 2013

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação na (CIP)
Elaborada por Igor Yure Ramos Matos – Bibliotecário CRB1 - 2819

S583a Silva, Rossane Pereira.

Aplicação de GnRH no dia da inseminação artificial em tempo fixo (IATF) e administração de MGA após IATF em vacas nelore solteiras / Rosane Pereira da Silva. - 2013.

46 f.: il., tabs.

Orientador: Prof^ª. Dr^ª. Karen Martins Leão.

Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, Campus de Rio Verde, 2013.

Inclui índice de tabelas, lista de símbolos, siglas, abreviaturas e unidades.

1. Bovinos. 2. Inseminação artificial. 3. Vacas. I. Autor.
II. Título.

CDU: 636.082.453.5

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – CÂMPUS RIO VERDE
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**APLICAÇÃO DE GnRH NO DIA DA INSEMINAÇÃO
ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO (IATF) E
ADMINISTRAÇÃO DE MGA APÓS IATF EM VACAS
NELORE SOLTEIRAS**

Autora: Rossane Pereira da Silva
Orientadora: Karen Martins Leão

TITULAÇÃO: Mestre em Zootecnia – Área de concentração
Zootecnia – Zootecnia e Recursos Pesqueiros.

APROVADA em 09 de julho de 2013.

Prof. Dr. Rodrigo Arruda de Oliveira
Avaliador externo
Universidade de Brasília

Prof.^a Dr.^a Fabiana Ramos dos Santos
Avaliadora interna
IF Goiano/RV

Prof.^a Dr.^a Karen Martins Leão
Presidente da banca
IF Goiano/RV

Da autora...

“A vida não é um corredor reto e tranquilo que nós percorremos livres e sem empecilhos, mas um labirinto de passagens, pelas quais nós devemos procurar nosso caminho, perdidos e confusos, de vez em quando presos em um beco sem saída.

Porém, se tivermos fé, uma porta sempre será aberta para nós, não talvez aquela sobre a qual nós mesmos nunca pensamos, mas aquela que definitivamente se revelará boa para nós.”

A. J. Cronin

AGRADECIMENTOS

Escrever uma dissertação de Mestrado é uma experiência enriquecedora e de plena superação. Modificamo-nos a cada tentativa de buscar respostas às nossas aflições de ‘pesquisador’.

Para aqueles que compartilham conosco desse momento, parece uma tarefa interminável e enigmática que só se torna realizável graças as muitas pessoas que participam, direta ou indiretamente, mesmo sem saber realmente o que e para que nos envolvemos em pesquisa.

E, é a essas pessoas que gostaria de agradecer:

Preliminarmente quero agradecer a **Deus**, luz dos meus passos, pelo dom da vida por deixar que seu Espírito Santo mova em nós trazendo os dons da sabedoria, ciência e da fortaleza, pois sem eles seria impossível realizar essa tarefa.

Aos meus amados Pais, José Pereira da Silva Neto e Maria Telma Pereira da Silva pelos momentos de plenitudes e apoio familiar incondicionais. A vocês minha externa gratidão.

Às minhas irmãs Fúlvia Pereira da Silva e Kívia Rodrigues Pereira pelo incentivo e presença sempre constante em minha vida. Com vocês exercito a fraternidade.

Ao grupo da reprodução, formado pelas “meninas da reprodução”, Natália do Carmo Silva, Moraima Castro Rodrigues, Thaisa Campos Marques e pelo co-orientador Marco Antônio de Oliveira Viu, pela competência e disposição em partilhar experiências.

Aos meus amigos que sempre me deram força e apoio, à minha amiga Patrícia Soares e demais colegas de trabalho, que sempre me apoiaram fazendo crer que tudo seria possível não me deixando desistir dos sonhos.

À banca examinadora, Dr. Rodrigo Arruda de Oliveira e Dr.^a Fabiana Ramos dos Santos pela disponibilidade gentileza, paciência, atenção, críticas e contribuições oferecidas ao presente estudo.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás – FAPEG, pela concessão da bolsa, que foi de extrema importância e valia na execução dos experimentos.

E, por último, porém não menos importante, as Fazendas Reunidas – Agropecuária Baumgart e Fazenda Sara pela disponibilização dos funcionários, animais, materiais e propriedades, sem os quais seria impossível a realização dos experimentos.

Enfim, a todos aqueles que por um lapso de memória não mencionei, mas que colaboraram para esta pesquisa. Abraços fraternos a todos!

Agradecimento especial

À minha orientadora, Professora Doutora Karen Martins Leão, à veterinária-orientadora-amiga, espelho de profissional a quem sempre segui e por sempre ter sido exemplo de que podemos ir além.

A você, minhas manifestações de admiração, respeito e carinho. Um misto de austeridade e competência.

BIOGRAFIA DA AUTORA

ROSSANE PEREIRA DA SILVA, filha de Maria Telma Pereira da Silva e José Pereira da Silva Neto. Nascida na cidade de Rio Verde – GO, aos 29 dias do mês de abril de 1988. Iniciou no curso de Zootecnia em agosto de 2006 no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano - Câmpus Rio Verde (IFG Goiano-Câmpus Rio Verde), em agosto de 2010, obteve título de Bacharel em Zootecnia. Em agosto de 2011, ingressou no Programa de Pós-Graduação, na área de Produção Animal submetendo-se a defesa da dissertação em julho de 2013, para obtenção do título de Mestre em Zootecnia também pelo IFG Goiano-Câmpus Rio Verde.

ÍNDICE

	Página
ÍNDICE DE TABELAS.....	xiii
LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS, ABREVIACÕES E UNIDADES.....	ix
RESUMO.....	x
ABSTRACT.....	xii
INTRODUÇÃO GERAL.....	1
1.1 Revisão de Literatura.....	3
1.1.1 Terapia hormonal para sincronização de estro e da ovulação.....	3
Progesterona.....	5
GnRH.....	8
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	9
OBJETIVO GERAL.....	15
TRABALHO CIENTÍFICO.....	16
APLICAÇÃO DE GnRH NO DIA DA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO (IATF) E ADMINISTRAÇÃO DE MGA APÓS IATF EM VACAS NELORE SOLTEIRAS.....	16
RESUMO.....	16
SUMMARY.....	17
INTRODUÇÃO.....	18
MATERIAL E MÉTODOS.....	20
<i>Avaliação e preparação dos animais do Experimento I.....</i>	<i>20</i>
<i>Grupos experimentais do Experimento I.....</i>	<i>21</i>
<i>Avaliação e preparação dos animais do Experimento II.....</i>	<i>22</i>
<i>Grupos experimentais do Experimento II.....</i>	<i>22</i>
<i>Diagnóstico de gestação.....</i>	<i>23</i>

<i>Delineamento estatístico</i>	23
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	23
CONCLUSÕES.....	28
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	28

ÍNDICE DE TABELAS

	Página
Tabela I - Taxa de concepção de vacas Nelore solteiras submetidas à IATF sem suplementação de progesterona (Controle), submetidas à aplicação de GnRH no momento da IATF (GnRH), suplementadas com Acetato de Melengestrol do 13° ao 18° dia após IATF (MGA), bem como submetidas à aplicação de GnRH no momento da IATF e suplementadas com Acetato de Melengestrol do 13° ao 18° dia após IATF (MGA e GnRH).....	24
Tabela II - Taxa de concepção de vacas Nelore solteiras submetidas à IATF sem suplementação de progesterona (Controle) e suplementadas com Acetato de Melengestrol do dia 5 ao dia 10 após a IATF (Tratado).....	28

LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS, ABREVIACÕES E UNIDADES

%	Porcentagem
®	Marca Registrada
BE	Benzoato de Estradiol
D5	Dia 5
D9	Dia 9
D10	Dia 10
D13	Dia 13
D18	Dia 18
E₂	Estrógeno
eCG	Gonadotrofina coriônica equina
FIV	Fertilização <i>in vitro</i>
g	grama
GnRH	Hormônio liberador de gonadotrofinas
hCG	Gonadotrofina Coriônica Humana
IA	Inseminação Artificial
IATF	Inseminação Artificial em Tempo Fixo
IFN- τ	Interferon-tau
LH	Hormônio Luteinizante
mg	miligrama
MGA	Acetato de melengestrol
mm	milímetro
P₄	Progesterona
PGF₂α	Prostaglandina F ₂ α
TE	Transferência de embriões

RESUMO

Objetivou-se com o presente estudo avaliar o efeito da aplicação de Acetato de Buserelina (GnRH) no momento da IATF e o efeito do fornecimento, via oral, de Acetato de Melengestrol (MGA[®] Premix) após a IATF, do dia 13 (D13) ao dia 18 (D18) após a IATF, bem como seu fornecimento do dia 5 (D5) ao dia 10 (D10) após a IATF, sobre a taxa de concepção em vacas solteiras da raça Nelore, em dois experimentos. No Experimento 1, avaliou-se o efeito da aplicação de GnRH no momento da IATF e o efeito do fornecimento de MGA[®] Premix do D13 ao D18 após a IATF, em 215 vacas solteiras da raça Nelore. Para sincronização da ovulação as vacas receberam no dia zero (D0) aplicação de dispositivo intravaginal contendo 1,9 gramas de progesterona (CIDR[®]) e 2,0 mg de benzoato de estradiol. Após sete dias (D07), foi realizada aplicação de 0,15 mg de D-Cloprostenol. No dia nove (D09), foi retirado o dispositivo de progesterona e aplicado 0,6 mg de cipionato de estradiol e no dia 11 (D11), foi realizada a inseminação artificial em tempo fixo, as fêmeas tratadas com GnRH, foram submetidas à aplicação de 0,004 mg de GnRH. Os animais foram divididos em quatro grupos experimentais, sendo que no grupo I (Controle), 56 animais foram submetidos à IATF sem aplicação de GnRH. No grupo II (GnRH), 51 animais foram submetidos à aplicação de GnRH no ato da IATF. No grupo III (MGA), 57 animais foram submetidos à IATF sem aplicação de GnRH e receberam suplementação mineral, com adição de 2,28g de MGA[®] Premix/vaca/dia do D13 após a IATF, até o D18 após a IATF. No grupo IV (MGA e GnRH), 51 animais foram submetidos à aplicação de GnRH no momento da IATF e receberam suplementação mineral com adição de 2,28g MGA[®] Premix/vaca/dia do D13 após a IATF, até o D18 após a IATF. Para avaliar o efeito do fornecimento de MGA[®] Premix do D05 ao D10 após o protocolo, foi desenvolvido o Experimento II em 196 vacas pluríparas solteiras da raça Nelore. Para sincronização da ovulação as vacas receberam no dia zero (D0), um dispositivo intravaginal bovino (DIB[®]) e 2,0 mg de benzoato de estradiol. Após sete dias (D07), foi realizada aplicação de 0,265 mg de Cloprostenol sódico. No dia oito (D08), foi retirado o dispositivo de P₄ e aplicado 300 UI de eCG, + 1mg de cipionato de estradiol e no dia 10 (D10), foi realizada a inseminação artificial em tempo fixo. Os animais foram divididos em dois grupos experimentais, sendo que no grupo I (Controle), 104 animais receberam suplementação mineral sem adição de acetato de melengestrol, conforme suas exigências e no grupo II (Tratado), 95 animais receberam suplementação mineral, com adição de 2,28g de MGA[®] Premix/vaca/dia D05 após a IATF, até o D10 após a IATF. O diagnóstico de gestação de ambos os experimentos foi realizado aos 45 dias após a IATF por meio de exame de ultrassonografia. Ambos os Experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente ao acaso. As taxas de concepção obtidas durante os experimentos foram analisadas através do procedimento MIXED do SAS (SAS, 2000). No Experimento I, o grupo controle, obteve menor taxa de concepção

(32,1%) quando comparado com os demais grupos avaliados, quando foi fornecido MGA[®] Premix após a IATF (45,6%), GnRH no momento da IATF (50,9%), bem como a associação dos dois tratamentos (50,9%). No Experimento II, o grupo controle, obteve maior taxa de concepção (40,38%) quando comparado com o grupo quando foi fornecido MGA pós IATF (18,48%). Conclui-se com o presente estudo, que a aplicação de Acetato de Buserelina (GnRH) no momento da IATF e o fornecimento, via oral, de MGA[®] Premix, administrado do dia treze ao dia dezoito após a IATF elevou a taxa de concepção em vacas Nelore solteiras. No entanto quando administrado do dia cinco ao dia dez após a IATF, o fornecimento, via oral, de MGA[®] Premix reduziu a taxa de concepção em vacas Nelore Solteiras.

