

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

ALINE SILVA FUJITA

AVALIAÇÃO COMPARATIVA DO ÍNDICE DE GESTAÇÃO EM NOVILHAS
DA RAÇA NELORE SINCRONIZADAS PARA IATF
E INSEMINADAS COM SÊMEN RESFRIADO E CONGELADO

CURITIBA

2011

ALINE SILVA FUJITA

AVALIAÇÃO COMPARATIVA DO ÍNDICE DE GESTAÇÃO EM NOVILHAS
DA RAÇA NELORE SINCRONIZADAS PARA IATF
E INSEMINADAS COM SÊMEN RESFRIADO E CONGELADO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Ciências Veterinárias, Linha de Pesquisa Reprodução e Melhoramento Genético animal, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciências Veterinárias.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Rossi Junior

Co-orientador: Prof. Dr. Romildo Romualdo Weiss

CURITIBA

2011

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS



PARECER

A Comissão Examinadora da Defesa da Dissertação intitulada **“AVALIAÇÃO COMPARATIVA DO ÍNDICE DE GESTAÇÃO EM NOVILHAS DA RAÇA NELORE SINCRONIZADAS PARA IATF E INSEMINADAS COM SÊMEN RESFRIADO E CONGELADO”** apresentada pela Mestranda **ALINE SILVA FUJITA** declara ante os méritos demonstrados pela Candidata, e de acordo com o Art. 79 da Resolução nº 65/09–CEPE/UFPR, que considerou a candidata ASTA para receber o Título de Mestre em Ciências Veterinárias, na Área de Concentração em Ciências Veterinárias.

Curitiba, 7 de março de 2012


Professor Dr. Paulo Rossi Junior
Presidente/Orientador


Professor Dr. Romildo Romualdo Weiss
Membro


Professor Dr. Luiz Ernandes Kozicki
Membro

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Angela e Edgar, pelos bons exemplos, pela dedicação, pelas oportunidades a mim oferecidas, pelo incentivo constante e amor. Aos meus irmãos Heitor e Clarice também pelo apoio e incentivo.

Aos meus amigos mais próximos, André Reis, Renata, Dyego, Paula, Rafaela, Letícia, Alexandre, Aline, Marc, Leonardo, André Casagrande, Leandro, Larissa, Ricardo e Camila, que estiveram presentes em minha vida desde a graduação e durante o desenvolvimento do mestrado. Suas forças foram indispensáveis.

Ao professor Romildo Weiss por toda a orientação, confiança, parceria e amizade, e principalmente pelo incentivo para que nos tornemos sempre pessoas melhores e mais trabalhadoras, sem esquecer da família e amigos.

Ao professor Paulo Rossi Junior, que confiou e aceitou a minha orientação, e sempre contribuiu para melhorias no trabalho realizado. Aos professores Ivan Barros e Luiz Kozicki, pela participação nas bancas de qualificação e de defesa, com colaboração para publicações de melhor qualidade.

Ao amigo Félix Greselle, pois sem sua ajuda e amizade este projeto não seria realizado. Agradeço também a hospitalidade e carinho de sua família e o trabalho dos funcionários das fazendas.

Às amigas e colegas de mestrado Luciana, Melina e Renata, que sempre ajudaram com dicas e discussões, e também às graduandas da equipe do professor Romildo: Ana Paula, Larissa, Ana Cláudia, pelas risadas e companheirismo.

À amiga Maristela Toledo, que auxiliou na aquisição de materiais, análises sanguíneas e com uma amizade incondicional durante todo o período de mestrado.

À Universidade Federal do Paraná, o Curso de Pós Graduação em Ciências Veterinárias e ao Reuni.

A todos que contribuíram em mais esta etapa de minha vida.

Aos amigos e amores, novos e antigos... com vocês tudo vale a pena, e os objetivos são mais facilmente alcançados.

Obrigada.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| FIGURA 1 - PROTOCOLO DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO UTILIZADO..... | 39 |
|--|----|

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| TABELA 1 - PARÂMETROS E VALORES AVALIADOS NO TOURO DOADOR DE SÊMEN..... | 41 |
| TABELA 2 - VALORES DE MOTILIDADE PROGRESSIVA E VIGOR APÓS REAQUECIMENTO DO SÊMEN..... | 41 |
| TABELA 3 - DIFERENÇAS ENTRE TAXAS DE GESTAÇÃO NA INSEMINAÇÃO COM SÊMEN RESFRIADO E SÊMEN CONGELADO E ENTRE DIÂMETROS DE FOLÍCULOS DOMINANTES PRÉ-OVULATÓRIOS PRESENTES NOS DOIS GRUPOS DE NOVILHAS NELORE..... | 43 |
| TABELA 4 - DIÂMETROS DOS FOLÍCULOS DOMINANTES COMPARATIVOS ENTRE AS NOVILHAS QUE APRESENTARAM PREENHEZ E AS NÃO-PREENHES, DE MODO GERAL, E SEPARADAS ENTRE AS OVULADAS E AS NÃO OVULADAS AO MOMENTO DA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL..... | 43 |

LISTA DE ABREVIATURAS

BE - Benzoato de estradiol

CL - Corpo lúteo

D - Dia

E2 - Estradiol

ECC - Escore de condição corporal

eCG - Gonadotrofina coriônica equina

FD - Folículo dominante

FSH - Hormônio folículo-estimulante

GnRH - Hormônio liberador de gonadotrofinas

IA - Inseminação artificial

IATF - Inseminação artificial em tempo fixo

LH - Hormônio luteinizante

mg- Miligramas

MHz - Megahertz

mL - Mililitros

ng - Nanogramas

°C - Grau Celsius

P4 - Progesterona

PGF2 α - Prostaglandina

UI - Unidades internacionais

VE - Valerato de estradiol

μ g - Nanogramas

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| 1 INTRODUÇÃO..... | 9 |
| 2 OBJETIVOS..... | 11 |
| 2.1 OBJETIVO GERAL | 11 |
| 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS..... | 11 |
| | |
| CAPÍTULO I: INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO EM NOVILHAS DE CORTE: UMA REVISÃO..... | 12 |
| RESUMO | 12 |
| ABSTRACT..... | 13 |
| 1 INTRODUÇÃO..... | 14 |
| 2 REDUÇÃO DA IDADE AO PRIMEIRO ACASALAMENTO..... | 17 |
| 3 HORMONIOTERAPIA EM NOVILHAS NELORE..... | 21 |
| 3.1 Progestágenos e estradiol..... | 22 |
| 3.2 Hormônio Liberador de Gonadotrofinas (GnRH) e seus análogos..... | 24 |
| 3.3 Gonadotrofina Coriônica Equina (eCG)..... | 25 |
| 4 CONCLUSÃO..... | 27 |
| REFERÊNCIAS..... | 28 |
| | |
| CAPÍTULO II: ÍNDICE DE GESTAÇÃO EM NOVILHAS SINCRONIZADAS PARA IATF E INSEMINADAS COM SÊMEN RESFRIADO E CONGELADO..... | 31 |
| RESUMO..... | 31 |
| ABSTRACT..... | 33 |
| 1 INTRODUÇÃO..... | 34 |
| 2 MATERIAL E MÉTODOS..... | 37 |
| 2.1 Localização e seleção dos animais utilizados..... | 37 |
| 2.2 Avaliação e processamento do sêmen..... | 38 |
| 2.3 Protocolo para as novilhas..... | 39 |

| | |
|--|-----------|
| 2.4 Análises ultrassonográficas e diagnóstico gestacional..... | 39 |
| 2.5 Análises sanguíneas..... | 40 |
| 2.6 Análises estatísticas..... | 40 |
| 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 40 |
| 3.1 Avaliação seminal..... | 40 |
| 3.2 Comparação entre grupos de novilhas..... | 41 |
| 3.3 Análises de cortisol plasmático..... | 44 |
| 4 CONCLUSÃO..... | 47 |
| REFERÊNCIAS..... | 48 |