Palavras - chaves: ambiente uterino, progestágeno, reconhecimento materno, sincronização de ovulação, taxa de concepção.

ABSTRACT

The objective of the present study was to assess the effect of applying buserelin acetate (GnRH) at FTAI and the effect of oral administration of Melengestrol acetate (MGA[®] Premix) after FTAI, from day 13 (D13) until day 18 (D18) after FTAI, and applying it from day 5 (D5) until day 10 (D10) after FTAI, on the conception rate of Nelore heifers in two experiments. Experiment I assessed the effect of applying GnRH at the time of FTAI and the effect of administering MGA[®] Premix from D13 until D18 after FTAI, in 215 unmated Nelore cows. Ovulation was synchronized on day zero (D0) by applying an intravaginal device containing 1.9 g of progesterone (CIDR[®]) and 2.0 mg of estradiol benzoate. After seven days, (D07) 0.15 mg of D-Chloprostenol was applied. On day nine (D09) the progesterone device was removed and 0.6 gr of estradiol cypionate was applied and on day eleven (D11) fixed time artificial insemination was carried out. The females treated with GnRH received 0.004 mg of GnRH. The animals were allotted into four experimental groups, and in Group I (Control) 56 animals were submitted to FTAI without applying GnRH. In group III (GnRH) 51 animals received GnRH at the time of FTAI. In group III (MGA) 57 animals were submitted to FTAI without GnRH and received mineral supplementation, with 2.28g MGA[®] Premix/cow/day added from D13 after FTAI until the D18 after FTAI. In groups IV (MGA and GnRH) 51 animals received GnRH at the time of FTAI and received mineral supplementation, with 2.28g MGA[®] Premix/cow/day added from the D13 after FTAI until the D18 after FTAI. To assess the effect of supplying MGA[®] Premix from D05 until D10 after the protocol, Experiment II was carried out in 196 unmated multiparous Nelore cows. Ovulation was synchronized by applying a bovine intravaginal device (DIB[®]) and 2.0 mg of estradiol benzoate on day zero (D0). After seven days (D07) 0.265 mg of sodium chloprostenol were applied. On day eight (D08) the P₄ device was removed and 300 UI eCG, + 1mg of estradiol cypionate were applied and fixed time artificial insemination was carried out on day 10 (D10). The animals were divided into two experimental groups; in group one (Control) 104 animals received mineral supplementation without the addition of melengestrol acetate, depending on their requirements and in group II (Treated) 95 animals received mineral supplementation with the addition of 2.28g of MGA[®] Premix/cow/day from the D05 after FTAI until the D10 after FTAI. Gestation was diagnosed in both experiments 45 days after FTAI by ultrasonography. Both the experiments were carried out in a completely randomized design. The conception rates obtained during the experiments were analyzed by the SAS MIXED procedure (SAS, 2000). In experiment I, the control group obtained the lowest conception rate (32.1%) compared with the other groups assessed when MGA[®] Premix was administered after

FTAI (45.6%), GnRH at the time of FTAI (50.9%), and the association of both treatments (50.9%). In experiment II the control group obtained the highest conception rate (40.38%) compared to the group which received MGA after FTAI (18.48%). It was concluded from the present study that applying Buserelin acetate (GnRH) at the time of FTAI and oral administration of MGA[®] Premix from day 13 to day 18 after FTAI raised the conception rate in unmated Nelore cows. However, when administered from day five until day ten after FTAI, oral supply of MGA[®] Premix reduced the conception rate in unmated Nelore cows.

Key words: uterine environment, progestogen, maternal recognition, ovulation synchronization, conception rate.

1 INTRODUÇÃO GERAL

O manejo reprodutivo é sem dúvida um dos segmentos com maior importância na produção animal. Este influencia diretamente nos índices de produtividade dos rebanhos, sendo um dos principais enfoques da bovinocultura. A perspectiva de retorno financeiro por meio da eficiência nos sistemas de produção pode ser intensificada com o uso de eficientes técnicas de manejo e biotecnologias aplicadas à reprodução animal (Vishwanath, 2003).

Para a obtenção de bons índices reprodutivos na pecuária de corte, o ideal é que sejam utilizadas técnicas avançadas, que reduzam mão-de-obra, custos e aumentem a eficiência reprodutiva dos rebanhos. A pecuária brasileira está cada vez mais competitiva fazendo com que os produtores sintam a necessidade de tecnificação para alavancar os índices produtivos.

Elevados índices de produção, associados a alta eficiência reprodutiva, devem ser metas que induzam técnicos e criadores alcançarem maior produtividade e satisfatório custo-benefício na atividade. A otimização da mão-de-obra e a manutenção da eficiência reprodutiva são os principais fatores que contribuem para a melhoria do desempenho produtivo e da lucratividade dos rebanhos comerciais (Vasconcelos & Meneghetti, 2006).

Com o intuito de se obter elevados índices de produtivos, a bovinocultura de corte brasileira vem passando por numerosos processos evolutivos, a fim de aprimorar cada vez mais as biotecnologias da reprodução, como a inseminação artificial (IA), inseminação artificial em tempo fixo (IATF), transferência de embriões (TE) e fertilização *in vitro* de embriões (FIV).

A inseminação artificial é uma biotécnica da reprodução bastante utilizada e, embora exija mão-de-obra qualificada promove melhoramento genético e aumento da produtividade, além de reduzir a disseminação de doenças no rebanho. Um contratempo encontrado na execução da inseminação artificial é a necessidade de observação de cio (Hafez & Hafez, 2004).

Raças zebuínas apresentam duração do ciclo estral similar as raças de origem europeia, porém, rebanhos *Bos indicus* e/ou suas cruzas, apresentam particularidades no comportamento reprodutivo, como estro de curta duração com elevada porcentagem de manifestação noturna (Baruselli & Marques, 2002) e pouca atividade de monta (Galina et al., 1996), apresentando estro por aproximadamente 10 horas (Bó et al., 2003).

Pinheiro et al. (1998) relatam que mais de 50% das fêmeas zebuínas iniciam a manifestação de estro no período noturno, e cerca de 30% iniciam e encerram o estro durante a noite, diminuindo a eficácia da detecção de cio.

Com a evolução e o estabelecimento da técnica de IA, os problemas, como detecção de cio, baixo número de animais inseminados e principalmente a necessidade de mão-de-obra em tempo integral, conduziram a busca por alternativas de contornar, sem comprometer os índices reprodutivos (Baruselli et al., 2004).

Idealizando sanar o empecilho da observação de cio para inseminação artificial convencional, surgiram então técnicas de sincronização de cios e da ovulação que permitem a realização da inseminação artificial em tempo fixo, controlando a dinâmica folicular, permitindo assim que os animais sejam inseminados em horários pré-determinados, possibilitando inseminar elevado número de animais no momento mais adequado aos técnicos e produtores, sem a necessidade de observar os cios (Torres-Júnior et al., 2007).

Montezuma Jr (2001) afirmou que a utilização de hormônios sintéticos permite o retorno da atividade reprodutiva das fêmeas sem causar prejuízos para sua fisiologia. A utilização de certos grupos hormonais é uma forma de facilitar a utilização da IA a partir da sincronização de estro e indução da ciclicidade das fêmeas. Tais técnicas têm como finalidade facilitar a mão-de-obra da propriedade, já que tal biotécnica permite a concentração do estro em determinado período de tempo, não sendo necessário esperar o ciclo reprodutivo completo das mesmas, maximizando a eficiência reprodutiva, buscando o índice desejado de produção, que é de um bezerro por ano (Rathbone et al., 2001).

A manipulação da atividade ovariana com produtos exógenos permite a

sincronização da ovulação. Atualmente, existem diversos tipos de protocolos para a IATF, sendo a combinação dos hormônios à base de prostaglandinas (PGF2 α), progestágenos, estrógenos (E₂), hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) e gonadotrofina coriônica equina (eCG) os hormônios mais utilizados (Gottschall et al., 2008).

Diversos fatores levam aos baixos índices na taxa de concepção, após a inseminação, como o estresse térmico, escore de condição corporal baixo e má alimentação. A ausência de energia na alimentação animal leva a menor frequência de pulsos de hormônio luteinizante (LH) e a baixa concentração de progesterona (P₄) o que gerando o aumento do risco da perda de prenhez. (Santos et al., 2006).

Vacas com níveis baixos de P₄ após a inseminação apresentam menor taxa de concepção aos 28 dias (Mehni et al., 2011) e maior taxa de morte embrionária (Clemente et al., 2009). A otimização da eficiência reprodutiva é um dos principais fatores que contribuem para a melhoria do desempenho produtivo e da lucratividade dos rebanhos bovinos. Diversas estratégias têm sido desenvolvidas visando aumentar o número de bezerros produzidos por vaca ao longo de sua vida reprodutiva, através de biotécnicas capazes de induzir a ciclicidade e minimizar os riscos de perda embrionária e fetal.

1.1 Revisão de Literatura

1.1.1 Terapia hormonal para sincronização de estro e da ovulação

O ciclo estral da vaca é controlado por complexa interação neuroendócrina, coordenada pelo eixo hipotalâmico hipofisário gonadal e por mecanismos intra-ovários que estabelecem a dinâmica folicular que permite o desenvolvimento de um folículo maduro com capacidade ovulatória em momento oportuno e produzindo assim, uma célula capaz de ser fecundada (Callejas, 2001).

Em bovinos de corte, tão importante quanto a concepção, é a distribuição desta durante toda a estação de monta. A sincronização de estro constitui em uma técnica que contribui para otimizar a utilização do tempo, mão-de-obra e recursos financeiros por encurtar o período de parição, proporcionando aumento do peso e a uniformidade dos produtos (Dahlen et al., 2003).

O pico pré-ovulatório de LH desencadeia a ovulação, que em vacas europeias, ocorre quando o folículo adquire um diâmetro médio de 12 mm (Sartori et al., 2001). No momento do pico de LH a assincronia do crescimento folicular e o tamanho reduzido do folículo dominante, são desafios a serem vencidos para possibilitar aumento das taxas de ovulação e concepção da IATF (Siqueira, et al. 2008).

Os programas de IATF procuram induzir a emergência de uma onda de crescimento folicular sincronizada, controlar a duração do crescimento folicular e da fase luteínica até o estágio pré-ovulatório, sincronizar a retirada da progesterona exógena e endógena de forma a induzir a ovulação sincronizada em todas as fêmeas tratadas (Baruselli, 2004). Tais tratamentos hormonais possibilitam sincronizar e induzir a ciclicidade dos animais, e conseqüentemente melhorar as taxas de concepção (Bó et al., 2003).

Apesar de serem utilizados há algum tempo em vacas de corte durante o anestro pós-parto, os protocolos de IATF apresentam resultados variados dependendo da interação entre o meio ambiente e características individuais de cada rebanho, os estudos tem demonstrado variadas taxas de prenhez, 25% (Martinez et al., 2005) à 70% (Siqueira et al., 2008).

Stagg et al. (1995) observaram que em 80 a 90% da vacas *Bos taurus taurus*, avaliadas, a primeira ovulação pós-parto é seguida por ciclo estral curto e sem manifestação de estro. A utilização de hormônios sintéticos permite o retorno da atividade reprodutiva sem prejuízos para a fisiologia do animal (Montezuma Jr, 2001). Dentre os inúmeros tratamentos hormonais testados para IATF de bovinos de corte, o protocolo com progestágenos tem se mostrado eficaz, principalmente no período pós-parto, quando boa parte dos animais se encontra em anestro (Cavallieri et al., 1997).

Os protocolos hormonais atualmente utilizados se baseiam na associação de GnRH e prostaglandinas (Pursley et al., 1995) ou na associação de P₄, E₂ e eCG – com utilização de implantes auricular ou intravaginal de P₄ (Murta et al., 2001).

Os progestágenos são de grande importância, visto que diminuem a ocorrência de ciclos curtos após a primeira ovulação e ajudam a restabelecer a ciclicidade (SÁ FILHO et al., 2009). Os ciclos são curtos por causa da luteólise ocorrida pela PGF₂α por um número insuficiente de receptores de P₄ no endométrio (Zollers et al., 1993).

Progestágenos quando são administrados continuamente, 5-9 dias, há inibição na secreção de LH. Interrompendo a exposição de P₄, ocorre uma onda de LH capaz de induzir o crescimento do folículo pré-ovulatório, acontecendo então a ovulação. No

entanto, o caso do uso de progestágenos inadequadamente pode levar à formação de folículos persistentes, a partir desta dominância persistente, o desenvolvimento dos folículos se torna desorganizado e quase sempre seus oócitos são inférteis (Fortune & Rivera, 2003).

Alguns estudos relatam que altas concentrações de P_4 circulantes em novilhas diminuem a pulsatilidade do LH (Calejas et al., 2006), reduzem o crescimento do folículo dominante e a eficiência dos protocolos baseados na utilização da P_4 (Baruselli et al 2001).

Protocolos de sincronização de estro que utilizam o GnRH para iniciar uma nova onda de crescimento folicular ou, principalmente, para promover a ovulação de um folículo dominante no momento da IA, têm sido desenvolvidos para gado de corte e de leite (Bragança, 2007).

Com a finalidade de evitar a persistência folicular, derivados do E_2 são utilizados em conjunto com os progestágenos, para induzir a regressão do folículo dominante e promove novo recrutamento folicular caracterizando uma nova onda folicular com grande potencial fertilizante (Bo et al., 2000).

Colazo et al. (2008) realizaram estudo com intuito de avaliar a resposta do GnRH na indução da liberação de LH sob altos níveis de P_4 , tanto em novilhas, quanto em vacas. Os autores observaram que níveis elevados de P_4 plasmática reduzem a liberação de LH pela hipófise após a administração de GnRH tanto em novilhas quanto em vacas, de forma linear.

Os protocolos de IATF podem induzir a sincronização do estro em fêmeas cíclicas, reduzir o anestro pós-parto e tratar cistos ovarianos. De forma que a hormonioterapia controlada quando bem aplicada nos rebanhos poderá contribuir para o aumento da eficiência reprodutiva, considerando sempre que a relação custo/benefício seja favorável ao produtor (Murta et al., 2001).

1.1.2 Progesterona

A progesterona é um hormônio fundamental no estabelecimento e manutenção da prenhez. O seu papel na expressão gênica do endométrio é bem documentado em ruminantes (Spencer et al., 2006). Exerce relevante papel no sistema imune, dupla ovulação e fertilidade (Wiltbank et al., 2010). Observa-se menor taxa de concepção em vacas com baixos níveis de progesterona sérica após a inseminação (Mehni et al., 2011)

e maior porcentagem de mortalidade embrionária (Clemente et al., 2009).

Bovinos apresentam elevadas taxas de fertilização, no entanto um dos principais fatores envolvidos na perda da prenhez é a deficiência uterina na nutrição do feto e manutenção da gestação, que causa morte embrionária. O estabelecimento e a manutenção da prenhez dependem de uma função uterina adequada. Diferente do que ocorre em primatas e ratos, em bovinos a fixação do concepto e a placentação não ocorrem logo após a fertilização e o concepto passa por período prolongado de tempo no lúmen uterino, antes de se fixar ao endométrio (Bazer et al., 2009).

Baixas taxas de prenhez podem ser causadas por diversos fatores, embora a causa mais comum seja a perda embrionária durante a fase inicial da gestação. No entanto, dois fatores primordiais influenciam a perda embrionária, a qualidade do ovócito ovulado e o suporte uterino ao desenvolvimento embrionário. A qualidade do ovócito pode ser regulada com concentrações circulantes de progesterona antes da ovulação (Pfeifer et al., 2009), bem como a função uterina pode ser regulada através das concentrações circulantes de progesterona depois da ovulação (Baruselli et al., 2004).

O reconhecimento materno é um processo pelo qual o concepto sinaliza sua presença no útero, prolonga a vida do corpo lúteo (CL) e mantém a gestação pelas interações bioquímicas entre o concepto e o tecido endometrial nas diversas espécies mamíferas (Spencer & Bazer, 2004).

Durante o reconhecimento materno da gestação, células do trofoblasto do concepto secretam a proteína denominada interferon-tau (IFN- τ), a secreção desta proteína irá ocorrer entre os dias 10 e 21-25 com máxima produção nos dias 14-16 (Spencer et al., 2004b).

O efeito antiluteolítico do IFN- τ mantém a secreção de P_4 que é essencial para a manutenção do ambiente uterino suportar os eventos críticos no sucesso do desenvolvimento do concepto até o parto (Spencer et al., 2004b).

Dentre os vários fatores que interferem na comunicação materno-fetal, o principal hormônio que controla o processo de reconhecimento materno é a P_4 (Mann & Lamming, 1999). Os níveis plasmáticos de P_4 variam de acordo com o desenvolvimento, a manutenção e a regressão do CL (Hafez & Hafez, 2004)

A suplementação com progesterona aumenta a taxa de crescimento embrionário, bem como sua capacidade em produzir a molécula sinalizadora da presença do embrião no útero (Satterfield et al., 2006). Beltman et al., (2009) relatam que elevadas

concentrações de progesterona circulante logo após concepção induzem ao aumento na taxa de prenhez.

Mann et al. (2006) observaram que conceptos maiores produzem mais IFN- τ , tais autores demonstram associação significativa entre o comprimento do concepto e as concentrações uterinas de IFN- τ .

Mann & Lamming (1999) verificaram aumento de 5% na taxa de concepção em vacas quando se eleva a progesterona na primeira semana após a inseminação, não apresentando efeito quando a progesterona exógena é fornecida na segunda ou terceira semana após a inseminação.

A implantação do embrião junto ao útero materno é a adaptação embrionária associada com a viviparidade, requerida para sustentar a nutrição e proteção do concepto durante a gestação e o reconhecimento materno se dá no período pré-implantação (Marques et al., 2007).

A sinalização entre o concepto e o organismo materno é importante para vários aspectos da prenhez. O embrião é capaz de interferir na fisiologia materna já no início da prenhez (Goff, 2002).

O estabelecimento da gestação é realizado através de comunicação ativa e passiva entre embrião e útero. A manutenção do (CL) garante a produção continuada de P_4 , que é necessária para preparação do endométrio para implantação e nutrição embrionária (Bazer et al., 2008).

Mann et al. (2006), relatam que a suplementação de P_4 durante o dia cinco (D5) ao dia nove (D9) após a concepção, quadruplica o comprimento do trofoblasto e aumenta em seis vezes a concentração uterina de IFN- τ em vacas holandesas não lactantes quando comparada com a suplementação de P_4 entre os dias 12 e 16.

Beltman et al. (2009) relatam que elevadas concentrações de P_4 circulante logo após concepção eleva a taxa de prenhez. Stronge et al. (2005) demonstraram que elevados níveis de P_4 circulante logo após a concepção também estão associadas ao alongamento do concepto juntamente ao aumento da produção de IFN- τ e, conseqüentemente, maiores taxas de prenhez em vacas.

Segundo Ayad et al. (2007) a maior concentração de P_4 poderia promover um ambiente uterino mais adequado para o desenvolvimento embrionário, resultando em maior concepto e que produz mais proteínas trofoblásticas, tais como o INF- τ e as glicoproteínas associadas a prenhez, que diferente do INF- τ atinge a circulação maternal e estão sendo usadas para diagnósticos de prenhez.

1.1.3 GnRH

O hormônio liberador de gonadotrofinas é um peptídeo chave que controla a secreção de gonadotrofinas, principalmente do LH e, portanto, a função gonadal. Esse hormônio hipotalâmico é liberado de modo pulsátil e, na fêmea, a sua frequência e amplitude variam durante os estágios reprodutivos nas diferentes espécies (Santos et al., 2006).

O tratamento com GnRH induz a ovulação do folículo dominante, através da descarga hipofisária de LH. Normalmente, em torno de 2 horas após sua administração, ocorre pico de LH e 24 a 32 horas é induzida a ovulação do folículo dominante, iniciando uma nova onda de crescimento folicular cerca de 2 dias após a aplicação (Pursley et al., 1995).

Quando administrado em estágios aleatórios do ciclo estral, o GnRH determina a ovulação do folículo dominante com mais de 9 mm ou a sua atresia e induz a emergência de uma nova onda de crescimento folicular dentro de 2 a 3 dias em vacas e 1 a 2 dias em novilhas após o tratamento (Bragança, 2007).