RESUMO

O estudo de protocolos de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) específicos para novilhas é importante para que elas consigam atingir a puberdade o mais precoce possível e viabilizar a diminuição do tempo entre as gerações, com melhor retorno de investimentos. O presente experimento teve como objetivos: comparar as taxas de prenhez após a inseminação artificial em tempo fixo com sêmen resfriado a 5°C e com sêmen congelado a -196°C, avaliar a relação entre taxas de prenhez e o diâmetro do folículo pré-ovulatório em novilhas da raça Nelore, e verificar a eficácia do acetato de deslorelina como indutor de ovulação. As novilhas foram divididas em dois grupos, G1 (n=47) e G2 (n=49) inseminadas com sêmen resfriado e congelado, respectivamente. O protocolo utilizado foi: Dia (D)0 = BE + implante auricular de P4; D8 = retirada do implante + PGF2 α + eCG; D10 = acetato de deslorelina; D11 = IATF. Foram realizadas análises de níveis de cortisol sérico através do Teste de ELISA por competição, para correlação com a prenhez. O sêmen foi coletado de um único touro da raça Nelore por meio de eletroejaculação, dividido em duas frações e acrescentados os diluentes à base de gema de ovo, com crioprotetor (para G1), e sem crioprotetor (para G2) e envasado em palhetas de 0,5 mL, com 30 milhões de espermatozoides viáveis por palheta. Não houve diferença ($p \geq 0,05$) entre as gestações dos grupos G1 (48,94%) e G2 (46,94%). Houve diferença estatística ($p < 0,05$) entre os diâmetros de folículos pré-ovulatórios dos grupos G1 e G2, mas não houve diferença para a relação entre o diâmetro de folículo pré-ovulatório e a porcentagem de gestações entre G1 e G2. Os níveis altos de cortisol sérico encontrados não tiveram relação com o número de prenhezes das novilhas. O uso do acetato de deslorelina se mostrou eficaz como indutor de ovulação em novilhas Nelore. Concluiu-se que não houve diferença na taxa de prenhez entre os grupos de animais inseminados com sêmen resfriado e sêmen congelado.

Palavras chave acetato de deslorelina; novilhas; folículo; eletroejaculação; sêmen.

ABSTRACT

The study of fixed time artificial insemination (FTAI) protocols specific to heifers is important to anticipate puberty and reduce the time between generations, with better return of profit. The present study aimed to compare the pregnancy rates after fixed-time artificial insemination using chilled semen at 5°C and deep-frozen semen at -196°C, evaluate the connection between the pregnancy rates and the diameters of pre-ovulatory follicles in Nelore heifers, and verify the efficiency of the deslorelin acetate as an ovulation inductor. Two groups of heifers were made, G1 (n=47) and G2 (n=49), to be inseminated with chilled semen and deep-frozen semen, respectively. The hormonal protocol consisted on: Day (D)0 = EB + ear P4 implant; D8 = withdraw of implant + PGF2 α + eCG; D10 = deslorelin acetate; D11 = FTAI. To evaluate the pregnancy correspondance with levels of blood cortisol, the competitive ELISA test was used. The semen was collected from a single Nelore bull, through eletroejaculation process, divided in two parts and diluted with egg yolk based diluent, with crioprotectant (for G1) and without crioprotectant (for G2) and stored in straws of 0,5 mL and 30 million viable spermatozoa each. There was no statistical significance ($P \geq 0,05$) between the pregnancies of both G1 (48,94%) and G2 (46,94%) semen. There was statistical significance ($P < 0,05$) between the diameters of pre-ovulatory follicles of the groups G1 and G2, but there was no statistical significance for the relation amongst the diameter of pre-ovulatory follicles and the pregnancy percentages between the groups G1 and G2. The high levels of serum cortisol had no relation with the number of pregnant heifers. The use of deslorelin acetate was effective as an ovulation inductor for Nelore heifers. There was no difference in the pregnancy rates between the groups inseminated with chilled or deep-frozen semen.

Key words deslorelin acetate; heifers; follicle; eletroejaculation; semen.

1 INTRODUÇÃO

O Brasil atualmente é o detentor do maior rebanho comercial bovino do mundo. Para que chegasse a tal qualificação, o uso de biotécnicas reprodutivas foi de fundamental importância, assim como o implemento de maior organização dentro o setor. O uso da inseminação artificial (IA) foi uma das biotécnicas de maior importância para a evolução desta disseminação genética e tecnológica entre os produtores, pois gerou eficiência nos acasalamentos, viabilizou a utilização em massa de indivíduos melhoradores e possibilitou maior rendimento econômico para a cadeia.

Ainda que a IA seja amplamente difundida pelo mundo, há limitações ao uso da técnica, que no Brasil é utilizada em apenas 7% das matrizes bovinas. Muitos dos problemas vêm da puberdade tardia, incorreta ou ausente detecção do estro e período prolongado de anestro pós parto (Sá Filho et al., 2008). Com isso, vários protocolos de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) vêm sendo desenvolvidos para que haja sincronização e indução de estro sem que haja perdas em fertilidade. A IATF promove maior controle sobre as datas de fertilização e nascimento, otimizando o trabalho a campo.

No Brasil, a imensa maioria das inseminações artificiais em bovinos utiliza o sêmen congelado, técnica consagrada mundialmente, porém que ainda implica em taxas de fecundidade medianas. A utilização de sêmen resfriado seria uma alternativa com possibilidade de maior porcentagem de concepção entre fêmeas, contanto que haja proximidade suficiente entre o macho doador de sêmen e fêmeas a serem inseminadas, em tempo hábil de preservação do sêmen nestas condições. As técnicas hoje em dia utilizadas para a conservação do sêmen apresentam entre si diferentes resultados, que influenciam biologicamente os animais e por fim afetam

economicamente o produtor. A qualidade do meio diluente é de papel fundamental para o sucesso da preservação do sêmen, já que a criopreservação causa danos às células. Assim sendo, é importante que seja utilizado para a diluição um composto diluente que garanta boa viabilidade dos espermatozóides.

Todos os empecilhos encontrados durante a utilização da IATF e dos diferentes protocolos de utilização do sêmen implicam em perdas econômicas ao produtor.

Estudos para melhor utilização do sêmen bovino e estudos de protocolos de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) próprios para novilhas são importantes para que haja aplicação prática e viabilidade econômica para a cadeia produtiva.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Observar a diferença entre taxas de gestação em novilhas Nelore sincronizadas para inseminação artificial em tempo fixo (IATF) inseminadas com sêmen resfriado a 5°C e congelado a -196°C.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar diferenças de viabilidade espermática após resfriamento e após congelamento do sêmen;
- Avaliar a efetividade do acetato de deslorelina como indutor de ovulação em novilhas de corte;
- Avaliar se os níveis de progesterona sérica das novilhas, proporcionados pelo protocolo de IATF, tem relação com as taxas de prenhez;
- Avaliar a influência dos níveis de cortisol na taxa de prenhez;
- Avaliar a diferença nas taxa de prenhez entre os diferentes diâmetros dos folículos dominantes pré-ovulatórios das novilhas.

CAPÍTULO I

INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO EM NOVILHAS NELORE: UMA REVISÃO

RESUMO A introdução de novilhas na reprodução com eficiência é de grande importância na pecuária de corte, dada a necessidade de reposição de matrizes e a manutenção da viabilidade financeira. Quanto mais precocemente as novilhas alcançarem a puberdade e o acasalamento, menos animais improdutivos permanecerão no rebanho e a eficiência biológica é melhorada. É importante que exista uma seleção genética e manejo adequado para que as fêmeas possam procriar o quanto antes sem prejuízo corporal. O estudo de protocolos de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) específicos para novilhas é importante para que elas consigam atingir a puberdade o mais precoce possível e viabilizar a diminuição do tempo entre as gerações, com melhor retorno de investimentos.

Palavras-chave Nelore; novilha; fêmea; bovino; IATF

FIXED TIME ARTIFICIAL INSEMINATION IN NELORE HEIFERS: A REVIEW

ABSTRACT - The effectiveness of the introduction of heifers to reproduction is very important to the beef cattle industry, given the need to renovate the number of female reproducers and maintain financial availability. The sooner the heifers can reach puberty and mating, the biological efficiency is improved and less unproductive individuals will be kept within the herd. It is important to maintain a genetic selection and appropriate management of the herd so that the females may breed sooner and without body losses. The study of fixed time artificial insemination (FTAI) protocols specific to heifers is important to anticipate puberty and reduce the time between generations, with better return of profit.

Key words Nelore; heifer; female; bovine; FTAI

1 INTRODUÇÃO

Detentor do maior rebanho bovino mundial, o Brasil atualmente apresenta cerca de 209,5 milhões de cabeças desta espécie animal (IBGE, 2010). Desse rebanho, aproximadamente 8% são novilhas de dois a três anos de idade (ANUALPEC 2010), o que corresponde a aproximadamente 16 milhões de cabeças. Na pecuária de corte, é de grande importância a manutenção e o desenvolvimento da eficiência reprodutiva, dada a necessidade de reposição de matrizes, sabendo-se que a viabilidade financeira da pecuária de corte está vinculada à produção de bezerros, os responsáveis pela produção de carne e reposição do rebanho.

A introdução de novilhas na reprodução torna-se um dos pontos essenciais à pecuária, pois tem grande influência no desempenho do rebanho de cria. Debate-se a respeito dos manejos apropriados a esta introdução e também o melhoramento genético para a precocidade sexual, para o desenvolvimento corporal e para a capacidade de conversão alimentar e recuperação corporal pós parto (Vaz e Lobato, 2010a; Sá Filho et al., 2008a).

No Brasil a maioria das novilhas começa a ser acasalada aos três anos de idade e produz a sua primeira cria aos quatro anos (Restle et al., 1999). O longo período de manutenção de vacas não produtivas na propriedade eleva os custos e diminui o processo de seleção genética do rebanho.

A eficiência biológica do rebanho é melhorada conforme as novilhas atinjam a puberdade e o acasalamento o mais cedo possível, o que proporciona redução do intervalo entre gerações e diminui o número de animais improdutivos na estrutura e composição do rebanho de cria. Tanto a elevada idade média ao primeiro serviço das novilhas quanto a baixa taxa de retorno à gestação das vacas primíparas são importantes causas da baixa eficiência dos rebanhos. O retorno à gestação pode ser

prejudicado por diversos fatores, neles inclusos o desenvolvimento incompleto da fêmea e baixo peso ou condição corporal ao parto (Menegaz, 2006).

Sá Filho et al. (2010) conceituam a puberdade da fêmea bovina como o momento de sua primeira ovulação, tornando-se capaz de se reproduzir, considerando-se porém somente após o completo desenvolvimento do trato genital e a duração normal de uma fase luteínica, indicando a maturidade sexual e a capacidade de conceber e levar a gestação a termo.

É importante utilizar-se de meios não relacionados à idade para o início da utilização destas fêmeas, como o peso vivo e as condições corporais. Santos e Sá Filho (2006), consideraram que no início da estação reprodutiva as novilhas devem apresentar peso aproximado de 60% do peso adulto de uma vaca da raça correspondente, para que possam ser iniciadas às coberturas, sem que haja dano relativo ao gasto energético utilizado para o crescimento e o desenvolvimento delas. No caso de raças zebuínas, este peso deve estar em torno de 300 a 350 kg.

Estes parâmetros biométricos devem ser respeitados pois a produtividade do rebanho aumenta quando as novilhas dão à luz precocemente e se tornem gestantes novamente na estação reprodutiva conseguinte (Pfeifer, 2009).

Tecnologias de manejo alimentar e também biotécnicas aplicadas à reprodução animal vem contribuindo nesta adição das novilhas na pecuária. A inseminação artificial (IA) foi uma das biotécnicas de maior importância para a evolução da disseminação tecnológica e de genética animal entre os produtores, pois gerou eficiência nos acasalamentos, viabilizou a utilização em massa de indivíduos com genes melhoradores e possibilitou maior rendimento econômico para a cadeia produtiva (ABIEC, 2009; FAO, 2009; ASBIA, 2010).

A chamada inseminação artificial em tempo fixo (IATF) induz regulagens hormonais e permite maior controle sobre as datas de fertilização e nascimento, com maior acurácia do momento da ovulação, otimizando o trabalho a campo, sem que haja comprometimento na fertilidade (Sá Filho et al., 2010). Com sua utilização, no início da estação de monta já haverá grande número de vacas inseminadas, e em 30 dias já se terá observado retorno ao cio, para que se insemine novamente ou utilize touros de repasse (Carrijo Junior & Langer, 2006).

Os protocolos de IATF baseiam-se na aplicação exógena de hormônios, o que demanda manejo dos animais e idas repetidas ao curral, o que poderia gerar estresse e assim interferir na efetividade dos protocolos (Rueda, 2009). Experimentos de Cooke et al.(2011) indicaram que o temperamento excitado de fêmeas em idade fértil pode ser um empecilho às taxas de gestação em animais *Bos indicus* submetidas à IATF.

Ainda que a inseminação artificial seja amplamente difundida pelo mundo, há limitações ao uso da técnica, que no Brasil é utilizada em apenas aproximadamente 9% das fêmeas bovinas em idade reprodutiva (ASBIA, 2010). Muitos dos problemas vêm da puberdade tardia, incorreta ou ausente detecção do estro e período prolongado de anestro pós parto (Sá Filho et al., 2008a). Por isso, tornou-se interessante economicamente o desenvolvimento de protocolos para indução ou sincronização de estros e ovulações.