A falha em induzir ovulação na primeira aplicação de GnRH em protocolos de sincronização de estro resulta em baixa taxa de sincronização da onda folicular, comprometendo as taxas de concepção (Perry et al., 2004). Além do que, o diâmetro do folículo no momento da aplicação do GnRH influencia diretamente sua capacidade ovulatória (Sartori et al., 2001), a expressão de receptores de LH nas células da granulosa ocorre após o desvio folicular, em torno de 2,5 dias após a emergência da onda, quando o folículo atinge cerca de 8,5 mm de diâmetro (Gimenes et al., 2008).

A administração de GnRH induz um pico de LH que se inicia logo após sua aplicação (em torno de 15 minutos). Da mesma forma, os fármacos que agem diretamente nos receptores de LH (Gonadotrofina Coriônica Humana - hCG e LH) têm sua ação estabelecida logo após a absorção (Gregory et al., 2009).

Moreira et al. (2007) trabalhando com vacas Nelore solteiras, observaram melhores taxas de prenhez no grupo tratado com GnRH, como sincronizador da ovulação. Resultados semelhantes aos encontrados por Moura (2008) que relatam a melhoria nas taxas de prenhez dos grupos tratados com GnRH, no dia da IA, quando comparados aos grupos controle.

São observados variados resultados na taxa de prenhez de vacas tratadas com GnRH, Gottschall, et al. (2005) relatam 46,7% de prenhez em vacas tratadas com GnRH e 35,5% de prenhez em vacas sem tratamento com GnRH. Ayres et al. (2006), diagnosticaram 68,38% de prenhez nas vacas sem tratamento com GnRH e 61,59% de prenhez nas vacas que receberam GnRH. Siqueira et al. (2008) relatam taxas de prenhez na IATF de vacas de 54,7%, utilizando GnRH e 33,3% de prenhez quando não tratadas com GnRH.

Kaim et al. (2003) também observaram efeitos positivos nas taxas de prenhez de vacas primíparas submetidas a inseminação após a aplicação de GnRH, mas não observaram melhoria na taxa de prenhez em pluríparas.

O GnRH exerce função fisiológica nas fêmeas, induzindo o pico pré-ovulatório de hormônio luteinizante (LH) e conseqüentemente a ovulação e/ou a luteinização do folículo induzindo uma nova onda de crescimento folicular (Gottschall et al., 2008). Segundo Lucy & Stevenson (1986) o GnRH aplicado antes da inseminação pode aumentar fertilidade por sua ação direta ou indireta (por secreção de LH) agindo sobre o folículo ovulatório.

Perry & Perry (2009) não observaram aumento nas taxas de concepção ao primeiro serviço com administração de GnRH na IA em vacas de corte. Baruselli et al. (2002), relatam que os protocolos para IATF que utilizam GnRH para induzir a ovulação, ao contrário do que ocorre em vacas de leite, ainda apresentam resultados variáveis quando usados em vacas de corte com cria ao pé, resultando muitas vezes em baixas taxas de prenhez. Baixas taxas de concepção provenientes de IATF estão relacionadas com a incapacidade ovulatória do folículo dominante.

1.1 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ayad, A., N. M. Sousa, J. Sulon, J. L. Hornick, J. Watts, F. Lopez-Gatius, M. Iguer-Ouada and J. F. Beckers. 2007. Influence of progesterone concentrations on secretory functions of trophoblast and pituitary during the first trimester of pregnancy in dairy cattle. *Theriogenology*, v. 67, p. 1503-1511.

Ayres H., J. R. S. Torres-Júnior, L. Penteado, A. H. Souza and Baruselli P.S. 2006. 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 benzoato de estradiol. *Acta Scientiae Veterinariae*, v.34, p.409, Supl.1.

Baruselli P., E. L. Reis, M. O. Marques, L. F. Nasser and G. A. Bó 2004. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrous beef cattle in tropical climates. *Animal Reproduction Science*, v.82/83, p.479-486.

Baruselli, P. S and M. O. Marques. 2002 Programas de sincronização da ovulação em gado de corte. In *Simpósio de Reprodução Bovina*, Porto Alegre. Sincronização do Estro em Bovinos. Porto Alegre: Departamento de Medicina Animal, Faculdade de Veterinária - UFRGS, v.1. p.41-60.

Baruselli P., E. L. Reis, M. O. Marques, E. H. Madureira, W. P. Costa Neto, R. R. Grandinetti and G. A. Bo. 2001. Increased pregnancy rates in embryo recipients treated with CIDR-B devices and eCG. *Theriogenology*, 55:157.

Baruselli, P. S., M. O. Marques, N. A. T. Carvalho, E. H. Madureira, and E. P. Campos Filho. 2002. Efeito de Diferentes Protocolos de Inseminação Artificial em Tempo Fixo na Eficiência Reprodutiva de Vacas de Corte Lactantes. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.26, n.3, p.218-221.

Bazer, F. W., R. C. Burghardt, G. A. Johnson, T. E. Spencer, G. Wu, G. 2008. Interferons and progesterone for establishment and maintenance of pregnancy: interactions among novel cell signaling pathways. *Reproductive Biology*, v. 8, n. 3, p. 179-211.

Bazer, T. W., T. E. Spencer, G. A. Johnson, R. C. Burghardt, and G. Wu. 2009. Comparative aspects of implantation. *Reproduction*, v. 138, p. 195-209.

Beltman, M. E., P. Lonergan, J. F. Diskin, J. F. Roche and M. A. Crowe. 2009. Effect of progesterone supplementation in the first week post conception on embryo survival in beef heifers. *Theriogenology*, v. 71, p. 1173-1179.

Bó, G.A., D. R. Bergfelt and G. M. Brogliatti. 2000. Local versus systemic effects of exogenous estradiol -17B on ovarian follicular dynamics in heifers with progesterone implants. *Animal Reproduction Science*, v.59, p.141-157.

Bó, G. A., P. S. Baruselli and M. F. Martinez. 2003. Pattern and manipulation of follicular development in Bos Indicus cattle. *Animal Reproduction Science*, v.78, p.307-326.

Bragança, J.F.M. 2007. Estratégias hormonais de indução/sincronização de estro em novilhas de corte entre 12 e 14 meses de idade. *Tese (doutorado)* – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

Callejas S. S. 2001. Fisiología del ciclo estral bovino. In: Palma GA. Biotecnología de la reproducción. Mar del Plata: *Reprobiotec*, p.37-49.

Callejas S.S., R. Alberio, J. Cabodevila, F. Dulout, J. Aller, R. Catalano and M. Teruel. 2006. Influence of different doses of progesterone treatments on ovarian follicle status in beef cows. *Animal Reproduction Science*, v.91, p.191-200.

- Clemente M., J. Fuente, T. Fair, A. Naib, A. Gutierrez-Adan, J. F. Roche, D. Rizo and P. Lonergan. 2009. Progesterone and conceptus elongation in cattle: a direct effect on the embryo or an indirect effect via the endometrium? *Reproduction*, v. 138, p. 507-517.
- Colazo M.G., J. P. Kastelic, H. Davis, M. D. Rutledge, M. F. Martinez, J. A. Small and R. J. Mapletoft. 2008. Effects of plasma progesterone concentrations on LH release and ovulation in beef cattle given GnRH. *Dom Animal Endocrine*, v. 34, p.109-117.
- Dahlen, C. R., G. C. Lamb, C. M. Zehnder, L. R. Miller and A. DiCostanzo. 2003. Fixed-time insemination in peripueral, lightweight replacement beef heifers after estrus synchronization with PGF2alpha and GnRH. *Theriogenology*, v.59, p.1827-1837.
- Fortune. V.J.F. and G. M. Rivera. 2003. Folículo dominante persistente em bovinos: aspectos básicos e aplicados. *Arquivos da faculdade de Veterinária. UFRGS*, v.2, n.2, p.200-205.
- Galina, C. S., A. Orihuela and I. Rubio. 1996. Behavioural trends affecting oestrus detection in Zebu cattle. *Animal Reproduction Science*, v.42, p.465-470.
- Gimenes, L.U., M. F. Sá Filho, N. A. T. Carvalho, J. R. S. Torres-Junior, A. H. Souza, E.H. Madureira, L. A. Trinca, E. S. Sartorelli, C. M. Barros, J. B. P. Carvalho, R. J. Mapletoft and P. S. Baruselli. 2008. Follicle deviation and ovulatory capacity in *Bos indicus* heifers. *Theriogenology*, v.69, p.852-858.
- Goff, A. K. 2002. Embryonic signals and survival. *Reproduction Domestic Animal*, v. 133-139.
- Gottschall, C. S., P. C. Rodrigues, P. L. Agruiar, E. T. Ferreira, L. Canellas, A. A. G. Rosa, P. R. Marques, G. Lourenzen, F. Gusso, and R. M. Lopes. 2005. Efeito da utilização de diferentes protocolos de sincronização de estros sobre a resposta reprodutiva de vacas de corte. *Revista Veterinária em Foco*, v.3, n.1, p.55-66.
- Gottschall, C. S., P. R. Marques, and L. C. Canellas. 2008. Aspectos relacionados à sincronização do estro e ovulação em bovinos de corte. *A Hora Veterinária*, v.164, p.43-48.
- Gregory, R. M., L. C. Melo, A. Beskow, R. C. Mattos, M. I. M. Jobim, and J. W. Gregory. 2009. Dinâmica folicular e uso de hormonioterapias na regulação do ciclo estral na vaca. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, Supl, Belo Horizonte, n.6, p.148-152.
- Hafez, E.S.E. & Hafez, B. 2004. Reprodução Animal. Sétima edição. Barueri/SP, Editora Manole, 513p.
- Kaim, M., A. Bloch, D. Wolfenson, R. Braw-Tal, M. Rosenberg, H. Voet, and Y. Folman. 2003. Effects of GnRH Administered to Cows at the Onset of Estrus on Timing of Ovulation, Endocrine Responses, and Conception. *Journal Dairy Science*, v.86, p.2012- 2021.