Segundo dados da Associação Brasileira de Inseminação Artificial (ASBIA), no ano de 2010 a Raça Nelore teve representação de 44% das vendas de sêmen de raças tipo corte no Brasil, considerando-se o sêmen nacional e importado. Isto representa mais de 2,6 milhões de doses, em um total de aproximadamente 6 milhões de doses comercializadas no país.

Baruselli et al. (2008) afirmaram que a utilização da IA apresenta vantagens no rebanho em relação à sanidade dos animais, custo diminuído em relação ao transporte genético dos touros, e a organização de trabalho, além do potencial de melhora na produção.

O uso das biotécnicas para controle da reprodução das vacas de corte não substitui o bom planejamento da nutrição e da saúde dos animais, de acordo com necessidades de cada unidade de produção. Programas de sucesso requerem boa condição corporal e animais livres de enfermidades, interesse dos produtores em aprender e utilizar os protocolos hormonais para sincronização do cio; e facilidade de manejo dos animais para detecção dos cios, separação e inseminação (Moraes et al., 2007).

Esta revisão tem por objetivo discorrer sobre conceitos de precocidade reprodutiva e descrever protocolos de IATF para novilhas de corte, já que para a boa rentabilidade associada à cadeia produtiva o produtor deve realizar análises das alternativas técnicas e corrigir as distorções oriundas do mau uso das mesmas.

2 REDUÇÃO DA IDADE AO PRIMEIRO ACASALAMENTO

Em se tratando de bovinos de corte, a idade à puberdade em fêmeas é uma característica importante à medida que o sistema de produção torna-se mais intensivo e competitivo (Restle et al., 1999). A redução da idade ao primeiro acasalamento pode melhorar a eficiência reprodutiva do rebanho por meio uma pressão de seleção maior, diminuindo o intervalo entre gerações e gerando rápido retorno de investimentos (Vaz e Lobato, 2010b).

A idade à puberdade é uma característica de produção fundamental em bovinos. Em raças de corte selecionadas para precocidade sexual, as novilhas

podem atingir a puberdade com idade entre 13 e 15 meses. Em sistemas intensivos de produção de leite e de carne, novilhas devem apresentar o primeiro parto com até 25 meses de idade (Sá Filho et al., 2008b).

A eficiência reprodutiva reflete-se nos indicadores de produtividade; assim, as práticas de manejo influenciam seus desempenhos (Beretta et al., 2002).

Em locais onde a base da alimentação dos rebanhos são pastagens limitadas em quantidade e qualidade, a amamentação se torna um meio de espoliação energética para as vacas, que acabam gastando reservas corporais para manter a produção de leite para o desenvolvimento do bezerro (Vaz e Lobato, 2010b).

Menegaz et al. (2008) afirmaram que trabalhos com base em indicadores técnicos comprovam que mudanças tecnológicas implementadas na pecuária de corte devem ser feitas visando aumento de taxas de natalidade. A redução da idade ao primeiro serviço de novilhas para 2 anos de idade e o aumento da taxa de natalidade para índices superiores a 75%, em comparação à redução da idade de abate de novilhos dos 4,5 para 2,5 anos de idade, têm maior impacto na rentabilidade do sistema de produção.

A redução da idade de desmame tem sido analisada e tem proporcionado significativos aumentos na taxa de prenhez de vacas, uma vez que zera os custos nutricionais da produção de leite e do desmame à idade convencional, feito em torno dos 7 meses (Vaz e Lobato, 2010a). O desmame precoce tem como objetivo aumentar a eficiência reprodutiva das fêmeas bovinas, porém não há vantagem se os ganhos no desenvolvimento, acúmulo de reservas e melhor desempenho reprodutivo nas vacas submetidas ao desmame precoce forem perdidos com a má-nutrição para as bezerras, comprometendo o sistema produtivo (Beretta et al., 2002).

A primeira parição aos 24 meses de idade é a meta para os rebanhos comerciais brasileiros; entretanto, apesar de escassos, existem trabalhos sendo realizados que primam pelo primeiro acasalamento entre 13 e 15 meses de idade, especialmente com bezerras desmamadas precocemente. Para o primeiro acasalamento ser realizado já a esta pouca idade, é necessário desenvolvimento corporal suficiente para que estimule o início precoce da atividade sexual da bezerra, com taxas adequadas de ganho de peso nos períodos pré e pós desmame (Vaz e Lobato, 2010b).

Segundo Vaz e Lobato (2010a), desmames precoces não inviabilizam o abate de novilhos precoces aos 24 meses de idade, aos 15 meses de idade, e nem o primeiro serviço aos 24 meses. Os autores avaliaram por dois anos consecutivos a influência da idade do desmame sobre o comportamento reprodutivo aos 13 a 15 meses de idade. Relatam que a puberdade é principalmente uma consequência da velocidade de ganho de peso, que está relacionada ao meio ambiente. Foi observada correlação entre idade e peso à puberdade, em que novilhas mais tardias à puberdade também eram mais pesadas. Não houve associação entre o peso ao desmame e o peso à puberdade, entretanto novilhas mais pesadas ao desmame se mostraram mais precoces em idade à puberdade. Concluíram, assim, que o crescimento pré desmame tem grande influência na puberdade das novilhas.

Em outro trabalho de Vaz e Lobato (2010b), foi constatado que bezerras desmamadas precocemente aos 77 dias de idade demonstram desenvolvimento semelhante ao de bezerras amamentadas até os 147 dias de idade, quando alimentadas adequadamente. Ou seja, é possível atingir desenvolvimento adequado entre os 14 e 15 meses de idade contanto que haja bom manejo nutricional.

Pilau e Lobato (2009), relataram que em seu experimento de 48 dias de suplementação energética pré acasalamento não houve diferença no desenvolvimento corporal das novilhas aos 13/15 meses, porém esta suplementação proporcionou maior número de novilhas púberes ao início do período de reprodução e conseqüentemente maior taxa de prenhez a esta idade.

Pilau e Lobato (2008), ressaltaram a importância do manejo das novilhas prenhes nesta menor idade. Segundo eles, para se tornar viável economicamente apesar da baixa taxa de prenhez das mesmas, a produção (em números de bezerros) da vaca parida aos 24 meses deve exceder à de novilhas prenhes em idades mais elevadas. Porém, independente da idade ao parto, animais primíparos requerem especial atenção; o peso ao primeiro parto e a condição corporal da novilha é determinante para o ocorrência de uma segunda prenhez no período reprodutivo consecutivo.

Lobato (2003) recomendou que a vaca de corte ideal seria aquela que em períodos de 12 meses se torna gestante, pare e desmama um bezerro saudável e consegue nova prenhez no início do período reprodutivo seguinte. Há maiores chances disso acontecer quando as vacas são manejadas para parição com escore de condição corporal (ECC) entre 3,5 e 4 (numa escala de 1 a 5) e com alimentação de modo a minimizar perdas corpóreas durante a amamentação. Vacas paridas aos 24 meses de idade possuem demanda nutricional maior e chegam mais debilitadas ao parto. Pilau e Lobato (2008) concluíram em seu trabalho que novilhas com ganhos de peso próximos a 0,900 kg/dia na fase inicial de gestação mantêm maior peso e condição corporal entre o parto e o início da próxima estação reprodutiva. Em outro experimento, novilhas mais velhas e mais pesadas foram superiores em índice

de prenhez e rapidez em adquirir gestação em comparação às mais jovens e de menor peso (Menegaz et al.,2008).

Pötter et al. (2000) avaliaram financeiramente modelos de produção que envolviam novilhas primíparas aos dois, três e quatro anos, e concluíram que novilhas de maior custo variável são as primíparas de dois anos alimentadas com pastagem natural e suplementadas com ração, enquanto que a maior margem bruta é dada pelas novilhas primíparas aos três anos, quando levado em consideração que as fêmeas de dois anos requerem maior investimento em insumos. Porém os autores ressaltam que sistemas intensivos de criação produzem melhores resultados, no geral, do que sistemas de criação tradicional, além de oferecerem maior espectro de alternativas técnicas e econômicas a serem exploradas.

3 HORMONIOTERAPIA EM NOVILHAS NELORE

O controle da reprodução em bovinos de corte é um processo complexo pela quantidade relativa de fatores externos e suas possíveis interações. Assim, todo procedimento a ser adotado deve ser feito de acordo com as necessidades de cada sistema de produção.

Produtores que desejem inseminar novilhas mais jovens ou com menor desenvolvimento corporal, ainda sem apresentar normalidade de ciclo reprodutivo, podem lançar mão da suplementação com progestágenos, o que contribui para desempenho semelhante ao das novilhas sexualmente maduras. Produtores que desejam inseminar novilhas de dois anos de idade ciclando, podem empregar um dos vários protocolos à base de prostaglandinas, que viabilizam a antecipação das concepções em pelo menos 15 dias, o que contribui para que essas fêmeas venham a parir no início da temporada de parição (Moraes et al., 2007).

3.1 Progestágenos e estradiol

Na puberdade as novilhas apresentam alterações fisiológicas em seus tratos reprodutivos, permitindo assim a gestação. Esse rápido desenvolvimento parece estar ligado à estimulação exercida pelo aumento da quantidade de progesterona e estradiol circulantes neste período (Sá Filho et al., 2008).

Pfeifer et al.(2009) citaram que vários estudos conduzidos para esclarecer a fisiologia da aquisição da maturidade sexual levam a crer que para que uma novilha atinja a puberdade devem ocorrer duas elevações transitórias de progesterona. Este hormônio, quando aplicado por via exógena, pode antecipar a puberdade pela exposição do trato reprodutivo aos primeiros ciclos estrais férteis.

Existem tratamentos para o estabelecimento da função ovariana, que incluem a inserção de dispositivos para liberar P4. Estes dispositivos mantêm as concentrações plasmáticas de P4 por um período predeterminado. Rhodes et al. (2002) explicam que quando essas concentrações de P4 atingem níveis subluteais, ocorre aumento na frequência de pulsos de LH, levando ao crescimento folicular, que, por sua vez, impede a atresia do folículo dominante. Assim, permite o crescimento e maturação do folículo dominante com capacidade de ovulação.

Os tratamentos à base de progesterona podem ser usados para induzir o estro em novilhas pré-púberes e em pluríparas em anestro no período pós-parto (Roche, 1974). Baruselli et al. (2004) realizaram IATF com protocolos baseados em progesterona, nos quais obtiveram aumento da porcentagem de vacas ovuladas, fertilidade nos animais que receberam eCG pré-ovulatório e circulação de progesterona no protocolo seguinte.

Segundo Santos e Sá Filho (2006), geralmente são necessários dois a três ciclos estrais para que a fêmea bovina adquira maturidade sexual com capacidade de concepção e gestação a termo.

Sá Filho et al. (2008), baseados em trabalhos preliminares, levantaram uma hipótese de que as novilhas *Bos indicus* seriam mais sensíveis aos níveis circulantes de P4 liberados pelos dispositivos intravaginais. Avaliaram então a dinâmica folicular e concentrações plasmáticas de P4 circulante, e obtiveram dados de comprometimento na taxa de crescimento de folículo dominante e níveis altos de P4 sanguíneo. Como resultado, concluíram a inviabilidade de tratamentos com dispositivos intravaginais de primeiro uso para novilhas zebuínas, devido ao comprometimento da ovulação causada por eles.

De acordo com Rhodes et al.(2002), a combinação de progesterona e benzoato de estradiol (BE) no tratamento de anestro anovulatório podem resultar em manifestação de cio e iniciação a ciclos estrais regulares. A prostaglandina e o estradiol são muito utilizados, sendo este último com baixa ação luteolítica e menos eficaz para sincronização do cio quando o tratamento é iniciado durante a primeira onda de crescimento folicular do ciclo estral (Lane et al., 2001).

Já Rocha (2000) afirmou que o estrógeno (E_2), quando associado à progesterona, promove o crescimento sincronizado de uma nova onda folicular cerca de 4 a 5 dias após sua aplicação, independente do estágio do ciclo estral no qual o tratamento é iniciado.

Sá Filho et al. (2006) avaliaram o uso de implante auricular de Norgestomet com diferentes doses de Benzoato de Estradiol (BE) e Valerato de Estradiol (VE). Observou-se maior intervalo de emergência de onda de crescimento folicular com o

VE, o que torna o BE o mais recomendado para a utilização em novilhas zebuínas, pois não proporciona o atraso no crescimento folicular.

3.2 Hormônio Liberador de Gonadotrofinas (GnRH) e seus análogos

A utilização do GnRH para sincronização da onda de crescimento folicular e para a indução da ovulação tem resultado em taxas de gestação satisfatórias nos programas de inseminação artificial em tempo fixo. A administração durante qualquer fase do ciclo estral resulta em um pico de LH que promove a ovulação dos folículos maiores de 9,0mm (Bodensteiner et al., 1996)

Os efeitos do tratamento contínuo com agonista de GnRH realizam uma fase estimulatória aguda seguida por uma depressão crônica das gonadotrofinas. O tratamento a longo prazo com agonista de GnRH pode induzir diminuição dos receptores de GnRH, dessensibilizar a hipófise e abolir a liberação pulsátil de FSH e LH (D'Occhio et al., 2000).

Recomenda-se realizar uma segunda injeção de GnRH 48 horas após a administração da prostaglandina para promover a sincronização da ovulação e posterior inseminação artificial em tempo fixo (De Rensis e Peters, 1999).

Se uma injeção de GnRH for administrada em um período em que não há folículos dominantes no ovário, os folículos vão continuar a se desenvolver (Ginther et al., 1996). Entretanto, se houver folículo dominante, este vai ovular dentro de 29 horas após o início da onda de LH (Wiltbank e Haughian, 2003). Para Duffy et al. (2000), a alta porcentagem de folículos dominantes no dia da aplicação de PGF2 α pode garantir boas taxas de ovulação após a segunda aplicação de GnRH.

O acetato de deslorelina, um análogo do GnRH, apresenta multiplicidade de efeitos, e quando especificamente se trata de ovários, apresenta a indução de ovulação. Ambrose et al. (1998) sugeriram que, quando utilizado como última

injeção de protocolo hormonal em vacas de leite, o acetato de deslorelina pode melhorar a diferenciação do corpo lúteo, resultando em maior fase lútea e conseqüentemente maiores produções de progesterona. Em outro estudo, novilhas pré-púberes responderam com um aumento agudo de LH após a inserção de um implante de deslorelina (Bergfeld et al., 1996).