- Kruse, S.G., B. Funnell, S. Bird, and G.A. Bridges. 2012. Effects of change of body condition score on embryo quality and yield in postpartum beef cows. Proceedings of the 45th Society for the Study of Reproduction Annual Meetings, State College, PA. August 2012.
- Lucy, M. C. and J. S. Stevenson. 1986. Gonadotropin-releasing hormone at estrus: luteinizing hormone, estradiol, and progesterone during the periestrual and postinsemination periods in dairy cattle. *Biology of Reproduction*, v.35, p.300-311.
- Mann, G. E. Fray, M. D. and Lamming, G. E. 2006. Effects of time of progesterone supplementation on embryo development and interferon- τ production in the cow. *The Veterinary Journal*, v. 171, n. 3, p. 500-503.
- Mann, G. E. and Lamming, G. E. 1999. The influence of progesterone during early pregnancy in cattle. *Reproduction in Domestic Animals*, v. 34, p. 269-274.
- Marques, V. B., C. M. Bertan, A. B. Almeida, F. V. Meirelles, P. C. Papa and M. Binelli. 2007. Interferon-tau e o reconhecimento da gestação em bovinos. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v. 31, p. 479-488.
- Martínez M. F., J. B. Kastelic, G. A. Bó, M. Caccia and R. J. Mapletoft. 2005. Effects of oestradiol and some of its esters on gonadotrophin release and ovarian follicular dynamics in CIDR- treated beef cattle. *Animal Reproduction Science*, v.86, p.37-52.
- Mehni S. B., H. K. Shabankareh, M. Kazemi-Bonchenari, and M. Eghbali. 2011. The comparison of treating Holstein dairy cows with progesterone, CIDR and GnRH after insemination on serum progesterone and pregnancy rates. *Reproduction in Domestic Animals*, doi: 10.1111/j.1439-0531.2011.01811.x.
- Montezuma Jr, P.A. 2001. Desempenho reprodutivo pós-parto de vacas leiteiras mestiças (3/8 Holandês X 5/8 Gir) submetidas a um tratamento hormonal à base de GnRH e prostaglandina F2alfa *Dissertação* (Programa de Pós-Graduação em Zootecnia) – Universidade Federal do Ceará – UFC. Fortaleza - CE, 70 p.
- Moreira, R.J.C., A. V. Pires, D. Z. Maluf, E. H. Madureira, M. Binelli, J. R. Gonçalves, L. G. Lima and I. Susin 2007. Uso do protocolo Crestar[®] em tratamentos utilizando benzoato de estradiol, PGF2afa, PMSG e GnRH para controle do ciclo estral e ovulação em vacas de corte. *Braz. J. vet. Res. anim. Sci.* São Paulo, v. 44, n. 1, p. 56-62.
- Moura, G. S. 2008. Uso de análogos de GnRH após inseminação convencional e com protocolo de iatf em gado mestiço. *Dissertação de Mestrado*. Universidade Federal de Viçosa. *Magister Scientiae*. Viçosa, Minas Gerais.
- Murta, J. E. J., V. J. Andrade, J. C. C. Pereira and V. R. Vale Filho. 2001. Taxas de prenhez em vacas nelore com a utilização do protocolo CRESTAR para a sincronização do cio. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.25, n.1, p. 30-35.
- Pfeifer L. F. M., R. Sartori, I. Pivato, R. Rumpf, G. P. Nogueira, E. Xavier, N. J. Dionello and M. N. Correa. 2009. Effect of circulating progesterone on in vitro developmental competence of bovine oocytes. *Animal Reproduction*, v.6, p.473-478.

Perry, G. A. and Perry, B. L. 2009. GnRH treatment at artificial insemination in beef cattle fails to increase plasma progesterone concentrations or pregnancy rates. *Theriogenology*, v.71, p.775–779.

Perry, G.A., M. F. Smith, A. J. Roberts, M. D. Macneil and T. W. Geary. 2004. Effect of ovulatory follicle size on pregnancy rates and fetal mortality in beef heifer. *Journal Animal Science*, v.82, p.101.

Pinheiro, O. L., C. M. Barros, R. A. Figueredo E. R. Valle, R. O. Encarnação and C. R. Padovani. 1998. Estrus behavior and the estrus-to-ovulation interval in Nelore cattle (*Bos indicus*) with natural estrus or estrus induced with prostaglandin $F_{2\alpha}$ or norgestomet and estradiol valerate. *Theriogenology*, v.49, p. 667-681.

Pursley Jr, Mee Mo and M. C. Wiltbank. 1995. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF $_{2\alpha}$ and GnRH. *Theriogenology*; 44: 915-923.

Rathbone M.J., J. E. Kinder and K. Fike. 2001. Recent advances in bovine reproductive endocrinology and physiology and their impact on drug delivery system design for the control of the estrus cycle in cattle. *Advance Drug Delivery Reviews*, v. 50, p. 277-320.

Sá Filho O.G., W. W. Thatcher and J. L. M. Vasconcelos. 2009. Effect of progesterone and estradiol treatments prior to induction of ovulation on subsequent luteal lifespan in anestrous Nelore cows. *Animal Reproduction Science*, v.112, p.95-106.

Santos, J. E. P. and M. F. Sá Filho. 2006. Nutrição e Reprodução Em Bovinos. 2006, Londrina. *Anais da Biotecnologia Da Reprodução Em Bovinos*. 2º Simpósio Internacional de Reprodução Aplicada p. 30 – 54.

Sartori, R., P. M. Fricke, J. C. P. Ferreira, O. J. Ginther and M. C. Wiltbank. 2001. Follicular deviation and acquisition of ovulatory capacity in bovine follicles. *Biology Reproduction*, v.65, p.1403-1409.

Satterfield, M. C., F. W. Bazer, and T. E. Spencer. 2006. Progesterone regulation of preimplantation conceptus growth and galectin 15 (LGALS15) in the ovine uterus. *Biology Reproduction*, v. 75, p. 289-296.

Siqueira L. C., J. F. C. Oliveira and R. S. Loguércio. 2008. Sistemas de inseminação artificial em dois dias com observação de estro ou em tempo fixo para vacas de corte amamentando. *Ciência Rural*, v.38, n.2, p411-415.

Spencer, T. E., F. W. Bazer. 2004. Uterine and placental factors regulating conceptus growth in domestic animals. *Journal of Animal Science*, v. 82, p. E4-E13.

Spencer T. E., G. A. Johnson, F. W. Bazer, R. C. Burghardt and M. Palmarini M. 2007. Pregnancy recognition and conceptus implantation in domestic ruminants: roles of

progesterone, interferons and endogenous retroviruses. *Reproduction Fertility Development*, v. 19, p.65–78.

Spencer, T. E., G. A. Johnson, F. W. Bazer, R. C. Burghardt. 2004a. Implantation mechanisms: insights from the sheep. *Reproduction*, v. 128, p. 657-668.

Spencer, T. E.; G. A. Johnson, R. C. Burghardt, F. W. Bazer. 2004b. Progesterone and placental hormone actions on the uterus: insights from domestic animals. *Biology of Reproduction*, v. 71, p. 2-10.

Stagg K., M. G. Diskin, J. M. Sreenan and J. F. Roche. 1995. Follicular development in long-term anoestrous suckled beef cows fed two levels of energy postpartum. *Animal Reproduction Science*, v. 38, p. 49 - 61.

Stronge A. J., J. M. Sreenan, M. G. Diskin, J. F. Mee, D. A. Kenny, and D. G. Morris. 2005. Post-insemination milk progesterone concentration and embryo survival in dairy cows. *Theriogenology*, v. 64, p. 1212–1224.

Torres-Júnior J. R. S., H. Ayres, R. L. Araújo, D. M. Magalhães, A. H. Souza and P. S. Baruselli. 2007. Dinâmica folicular de vacas nelore (*Bos indicus*) tratadas com implante auricular de norgestomet associado ao cipionato de estradiol e submetidas a administração de GnRH 48 ou 54 horas após a retirada do implante. *Acta Scientiae Veterinariae*, v.35, p.1111.

Vasconcelos J. L. M. and M. Meneghetti. 2006. Sincronização de ovulação como estratégia para aumentar a eficiência reprodutiva de fêmeas bovinas, em larga escala. In: Simpósio de Produção de Gado de Corte, 5; Simpósio Internacional de Produção de Gado de Corte, 1, 2006, Viçosa, MG. *Anais... Viçosa, MG: UFV*, p.529-541.

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

Wiltbank M. C., A. B. Nascimento, C. A. Piccinato, A. H. Souza, A. Sartori and A. P. Cunha. 2010. Importância da progesterona antes da inseminação artificial na eficiência reprodutiva de vacas leiteiras em lactação. In: XII CURSO NOVOS ENFOQUES NA PRODUÇÃO E REPRODUÇÃO DE BOVINOS, 2008. Uberlândia (MG). *Anais...Uberlândia*,. p. 41-53.

Zoolers W. G., H. A. Garverick and M. F. Smith. 1993. Concentrations of progesterone and oxytocin receptors in endometrium of postpartum cows expected to have a short or normal oestrous cycle. *Reproduction*, v.97, p.329-337.

2 OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito da aplicação de Acetato de Buserelina (GnRH) no momento da IATF e o efeito do fornecimento, via oral, de Acetato de Melengestrol (MGA[®] Premix, Pfizer, Huvepharma Inc., St. Louis, Missouri, EUA) após a IATF, sobre a taxa de concepção em vacas solteiras da raça Nelore.

2.1 Objetivos específicos

2.1.1 Avaliar o efeito da aplicação de 0,004 mg de Acetato de Buserelina (GnRH) no momento da inseminação, com protocolo de IATF, sobre a taxa de concepção em vacas solteiras da raça Nelore.

2.1.2 Avaliar o efeito do fornecimento, via oral, de 2,28 mg de MGA[®] Premix/dia, administrado do dia treze ao dia dezoito após a IATF, sobre a taxa de concepção em vacas solteiras da raça Nelore.

2.1.3 Avaliar o efeito do fornecimento, via oral, de 2,28 mg de MGA[®] Premix/dia, administrado do dia cinco ao dia dez após a IATF, sobre a taxa de concepção em vacas solteiras da raça Nelore.

3 TRABALHO CIENTÍFICO

APLICAÇÃO DE GnRH NO DIA DA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO (IATF) E ADMINISTRAÇÃO DE MGA APÓS IATF EM VACAS NELORE SOLTEIRAS

APPLICATION OF GnRH ON THE DAY OF FIXED TIME ARTIFICIAL INSEMINATION (FTAI) AND ADMINISTRATION OF MGA AFTER FTAI IN UNMATED NELORE

PALAVRAS - CHAVE ADICIONAIS

ambiente uterino, progestágenos, reconhecimento materno, sincronização de ovulação, taxa de concepção.

RESUMO

Objetivou-se com o presente estudo avaliar o efeito da aplicação de Acetato de Buserelina (GnRH) no momento da IATF e o efeito do fornecimento, via oral, de Acetato de Melengestrol (MGA) após a IATF, do dia 13 (D13) ao dia 18 (D18) após a IATF, bem como seu fornecimento do dia 5 (D05) ao dia 10 (D10), sobre a taxa de concepção em vacas solteiras da raça Nelore. No Experimento I, foi avaliado o efeito da aplicação de GnRH no momento da IATF e o efeito do fornecimento de MGA do D13 ao D18 após a IATF, em 215 vacas solteiras da raça Nelore divididas em quatro grupos experimentais, grupo I (Controle), 56 vacas submetidas à IATF sem aplicação de

GnRH. Grupo II (GnRH), 51 vacas submetidas à aplicação de GnRH no ato da IATF. Grupo III (MGA) 57 vacas submetidas à IATF sem aplicação de GnRH e suplementação mineral, com adição de 2,28g de MGA[®] Premix/vaca/dia do D13 após a IATF até o D18 após a IATF. Grupo IV (MGA e GnRH), 51 vacas submetidas à aplicação de GnRH no momento da IATF e suplementação mineral com adição de 2,28g MGA[®] Premix/vaca/dia do D13 após a IATF até o D18 após a IATF. Para avaliar o efeito do fornecimento de MGA do D05 ao D10 após o protocolo, foi desenvolvido o Experimento II em 196 vacas pluríparas solteiras da raça Nelore, divididas em dois grupos experimentais, grupo I (Controle), 104 vacas submetidas a IATF sem fornecimento de MGA, e grupo II (Tratado), 92 vacas receberam suplementação mineral, com adição de 2,28g de MGA[®] Premix/vaca/dia do D05 após a IATF, até o D10 dia após a IATF. Foi realizado diagnóstico de gestação 45 dias após a IATF. Ambos os Experimentos conduzidos em delineamento inteiramente ao acaso, analisados através do procedimento MIXED do SAS. No Experimento I, o grupo controle, obteve menor taxa de concepção (32,1%) quando comparado com os demais grupos avaliados quando foi fornecido MGA após a IATF (45,6%), - GnRH no momento da IATF (50,9%), bem como a associação dos dois tratamentos (50,9%) ($P < 0,05$). No experimento II o grupo controle, obteve maior taxa de concepção (40,38%) quando comparado com o grupo quando foi fornecido MGA pós IATF (18,48%) ($P < 0,05$). Conclui-se com o presente estudo que a aplicação de Acetato de Buserelina (GnRH) no momento da IATF e o fornecimento, via oral, de MGA[®] Premix, administrado do dia treze ao dia dezoito após a IATF elevou a taxa de concepção em vacas Nelore solteiras. No entanto quando administrado do dia cinco ao dia dez, o fornecimento, via oral, de MGA[®] Premix reduziu a taxa de concepção em vacas Nelore Solteiras.

ADDITIONAL KEY WORDS

uterine environment, progestogen, maternal recognition, ovulation synchronization, conception rate.

SUMMARY

The objective of the present study was to assess the effect of applying buserelin acetate (GnRH) at FTAI and the effect of oral administration of Melengestrol acetate (MGA[®] Premix) after FTAI, from day 13 (D13) until day 18 (D18) after FTAI, and applying it

from day 5 (D5) until day 10 (D10) after FTAI, on the conception rate of Nelore heifers. The 215 animals were allotted into four experimental groups, group I (Control) 56 animals were submitted to FTAI without applying GnRH. Group II (GnRH) 51 animals received GnRH at the time of FTAI. Group III (MGA) 57 animals were submitted to FTAI without GnRH and received mineral supplementation, with 2.28g of MGA[®] Premix/cow/day added from D13 after FTAI until the D18 after FTAI. In group IV (MGA and GnRH) 51 animals received GnRH at the time of FTAI and received mineral supplementation, with 2.28g of MGA[®] Premix/cow/day added from the D13 after FTAI until the D18 after FTAI. To assess the effect of supplying MGA[®] Premix from D05 until D10 after the protocol, Experiment II was carried out in 196 unmated multiparous Nelore cows, divided into two experimental groups; group I (Control) 104 animals received mineral supplementation without the addition of melengestrol acetate, depending on their requirements and in group II (Treated) 95 animals received mineral supplementation with the addition of 2.28g of MGA[®] Premix/cow/day from the D05 after FTAI until the D10 after FTAI. Gestation was diagnosed in both experiments 45 days after FTAI. Both the experiments were carried out in a completely randomized design. The conception rates obtained during the experiments were analyzed by the SAS MIXED procedure (SAS, 2000). In experiment I, the control group obtained the lowest conception rate (32.1%) compared with the other groups assessed when MGA[®] Premix was administered after FTAI (45.6%), GnRH at the time of FTAI (50.9%), and the association of both treatments (50.9%). In experiment II the control group obtained the highest conception rate (40.38%) compared to the group which received MGA after FTAI (18.48%). It was concluded from the present study that applying Buserelin acetate (GnRH) at the time of FTAI and oral administration of MGA[®] Premix from day 13 to day 18 after FTAI raised the conception rate in unmated Nelore cows. However, when administered from day five until day ten after FTAI, oral supply of MGA[®] Premix reduced the conception rate in unmated Nelore cows.

INTRODUÇÃO

O ciclo estral da vaca é controlado por complexa interação neuroendócrina, coordenada pelo eixo hipotalâmico hipofisário gonadal e por mecanismos intra-ovários que estabelecem dinâmica folicular que permite o desenvolvimento de um folículo maduro com capacidade ovulatória em momento oportuno e produzindo assim, uma

célula capaz de ser fecundada (Callejas, 2001).

Em bovinos de corte, tão importante quanto a prenhez é a distribuição desta durante toda a estação de monta. A sincronização de estro é a técnica que contribui para otimizar a utilização do tempo, mão-de-obra e recursos financeiros por encurtar o período de parição, proporcionando aumento do peso e a uniformidade dos produtos (Dahlen et al., 2003).

Os protocolos de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) podem induzir a sincronização do estro em fêmeas cíclicas, reduzir o anestro pós-parto e tratar cistos ovarianos. De forma que a hormonioterapia controlada, quando bem aplicada nos rebanhos, poderá contribuir para o aumento da eficiência reprodutiva, considerando sempre que a relação custo/benefício seja favorável ao produtor (Murta et al., 2001).

Bovinos apresentam elevadas taxas de fertilização, no entanto um dos principais fatores envolvidos na perda da prenhez é a deficiência uterina na nutrição no feto e manutenção da gestação, que causa morte embrionária. O estabelecimento e a manutenção da prenhez dependem de uma função uterina adequada. Diferente do que ocorre em primatas e ratos, em bovinos a fixação do concepto e a placentação não ocorrem logo após a fertilização e o concepto passa por um período prolongado de tempo no lúmen uterino, antes de se fixar ao endométrio (Bazer et al., 2009).

Baixas taxas de concepção podem ser causadas por diversos fatores, embora a causa mais comum seja a perda embrionária durante a fase inicial da gestação. No entanto, dois fatores primordiais influenciam a perda embrionária, a qualidade do ovócito ovulado e o suporte uterino ao desenvolvimento embrionário. A qualidade do ovócito pode ser regulada com concentrações circulantes de progesterona (P_4) antes da ovulação (Pfeifer et al., 2009), bem como a função uterina pode ser regulada através das concentrações circulantes de progesterona depois da ovulação (Baruselli et al., 2004).

A suplementação com progesterona aumenta a taxa de crescimento embrionário, bem como sua capacidade em produzir interferon-tau ($INF-\tau$), molécula sinalizadora de sua presença no útero (Satterfield et al., 2006). Beltman et al., (2009) relatam que elevadas concentrações de progesterona circulante logo após concepção induzem ao aumento na taxa de prenhez.

Segundo Ayad et al. (2007), maior concentração de P_4 poderia promover um ambiente uterino mais adequado para o desenvolvimento embrionário, resultando em maior concepto e que produz mais proteínas trofoblásticas, tais como o $INF-\tau$ e as glicoproteínas associadas a prenhez, que diferente do $INF-\tau$ atinge a circulação maternal

e estão sendo usadas para diagnósticos de prenhez.

O GnRH exerce função fisiológica nas fêmeas, induzindo o pico pré-ovulatório de hormônio luteinizante (LH) e conseqüentemente a ovulação e/ou a luteinização do folículo induzindo uma nova onda de crescimento folicular (Gottschall et al., 2008). Segundo Lucy & Stevenson (1986) o GnRH aplicado antes da inseminação pode aumentar fertilidade por sua ação direta ou indireta (por secreção de LH) agindo sobre o folículo ovulatório.

Diante do exposto, objetivou-se com o presente estudo avaliar o efeito da aplicação de Acetato de Buserelina (GnRH) no momento da IATF e o efeito do fornecimento, via oral, de Acetato de Melengestrol (MGA[®] Premix, Pfizer, Huvepharma Inc., St. Louis, Missouri, EUA) após a IATF, administrado do dia treze ao dia dezoito, e do dia cinco ao dia dez após a IATF, sobre a taxa de concepção em vacas solteiras da raça Nelore.

MATERIAL E MÉTODOS

Para avaliar o efeito da aplicação de Acetato de Buserelina (GnRH) no momento da IATF e o efeito do fornecimento de acetato de melengestrol (MGA) do dia 13 (D13) ao dia 18 (D18) após a IATF, foi desenvolvido o Experimento I, que foi realizado em uma propriedade localizada no município de Rio Verde, Goiás, Brasil. Os animais experimentais foram mantidos em piquetes de capim Tanzânia (*Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia) providos de bebedouros para fornecimento *ad libitum* de água e cochos cobertos para fornecimento de sal mineral *ad libitum* aos animais.

Avaliação e preparação dos animais do Experimento I

Foram selecionadas 215 vacas pluríparas solteiras da raça Nelore com escore de condição corporal médio de 03 (escala de 01 a 05, sendo 01 muito magra e 05 muito gorda, segundo Ferguson et al., 1994).

Para sincronização da ovulação as vacas receberam no dia zero (D0) um dispositivo intravaginal contendo 1,9 gramas de progesterona (CIDR[®], Pfizer, São Paulo, Brasil) e 2,0 mg de benzoato de estradiol (Gonadiol[®], Coopers, Luis Guillón, Buenos Aires). Após sete dias (D07) foi realizada aplicação de 0,15 mg de D-Cloprostenol (Croniben[®], Biogénesis Bago, Mercês, Curitiba, Brasil). No dia nove

(D09) foi retirado o dispositivo de P4 e aplicado 0,6 mg de cipionato de estradiol (ECP[®], Pfizer, São Paulo, Brasil) e no dia 11 (D11) foi realizada a inseminação artificial em tempo fixo, e as fêmeas tratadas com GnRH, foram submetidas à aplicação de 0,004 mg de Acetato de Buserelina (GnRH - SincroForte[®], Ourofino, Cravinhos, Brasil). Para realização dos manejos os animais foram mantidos em tronco de contenção. As inseminações foram realizadas com sêmen de um touro da raça Aberdeen Angus, de mesma partida, por quatro inseminadores capacitados.

Grupos experimentais do Experimento I

Os animais foram divididos em quatro grupos experimentais, sendo que no grupo I (Controle) 56 animais receberam suplementação mineral, sem adição de acetato de melengestrol conforme suas exigências, e foram submetidos à IATF sem aplicação de GnRH. No grupo II (GnRH) 51 animais receberam suplementação mineral, sem adição de acetato de melengestrol conforme suas exigências, e foram submetidos à aplicação de GnRH no ato da IATF. No grupo III (MGA) 57 animais foram submetidos à IATF sem aplicação de GnRH e receberam suplementação mineral, com adição de 2,28g de acetato de melengestrol (MGA[®] Premix, Pfizer, Huvepharma Inc., St. Louis, Missouri, EUA)/vaca/dia a partir do décimo terceiro dia (D13) dia após a IATF, com continuidade até o décimo oitavo dia (D18) dia após a IATF. No grupo IV (MGA e GnRH) 51 animais foram submetidos à aplicação de GnRH no momento da IATF e receberam suplementação mineral com adição de 2,28g de acetato de melengestrol (MGA[®] Premix, Pfizer, Huvepharma Inc., St. Louis, Missouri, EUA)/vaca/dia a partir do décimo terceiro dia (D13) dia após a IATF, com continuidade até o décimo oitavo dia (D18) dia após a IATF.