3.3 Gonadotrofina Coriônica Equina (eCG)

A gonadotrofina coriônica equina (eCG) é um hormônio glicoproteico de meia vida plasmática longa (até 3 dias), produzido nos cálices endometriais da égua prenhe de 40 a 130 dias e que se liga aos receptores foliculares de FSH e de LH (pois apresenta efeitos similares aos seus) e aos receptores de LH do corpo lúteo. A eCG cria condições de crescimento folicular e de ovulação, - sua ação de LH induz à maturação final do folículo e a ovulação, além de ajudar no desbloqueio ao eixo hipotalâmico-hipofisário quando da retirada dos implantes de progesterona - e seu uso tem-se mostrado compensador em rebanhos com baixa taxa de ciclicidade, em animais recém paridos (período pós parto inferior a 2 meses) e em animais com condição corporal comprometida (Borges, 2001; Baruselli et al., 2006).

Sua utilização tem se mostrado benéfica no desenvolvimento folicular de vacas em anestro pós-parto por se ligar aos receptores de FSH e LH (Ereno et al., 2007).

Estes autores revisaram que a administração de eCG em vacas lactantes acíclicas tratadas com progesterona ou progestágenos, tem sido recomendada pela ação do FSH/LH no desenvolvimento dos folículos de vacas em anestro; Este efeito também foi observado em novilhas *Bos taurus indicus* acíclicas (taxa de prenhez de 50%) com adição de 400 UI de eCG quando retirados os implantes de norgestomet.

De acordo com Sá Filho et al. (2008), o tratamento com eCG no momento da retirada do dispositivo de P4 aumenta a taxa de prenhez em novilhas Nelore. O

tratamento com eCG aumentou o diâmetro folicular, a taxa de ovulação, o diâmetro do CL e a taxa de prenhez à IATF.

Marques et al. (2003) avaliaram o efeito de tratamento eCG no momento da remoção do dispositivo de P4 sobre a dinâmica folicular, ovulação e as concentrações plasmáticas de progesterona em 50 vacas de corte primíparas amamentando e concluíram que o tratamento com eCG aumentou significativamente as concentrações plasmáticas de progesterona 12 dias após o término de tratamento.

4 CONCLUSÃO

Sabe-se que a taxa de reprodução é importante para os sistemas de produção de bovinos de corte, pois a viabilidade da atividade baseia-se nela. Entretanto, a otimização da fertilidade não significa apenas aumentar o número de nascimentos por ano, e sim saber controlar a qualidade das fêmeas e das crias nascidas, o controle econômico da criação e a implementação de novas tecnologias para a melhoria da utilização das fêmeas como reprodutoras.

O melhoramento genético e manejo das novilhas acrescentam velocidade de reposição de animais e possibilidade de maior e melhor tempo de vida fértil para as fêmeas.

O desenvolvimento e utilização de protocolos de inseminação artificial em tempo fixo específicos para as novilhas de raças de corte proporcionará o incremento na qualidade e viabilidade reprodutiva, aumentando equilíbrio de custos e melhorando os índices do rebanho nacional.

REFERÊNCIAS

AMBROSE, J. D.; PIRES, M. F.; MOREIRA, F. et al. Influence of deslorelin (GnRH-agonist) implant on plasma progesterone, first wave dominant follicle and pregnancy in dairy cattle. **Theriogenology**, v. 50, n. 7, p. 1157 -1170. 1998.

ANUÁRIO DA PECUÁRIA BRASILEIRA (ANUALPEC). 2010.

ASBIA – Associação Brasileira de Inseminação Artificial. **Relatório estatístico de exportação, importação e comercialização de sêmen**. 2010. Disponível em: <<http://www.asbia.org.br/novo/upload/mercado/relatorio2010.pdf>> Acesso em: 09/05/2011.

BERETTA, V.; LOBATO, J.F.P.; MIELITZ NETO, C.G.A.. Produtividade e eficiência biológica de sistemas de produção de gado de corte de ciclo completo no Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 2, p. 991-1001, 2002

BERGFELD, E.G.; D'OCCHIO, M.J.; KINDER, J.E. Pituitary function, ovarian follicular growth, and plasma concentrations of 17 beta-estradiol and progesterone in prepubertal heifers during and after treatment with the luteinizing hormone-releasing hormone agonist Deslorelin. **Biology Reproduction**, n.54, p.776-782, 1996.

BODENSTEINER, K.J.; KOT, K.; WILTBANK, M.C. et al. Synchronization of emergence of follicular wave in cattle. **Theriogenology**, n.45, p. 1115-1128, 1996.

BORGES, A. M.; **Influência de diferentes manejos e tratamentos hormonais na dinâmica ovariana durante o ciclo estral e no anestro pós-parto de vacas Gir e Nelore**. 136f. Viçosa, 2001. Tese (doutorado). Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa.

CARRIJO JUNIOR, O. A.; LANGER, J. Avaliação de protocolo de inseminação artificial fixo utilizando eCG em vacas nelore puras e paridas. **Revista Electrónica de Veterinaria REDVET**, v. VII, n. 01, p. 1695-7504, Espanha, 2006

D'OCCHIO, M.J.; FORDYCE, D.; WHITE, T.R. et al. Reproductive responses of cattle to GnRH agonists. **Animal Reproduction Science**, n.60–61, p.433–442, 2000.

DE RENSIS, F.; PETERS, A.R. The control of follicular dynamics by PGF2 α , GnRH, hCG and estrous synchronization in cattle. A review. **Reproduction of Domestic Animals**, n. 34, p.49-59, 1999.

ERENO, R. L.; BARREIROS, T. R. R.; SENEDA, M. M. et al. Pregnancy rates in milking Nelore cows submitted to progesterone treatment associated to temporary calf removal or eCG administration. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 36, n. 5, p. 1288 - 1294. 2007.

GINTHER, O. J.; WILTBANK, M. C.; FRICKE, P. M. et al. Selection of the dominant follicle in cattle. **Biology of Reproduction**, n.55, p. 1187-1194, 1996.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). 2010.

LANE, E.A.; AUSTIN, E.J.; ROCHE, J.F. et al. The effect of estradiol benzoate or a synthetic gonadotrophin-releasing hormone used at the start of a progesterone treatment on estrous response in cattle. **Theriogenology**, n.56, p.79–90, 2001.

LOBATO, J. F. P.. A “vaca ideal” e o seu manejo em sistemas de produção de ciclo curto. In: Simpósio da carne bovina: da produção ao mercado consumidor. 1. São

Borja. **Anais...** Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2003. p. 9 - 43.

LOBATO, J.F.P.; AZAMBUJA, P.S. Recria de terneiras e eficiência reprodutiva de novilhas e vacas primíparas. In: BORGES, J. B. S.; GREGORY, R. M. Simpósio de reprodução bovina – sincronização de estros em bovinos, 2002, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: Gráfica Jacuí, 2002. p. 5 -17

MARQUES, M.O.; REIS, E.L.; CAMPOS FILHO, E.P. et al. Efeitos da administração de eCG e de Benzoato de Estradiol para sincronização da ovulação em vacas zebuínas no período pós-parto. In: **Proceedings 5º. Simposio Internacional de Reproducción Animal**, Córdoba, Argentina, p. 392 (abstract), 2003.