Para controle do consumo do MGA[®] Premix, às oito horas do D13, foi misturado em quatro kg de sal mineral 2,28g de MGA[®] Premix por animal, quantidades essas indicadas pelo fabricante, fornecido em cocho coberto coletivo, em virtude de inviabilizar o manejo para fornecimento da suplementação em cochos individuais. Ao meio dia o cocho era observado, se não houvesse mais suplemento mineral, o mesmo era repostado, porém sem MGA[®] Premix, apenas para que não faltasse suplementação mineral aos animais, se ainda tivesse sal adicionado de MGA[®] Premix, o mesmo permanecia até ser completamente consumido e só depois era fornecido sal mineral sem adição de MGA[®] Premix. No dia seguinte às oito horas, se houvesse sobras de

suplemento mineral puro no cocho, estas eram retiradas antes do novo fornecimento de suplemento mineral adicionado de MGA[®] Premix, tal procedimento seguiu até o D18 após a IATF.

Para avaliar o efeito do fornecimento de acetato de melengestrol (MGA[®] Premix, Pfizer, Huvepharma Inc., St. Louis, Missouri, EUA) do dia cinco (D05) ao dia dez (D10), após o protocolo, foi desenvolvido o Experimento II, que foi realizado em uma propriedade localizada no município de Itarumã, Goiás, Brasil. Os animais experimentais foram mantidos em piquetes de capim *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, abastecidos por bebedouros de água *ad libitum* e cochos cobertos para fornecimento de sal mineral.

Avaliação e preparação dos animais do Experimento II

Foram selecionadas 196 vacas pluríparas solteiras da raça Nelore com escore de condição corporal médio de 03 (escala de 01 a 05, sendo 01 muito magra e 05 muito gorda, segundo Ferguson et al., 1994).

Para sincronização da ovulação as vacas receberam no dia zero (D0) um dispositivo intravaginal bovino contendo 1,0 g de progesterona (DIB[®], MSD saúde animal, Cotia – SP) e 2,0 mg de benzoato de estradiol (Gonadiol[®], Coopers, Luis Guillón, Buenos Aires). Após sete dias (D07) foi realizada aplicação de 0,265 mg de Cloprostenol sódico (Ciosin[®], Coopers, Brasil). No dia oito (D08) foi retirado o dispositivo de P4 e aplicado 300 UI de eCG (Novormon[®], Syntex S.A. – Argentina), 1mg de cipionato de estradiol (Cipionato HC[®], Hertape Calier, MG) e no dia 10 (D10) foi realizada a inseminação artificial em tempo fixo. As inseminações foram realizadas com sêmen de um touro da raça Nelore, de mesma partida, por um inseminador capacitado.

Grupos experimentais do Experimento II

Os animais foram divididos em dois grupos experimentais, sendo que no grupo I (Controle) 104 animais receberam suplementação mineral sem adição de acetato de melengestrol, conforme suas exigências e no grupo II (Tratado), 92 animais receberam suplementação mineral, com adição de 2,28g de acetato de melengestrol/vaca/dia a

partir do quinto dia (D05) dia após a IATF, com continuidade até o décimo dia (D10) dia após a IATF.

O controle do consumo do MGA[®] Premix, fornecido do D5 ao D10 após IATF, foi realizado conforme descrito no Experimento I.

Diagnóstico de gestação

O diagnóstico de gestação de ambos os experimentos foi realizado aos 45 dias após a IATF por meio de exame de ultrassonografia utilizando o equipamento Ultrasson Veterinária KX 2600. Foi considerada prenhe a fêmea que apresentou vesícula embrionária com líquido, não ecogênica e presença de um embrião com batimentos cardíacos (Neves et al., 2008).

Delineamento estatístico

Ambos os Experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente ao acaso. As taxas de concepção obtidas durante os experimentos foram analisadas através do procedimento MIXED do SAS (SAS, 2000).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao avaliar o efeito do GnRH no momento da IA e o fornecimento de MGA do 13º ao 18º dia após IATF em vacas solteiras da raça Nelore, foi observado que quando as vacas foram submetidas apenas a IATF sem nenhum tratamento adicional, obteve menor taxa de concepção (32,1%) quando comparado com os demais grupos avaliados quando foi fornecido MGA pós IATF (45,6%), GnRH no momento da IATF (50,9%), bem com a combinação dos dois tratamentos (50,9%), como pode ser observado na **Tabela I** ($P < 0,05$).

Com a utilização de GnRH no momento da IATF, observa-se aumento na taxa de concepção, de 32,1% (IATF) para 50,9% (GnRH), resultado semelhante ao encontrado por Lopez-Gatius et al. (2006), que trabalhando com vacas leiteiras, observaram que os animais que não receberam GnRH tiveram taxa de concepção de 20,6%, enquanto os animais que receberam GnRH do dia da IATF tiveram taxa de concepção de 30,8%. Os resultados obtidos por Moura (2008), demonstraram que os

animais que não receberam GnRH no dia da IATF apresentaram uma taxa de concepção de 57,14%, enquanto as vacas tratadas com GnRH no dia da IATF a taxa de concepção foi de 62,96%.

Gottschall et al. (2012) avaliando a utilização de protocolo de sincronização da ovulação, com aplicação do GnRH como indutor da ovulação e remoção de bezerros, sobre as taxas de concepção de vacas de corte lactantes, não observou diferença significativa na taxa de concepção dos animais que receberam GnRH (53,8%) e os que não receberam GnRH (53,2%) no dia da IATF. Tais resultados divergem dos encontrados no presente estudo, em que foi observado efeito positivo na taxa de concepção quando as vacas Nelore solteiras foram submetidas à aplicação de GnRH no momento da IATF.

Tabela I – Taxa de concepção de vacas Nelore solteiras submetidas à IATF sem suplementação de progesterona (Controle), submetidas à aplicação de GnRH no momento da IATF (GnRH), suplementadas com Acetato de Melengestrol do 13° ao 18° dia após IATF (MGA), bem como submetidas à aplicação de GnRH no momento da IATF e suplementadas com Acetato de Melengestrol do 13° ao 18° dia após IATF (MGA e GnRH).

Grupos	Quantidade de animais	Taxa de Concepção (%)
Controle	56	32,1 b
GnRH	51	50,9 a
MGA	57	45,6 a
MGA e GnRH	51	50,9 a

*Letras diferentes na coluna diferem entre si, a 5% de probabilidade ($P < 0,05$).

Perry & Perry (2009) avaliando a aplicação de GnRH no momento da IA sobre a taxa de concepção em bovinos de corte que apresentaram estro após protocolo de sincronização de estro (GnRH, CIDR[®] e PGF2 α), não observou diferença nas taxas de concepção entre os grupos avaliados. Os autores encontraram 68% de concepção no grupo tratado com GnRH no momento da IA e 66% para o grupo controle. Tais autores relatam que a aplicação de GnRH ao final do estro coincidindo com a inseminação promove decréscimo das concentrações de LH. Este fato reduz as concentrações de progesterona sérica e dos receptores de LH nas células luteais diminuindo a capacidade

de reconhecimento materno e manutenção embrionária

Siqueira et al. (2008) avaliando se a IATF, empregando como indutor da ovulação o BE, proporciona taxas de concepção semelhantes a associação de IA convencional e IATF com GnRH, em vacas de corte no pós-parto relatam que a observação de estro por dois dias após a retirada do implante e $PGF2\alpha$ associada à IATF, utilizando GnRH para induzir a ovulação nas vacas que não demonstraram cio, proporcionou taxas de concepção superiores (54,7%) ao uso exclusivo de IATF com Benzoato de Estradiol (33,3%). Tais autores relatam que a assincronia do crescimento folicular e o tamanho do folículo dominante no momento do pico de LH são fatores que irão determinar a variação da resposta reprodutiva de protocolos, resultados semelhantes aos do presente estudo.

Colazo et al. (2008) realizaram estudo com intuito de avaliar a resposta do GnRH na indução da liberação de LH sob altos níveis de P_4 , tanto em novilhas, quanto em vacas e observaram que níveis elevados de P_4 plasmática reduzem a liberação de LH pela hipófise após a administração de GnRH tanto em novilhas quanto em vacas, de forma linear. Os efeitos da administração do GnRH no momento da inseminação estão ligados a indução uniforme de uma onda pré-ovulatória de LH e a antecipação da ovulação em vacas que teriam a ovulação atrasada (Sá Filho et al., 2011)

Corrêa et al. (2009) demonstraram que o GnRH otimiza o processo de luteinização e aumenta a concentração de P_4 circulante favorecendo a manutenção da concepção. Observa-se que a taxa de concepção dos grupos GnRH e GnRH e MGA foram semelhantes diferindo apenas do grupo controle quando utilizou apenas a IATF, não se mostrando economicamente viável a utilização do GnRH em associação com MGA para aumento na taxa de concepção em vacas Nelore solteiras.

Observa-se com o presente estudo que a suplementação com progesterona do 13º ao 18º dia após a IATF eleva a taxa de concepção em vacas Nelore solteiras, como relatado na **Tabela I** em que o grupo MGA apresenta taxa de concepção superior (45,6%) ao grupo controle (32,1%) sem suplementação de P_4 pós IATF. Tais resultados corroboram com Ayad et al. (2007), maior concentração de P_4 poderia promover um ambiente uterino mais adequado para o desenvolvimento embrionário, resultando em maior conceito e que produz mais proteínas trofoblásticas, tais como o $INF-\tau$ e as glicoproteínas associadas a concepção, que diferente do $INF-\tau$ atinge a circulação maternal e estão sendo usadas para diagnósticos de concepção.

A elevação na taxa de concepção nos grupos tratados no Experimento I, pode ser

explicado pelos achados de Stronge et al. (2005), que relataram que altas concentrações de P₄ circulante logo após a concepção também estão associadas ao alongamento do conceito juntamente ao aumento da produção de IFN- τ e, conseqüentemente, maiores taxas de concepção em vacas.

Ao avaliar o efeito do fornecimento de MGA do 5º ao 10º dia após a IATF em vacas solteiras da raça Nelore, foi observado que quando as vacas foram submetidas apenas a IATF sem nenhum tratamento adicional, obteve maior taxa de concepção (40,38%) quando comparado com o grupo quando foi fornecido MGA pós IATF (18,48%) (P<0,05). Conforme apresentado na **Tabela II**.

Tabela II – Taxa de concepção de vacas Nelore solteiras submetidas à IATF sem suplementação de progesterona (Controle) e suplementadas com Acetato de Melengestrol do dia 5 ao dia 10 após a IATF (Tratado).

Grupos	Quantidade de animais	Taxa de concepção (%)
Controle	104	40,38 a
Tratado	92	18,48 b

*Letras diferentes na coluna diferem entre si, a 5% de probabilidade (P<0,05).

Observou-se no presente estudo que o fornecimento de MGA do 13º ao 18º dia após a IATF elevou a taxa de concepção (45,6%) quando comparado com a IATF no experimento 1 (32,1%). No entanto, no Experimento II o grupo controle apresentou melhor taxa de concepção (40,38%) quando comparado com o grupo tratado com MGA do 5º ao 10º dia após a IATF (18,48%).

Mann et al. (2006), relatam que a suplementação de P₄ durante o dia cinco (D5) ao dia nove (D9) após a concepção, quadruplica o comprimento do trofoblasto e aumenta em seis vezes a concentração uterina de IFN- τ em vacas holandesas não lactantes quando comparada com a suplementação de P₄ entre os dias 12 e 16. Entretanto, tal correlação não é observada em vacas Nelore solteiras, já que o presente estudo demonstra melhoria na taxa de concepção, se comparado com o grupo controle, apenas quando o fornecimento de P₄ é realizado tardio, do dia 13 ao dia 18 após a IATF.

Vacas suplementadas com P₄ nos dias 3 a 6,5 após a inseminação tiveram correlação positiva com a taxa de sobrevivência embrionária (Beltman et al., 2009). Da mesma forma, em estudos anteriores, Mann & Lamming (1999), verificaram que o

aumento na taxa de concepção somente ocorre quando se eleva a P_4 na primeira semana após a inseminação, não tendo efeito quando a P_4 exógena é suplementada na segunda ou terceira semana após a inseminação. Os resultados encontrados por tais autores divergem com o encontrado no presente trabalho, que relata melhoria na taxa de concepção quando a P_4 é suplementada após a segunda semana da IATF.

Larson et al. (2007) suplementaram vacas leiteiras, com P_4 do dia 3,5 ao dia 10 pós IA e verificou melhoria na taxa de concepção, elevando de 33% (controle), para 51% (tratado com P_4), tais resultados divergem dos encontrados no presente estudo, quando a suplementação de P_4 foi em período semelhante ao avaliado por Larson et al. (2007), uma vez que no presente estudo não foi observada melhoria na taxa de concepção das vacas quando suplementado P_4 precocemente.

Carter et al. (2008) avaliando o efeito do incremento de P_4 a partir do 3º dia do ciclo estral em vacas, observaram que a utilização de dispositivo intravaginal de P_4 no dia 3 do ciclo estral até os dias 5, 7, 13 e 16 quando foram realizados os abates, eleva as concentrações de P_4 sérica, influencia no desenvolvimento embrionário nos dias 5 ou 7 e aumenta o tamanho do embrião nos dias 13 e 16.

Com objetivo de descrever as mudanças que ocorrem no endométrio durante o ciclo estral bovino, determinar o quanto a P_4 elevada afeta a expressão gênica no endométrio de novilhas, determinar se a expressão dos genes é alterada em novilhas com baixa P_4 e as consequências da baixa concentração de P_4 para o desenvolvimento do concepto após a transferência de embrião, Forde et al. (2011), implantaram novilhas de corte a partir do dia 3 do ciclo estral e observaram mudança temporal no endométrio bovino, sensível às concentrações de P_4 circulante nos primeiros dias após o estro, e que sob condições de baixa P_4 circulante, acarreta em ambiente uterino com capacidade reduzida para induzir ao alongamento do concepto.

Observa-se que em diversos estudos que a suplementação com P_4 após a IATF quando realizada mais precocemente eleva a taxa de concepção em vacas, contradizendo aos resultados encontrados no presente estudo, acredita-se que essa divergência de resultados pode ser pelo modo de ação do MGA[®] Premix, podendo este promover um ambiente uterino inadequado, talvez por variações de pH uterino, ou algo que possa inviabilizar o bom desenvolvimento e crescimento embrionário uma vez que com a utilização deste progestágeno precocemente, na primeira semana após IATF em vacas Nelore solteiras reduziu as taxas de concepção.

CONCLUSÕES

Conclui-se com o presente estudo que a aplicação de Acetato de Buserelina (GnRH) no momento da IATF e o fornecimento, via oral, de MGA[®] Premix, administrado do dia treze ao dia dezoito após a IATF elevou a taxa de concepção em vacas Nelore solteiras. No entanto quando administrado do dia cinco ao dia dez após IATF, o fornecimento, via oral, de MGA[®] Premix reduziu a taxa de concepção de vacas Nelore solteiras.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ayad, A., N. M. Sousa, J. Sulon, J. L. Hornick, J. Watts, F. Lopez-Gatius, M. Iguer-Ouada and J. F. Beckers. 2007. Influence of progesterone concentrations on secretory functions of trophoblast and pituitary during the first trimester of pregnancy in dairy cattle. *Theriogenology*, v. 67, p. 1503-1511.
- Baruselli P., E. L. Reis, M. O. Marques, L. F. Nasser and G. A. Bó 2004. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrous beef cattle in tropical climates. *Animal Reproduction Science*, v.82/83, p.479-486
- Bazer, T. W., T. E. Spencer, G. A. Johnson, R. C. Burghardt, and G. Wu. 2009. Comparative aspects of implantation. *Reproduction* 138:195-209.
- Beltman, M. E., P. Lonergan, J. F. Diskin, J. F. Roche and M. A. Crowe. 2009. Effect of progesterone supplementation in the first week post conception on embryo survival in beef heifers. *Theriogenology*, v. 71, p. 1173-1179.
- Callejas S. S. 2001. Fisiología del ciclo estral bovino. In: Palma GA. Biotecnología de la reproducción. Mar del Plata: *Reprobiotec*, p.37-49.
- Carter F., N. Forde, P. Duffy, M. Wade, T. Fair, M. A. Crowe, A. C. O. Evans, D. A. Kenny, J. F. Roche and P. Lonergan. 2008. Effect of increasing progesterone concentration from Day 3 of pregnancy on subsequent embryo survival and development in beef heifers. *Reproduction, Fertility and Development*, v. 20, p. 368–375
- Colazo M.G., J. P. Kastelic, H. Davis, M. D. Rutledge, M. F. Martinez, J. A. Small and R. J. Mapletoft. 2008. Effects of plasma progesterone concentrations on LH release and ovulation in beef cattle given GnRH. *Dom Animal Endocrine*, v. 34, p.109-117.
- Corrêa R. F., M. A. C. Bergamaschi, and R. Machado. 2009. Suporte hormonal com GnRH após a ovulação em vacas de corte. In: I JORNADA CIENTÍFICA – EMBRAPA DE SÃO CARLOS, 2009. São Carlos (SP). *Anais...* São Carlos. p. 37.

- Dahlen, C. R., G. C. Lamb, C. M. Zehnder, L. R. Miller and A. DiCostanzo. 2003. Fixed-time insemination in peripueral, lightweight replacement beef heifers after estrus synchronization with PGF₂alpha and GnRH. *Theriogenology*, v.59, p.1827-1837.
- Ferguson N., D. T. Galligan and N. Thomsen. Principal descriptors of body condition score in Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 77, 2695-2703. 1994.
- Forde N., M.E. Beltman, G.B. Duffy, P. Duffy, J.P. Mehta, P. O'Gaora, J.F. Roche, P. Lonergan, and M.A. Crowe. 2011. Changes in the Endometrial Transcriptome During the Bovine Estrous Cycle: Effect of Low Circulating Progesterone and Consequences for Conceptus Elongation. *Biology of Reproduction*, v. 84, p. 266–278
- Gottschall, C. S., M. R. De Almeida, F. T. Jéssica Magero, H. R. Bittencourt, R. C. Mattos, and R. M. Gregory. 2012. Avaliação do desempenho reprodutivo de vacas de corte lactantes submetidas à IATF a partir da aplicação do GnRH, da manifestação estral, da reutilização de dispositivos intravaginais e da condição corporal. *Acta Scientiae Veterinariae*. 40(1): 1012.
- Gottschall, C. S., P. R. Marques, and L. C. Canellas. 2008. Aspectos relacionados à sincronização do estro e ovulação em bovinos de corte. *A Hora Veterinária*, v.164, p.43-48
- Larson S. F., W.R. Butler, W. Bruce Currie. 2007. Pregnancy rates in lactating dairy cattle following supplementation of progesterone after artificial insemination. *Animal Reproduction Science*, v. 102, p. 172–179
- Lucy, M. C. and J. S. Stevenson. 1986. Gonadotropin-releasing hormone at estrus: luteinizing hormone, estradiol, progesterone during the periestrus and postinsemination periods in dairy cattle. *Biology of Reproduction*, v.35, p.300-311
- Mann, G. E. and Lamming, G. E. 1999. The influence of progesterone during early pregnancy in cattle. *Reproduction in Domestic Animals*, v. 34, p. 269-274.
- Mann, G. E. Fray, M. D. and Lamming, G. E. 2006. Effects of time of progesterone supplementation on embryo development and interferon- τ production in the cow. *The Veterinary Journal*, v. 171, n. 3, p. 500-503.
- Moura, G. S. 2008. Uso de análogos de GnRH após inseminação convencional e com protocolo de iatf em gado mestiço. *Dissertação de Mestrado*. Universidade Federal de Viçosa. *Magister Scientiae*. Viçosa, Minas Gerais.
- Murta, J. E. J., V. J. Andrade, J. C. C. Pereira and V. R. Vale Filho. 2001. Taxas de prenhez em vacas nelore com a utilização do protocolo CRESTAR para a sincronização do cio. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.25, n.1, p. 30-35.
- Neves, J. P., J. F. C. De Oliveira, V. J. F. Freitas, A. A. Simpício, D. I. A. Teixeira, J. L. Almeida. 2008. Diagnóstico de prenhez em ruminantes. In: Gonçalves P. B. D., J. R. De Figueiredo, V. J. F. Freitas. *Biotécnicas Aplicadas a Reprodução Animal*. Segunda Edição. Editora Roca LTDA.
- Perry, G. A. and Perry, B. L. 2009. GnRH treatment at artificial insemination in beef cattle fails to increase plasma progesterone concentrations or pregnancy rates. *Theriogenology*. v.71, p.775–779.

Pfeifer L. F. M., R. Sartori, I. Pivato, R. Rumpf, G. P. Nogueira, E. Xavier, N. J. Dionello and M. N. Correa. 2009. Effect of circulating progesterone on in vitro developmental competence of bovine oocytes. *Animal Reproduction*, v.6, p.473-478.

SAS. 2000. Statistical Analysis System, 6.03 Cary: NC, USA, SAS Institute INC, p.1028.

Satterfield, M. C., F. W. Bazer, and T. E. Spencer. 2006. Progesterone regulation of preimplantation conceptus growth and galectin 15 (LGALS15) in the ovine uterus. *Biology of Reproduction*. 75:289-296.

Siqueira L. C., J. F. C. Oliveira and R. S. Loguercio. 2008. Sistemas de inseminação artificial em dois dias com observação de estro ou em tempo fixo para vacas de corte amamentando. *Ciência Rural*, v.38, n.2, p411-415.

Stronge A. J., J. M. Sreenan, M. G. Diskin, J. F. Mee, D. A. Kenny, and D. G. Morris. 2005. Post-insemination milk progesterone concentration and embryo survival in dairy cows. *Theriogenology*, v. 64, p. 1212–1224.