MENEGAZ, A. L .. **Desempenho produtivo e reprodutivo de novilhas e vacas primíparas de corte**. Dissertação de mestrado. Programa de pós-graduação em zootecnia. UFRGS, março 2006.

MENEGAZ, A. L.; LOBATO, J. F. P.; PEREIRA, A. C. G.. Influência do manejo alimentar no ganho de peso e no desempenho reprodutivo de novilhas de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.37, n. 10, p. 1844 - 1852, 2008.

MORAES, J. C. F.; JAUME, C. M.; SOUZA, C. J. H.. Manejo reprodutivo da vaca de corte. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. v. 31, n. 2, p. 160 - 166, 2007.

PFEIFER, L. F. M.; CASTILHO, E. M.; ROLL, V. F. B.; et al. Efeito da duração do tratamento com progestágeno e da maturidade sexual na taxa de prenhez em novilhas de corte: avaliação econômica e biológica. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.7, p.1205 - 1210, 2009

PILAU, A.; LOBATO, J. F. P.. Manejo de novilhas prenhes aos 13/15 meses de idade em sistemas a pasto. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 37, n. 7, p. 1271 - 1279, 2008.

PILAU, A.; LOBATO, J. F. P.. Suplementação energética pré-acasalamento aos 13/15 meses de idade para novilhas de corte: desenvolvimento e desempenho reprodutivo. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 38, n. 12, p. 2482 - 2489, 2009.

PÖTTER, L.; LOBATO, J. F. P.; NETTO, C. G. A. M.. Análises econômicas de modelos de produção com novilhas de corte primíparas aos dois, três e quatro anos de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29. n. 3, p. 861 - 870, 2000.

RESTLE, J.; POLLI, V. A.; SENNA, D. B. Efeito de grupo genético e heterose sobre a idade e peso à puberdade e sobre o desempenho reprodutivo de novilhas de corte. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, n. 4, p. 701 - 707, 1999.

RHODES, F.M.; BURKE, C.R.; CLARK, B.A.; et al. Effect of treatment with progesterone and oestradiol benzoate on ovarian follicular turnover in postpartum anoestrous cows and cows which have resumed oestrous cycles **Animal Reproduction Science**, n.69, p.139–150, 2002.

ROCHA, J.L. Sincronização hormonal da onda folicular e do estro em novilhas de corte mestiças monitoradas por radiotelemetria. 2000. 125 f. **Tese (Doutorado em Medicina Veterinária)** – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.

ROCHE, J.F. Synchronization of oestrus in heifers with implants of progesterone. **Journal of Reproduction and Fertility**, n.41, p.337–344, 1974.

SÁ FILHO, M. F.; GIMENES, L. U.; SALES, J. N. et al. IATF em novilha. Biotecnologia da Reprodução em Bovinos (3º Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada) **Anais...** Londrina, p. 54 a 67, 2008a.

SÁ FILHO, M. F.; MARQUES, M. O.; BARUSELLI, P. S. Indução de ciclicidade e IATF em novilhas zebuínas. Biotecnologia da Reprodução em Bovinos (4º Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada) **Anais...** Londrina, p. 79 - 100, 2010.

SÁ FILHO, M. F.; SALES, J. N. S.; CREPALDI, G. A. et al. Effect of different ovulation inductors on pregnancy rates of Nelore (*Bos indicus*) heifers synchronized to fixed-time artificial insemination.. In: II International Symposium on Animal Biology of Reproduction, 2008, São Paulo. **Animal Reproduction**, v. 6. p. 307-307, 2008b.

SANTOS, J.E.P. ; SÁ FILHO, M. F.. Nutrição e reprodução em bovinos. Biotecnologia da Reprodução em Bovinos (2º Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada) **Anais...** Londrina, p. 30-48, 2006.

VAZ, R. Z.; LOBATO, J. F. P.. Efeito da idade de desmame no desempenho reprodutivo de novilhas de corte expostas à reprodução aos 13/15 meses de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 39, n. 1, p. 142 - 150, 2010a.

VAZ, R. Z.; LOBATO, J. F. P.. Efeito da idade do desmame no desenvolvimento de novilhas de corte até os 14/15 meses de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 39, n. 2, p. 289 - 298, 2010b.

WILTBANK, M. C.; HAUGHIAN, J. M. GnRH: Bases fisiológicas para entender sua utilização em protocolos de sincronização. IN: Novos enfoques na produção e reprodução de bovinos 7. **Anais...** Passos, CONAPEC Jr. & CBRA, p.121-131, 2003.

CAPÍTULO II

ÍNDICE DE GESTAÇÃO EM NOVILHAS DA RAÇA NELORE SINCRONIZADAS PARA IATF E INSEMINADAS COM SÊMEN RESFRIADO E CONGELADO

RESUMO O presente experimento teve como objetivos: comparar as taxas de prenhez após a inseminação artificial em tempo fixo com sêmen resfriado a 5°C e com sêmen congelado a -196°C, avaliar a relação entre taxas de prenhez e o diâmetro do folículo pré-ovulatório em novilhas da raça Nelore, e verificar a eficácia do acetato de deslorelina como indutor de ovulação. As novilhas foram divididas em dois grupos, G1 (n=47) e G2 (n=49) inseminadas com sêmen resfriado e congelado, respectivamente. O protocolo utilizado foi: Dia (D)0 = BE + implante auricular de P4; D8 = retirada do implante + PGF2 α + eCG; D10 = acetato de deslorelina; D11 = IATF. Foram realizadas análises de níveis de cortisol sérico através do Teste de ELISA por competição, para correlação com a prenhez. O sêmen foi coletado de um único touro da raça Nelore por meio de eletroejaculação, dividido em duas frações e acrescentados os diluentes à base de gema de ovo, com crioprotetor (para G1), e sem crioprotetor (para G2) e envasado em palhetas de 0,5 mL, com 30 milhões de espermatozoides viáveis por palheta. Não houve diferença ($p \geq 0,05$) entre as gestações dos grupos G1 (48,94%) e G2 (46,94%). Houve diferença estatística ($p < 0,05$) entre os diâmetros de folículos pré-ovulatórios dos grupos G1 e G2, mas não houve diferença para a relação entre o diâmetro de folículo pré-ovulatório e a porcentagem de gestações entre G1 e G2. Os níveis altos de cortisol sérico encontrados não tiveram relação com o número de prenhezes das novilhas. O uso do acetato de deslorelina se mostrou eficaz como indutor de ovulação em novilhas Nelore. Concluiu-se que não houve diferença na taxa de prenhez entre os grupos de animais inseminados com sêmen resfriado e sêmen congelado.

Palavras chave acetato de deslorelina; bovino; folículo; eletroejaculação

Pregnancy rates in Nelore heifers synchronized for FTAI and inseminated with chilled and deep-frozen semen

ABSTRACT The present study aimed to compare the pregnancy rates after fixed-time artificial insemination using chilled semen at 5°C and deep-frozen semen at -196°C, evaluate the connection between the pregnancy rates and the diameters of pre-ovulatory follicles in Nelore heifers, and verify the efficiency of the deslorelin acetate as an ovulation inductor. Two groups of heifers were made, G1 (n=47) and G2 (n=49), to be inseminated with chilled semen and deep-frozen semen, respectively. The hormonal protocol consisted on: Day (D)0 = EB + ear P4 implant; D8 = withdraw of implant + PGF2 α + eCG; D10 = deslorelin acetate; D11 = FTAI. To evaluate the pregnancy correspondance with levels of blood cortisol, the competitive ELISA test was used. The semen was collected from a single Nelore bull, through eletroejaculation process, divided in two parts and diluted with egg yolk based diluent, with crioprotectant (for G1) and without crioprotectant (for G2) and stored in straws of 0,5 mL and 30 million viable spermatozoa each. There was no statistical significance ($P \geq 0,05$) between the pregnancies of both G1 (48,94%) and G2 (46,94%) semen. There was statistical significance ($P < 0,05$) between the diameters of pre-ovulatory follicles of the groups G1 and G2, but there was no statistical significance for the relation amongst the diameter of pre-ovulatory follicles and the pregnancy percentages between the groups G1 and G2. The high levels of serum cortisol had no relation with the number of pregnant heifers. The use of deslorelin acetate was effective as an ovulation inductor for Nelore heifers. There was no difference in the pregnancy rates between the groups inseminated with chilled or deep-frozen semen.

Key words deslorelin acetate; bovine; follicle; eletroejaculation

1 INTRODUÇÃO

A inseminação artificial (IA) apresenta vantagens no rebanho em relação à monta natural no que diz respeito à sanidade dos animais, custo diminuído em relação ao transporte genético proveniente dos touros, e a organização de trabalho, além do potencial de melhora na produção (Baruselli et al., 2008).

Ainda que a IA seja amplamente difundida, no Brasil apenas 9% das fêmeas bovinas em idade reprodutiva são inseminadas (ASBIA, 2010). A inseminação artificial em tempo fixo (IATF) induz a regulagens hormonais e permite maior controle sobre as datas de fertilização e nascimento, com maior acurácia do momento da ovulação, otimizando o trabalho a campo, sem que haja comprometimento na fertilidade (Sá Filho et al., 2010).

No Brasil, a maioria das inseminações artificiais em bovinos utiliza o sêmen congelado, técnica disseminada mundialmente, implicando porém em taxas de fecundidade consideradas medianas. Schuh (1992) relata que na maioria dos países em desenvolvimento, a IA foi introduzida em pequena escala nas décadas de 1950 e 1960, utilizando-se sêmen fresco ou conservado à temperatura ambiente, e que no final da década de 1970 houve colaboração de investimento internacional e agências doadoras a estabelecimentos de alto custo, para o processamento de sêmen congelado. Assim, sem avaliar a viabilidade de manutenção, tornou-se necessária a utilização de empresas para a capacidade operacional de preservação do material genético, e a vantagem do estoque de sêmen por tempo prolongado convenceu os produtores a praticar a IA com sêmen congelado em vez de sêmen líquido (resfriado ou a fresco).

Após a diluição e a refrigeração das células espermáticas ocorrem danos nas membranas que reduzem a motilidade e rompem a integridade das mesmas,

interferindo na sobrevivência e na capacidade fecundante dos espermatozoides (Foote e Bratton, 1960). Assim sendo, a utilização de sêmen resfriado seria uma alternativa com possibilidade de alcance de maior porcentagem de prenhez entre as fêmeas, contanto que haja proximidade suficiente entre o doador de sêmen e fêmeas a serem inseminadas.

Watson (2000) afirmou que cerca de 40 a 50% da população de espermatozoides não sobrevive à criopreservação mesmo com protocolos de otimização. Quando são comparados os números de espermatozoides móveis e viáveis após congelados e reaquecidos, os resultados são mais pobres que no sêmen fresco. Choque térmico pelo frio é, assim, visto meramente como um estado extremo de continuação de estresse, influenciado pela taxa de aparecimento do fenômeno. Este estresse nas membranas é continuado abaixo de 8°C, pois é sabido que a maior mudança de fase ocorre entre 5 e -158°C (Drobnis et al., 1993), e esta é uma variação de temperatura importante para os danos dependentes de temperatura.

Considerados estes danos às membranas, Crespilho (2010) afirma que o sêmen bovino refrigerado pode permitir maior número de espermatozóides íntegros, e assim se justificaria a superioridade em relação ao sêmen congelado, devido à maior capacidade de fertilização. Além disso, Crespilho et al. (2006) relataram uma maior viabilidade espermática pós descongelamento na utilização de um meio diluente à base de gema de ovo em relação ao diluidor com tris-gema de ovo-frutose, quando consideradas análises de movimento linear espermático, que refletem o ambiente bioquímico e as condições físicas a que são submetidos os espermatozóides. Papa et al. (2008) analisaram dados de experimentos realizados comparando diferentes diluentes e suas capacidades de preservação celular dos

espermatozóides após congelamento, e afirmam que o diluente à base de gema de ovo tem melhor efetividade sobre a preservação do que outros diluidores como os à base de lecitina de soja e o Tris-gema de ovo frutose, que é atualmente o mais usado no mundo.

Em relação às novilhas, é de grande importância a manutenção e o desenvolvimento de sua eficiência reprodutiva, dada a necessidade contínua de reposição de matrizes quando é sabido que a viabilidade financeira da pecuária de corte está vinculada à produção de bezerros (Sá Filho et al., 2010).

O acetato de deslorelina, um análogo do GnRH, apresenta multiplicidade de efeitos, e quando especificamente se trata de ovários, apresenta a indução de ovulação. Ambrose et al. (1998), sugeriram que, quando utilizado como última administração no protocolo hormonal em vacas de leite, o acetato de deslorelina melhorou a diferenciação do corpo lúteo, resultando em maior fase lútea e maior produção de progesterona.

Cooke et al. (2011) reportaram que o temperamento agitado, associado com respostas fisiológicas e comportamentais tem influência negativa na eficiência reprodutiva de vacas de corte. A agitação pode atrapalhar desde a ingestão alimentar e o estado nutricional, e pode também desencadear respostas neuroendócrinas de estresse, como a liberação elevada de cortisol, que podem atrapalhar os processos fisiológicos relacionados à fertilidade (Cooke et al., 2009; Dobson et al., 2001).

Todas as dificuldades listadas para o uso da IATF e dos diferentes protocolos de utilização do sêmen implicam em perdas econômicas ao produtor. Este trabalho teve como objetivo avaliar: as diferenças entre taxas de prenhez em novilhas inseminadas com sêmen resfriado ou sêmen congelado; a efetividade do acetato de

deslorelina como indutor de ovulação em novilhas de corte; verificar a influência dos níveis de cortisol na taxa de prenhez e observar a diferença na taxa de prenhez entre os diferentes diâmetros dos folículos dominantes pré-ovulatórios das novilhas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Localização e seleção dos animais utilizados

O experimento foi realizado na Fazenda Primavera, no município de Lambari D'Oeste - MS, Brasil (latitude 15°14'1" S, longitude 57°31'21" O), no período de dezembro de 2010 e janeiro de 2011. É uma região de clima tropical cujas médias de temperatura variam anualmente entre 32,4 e 20°C, podendo apresentar extremos entre 42 e 10°C (Santos et al., 2010). A umidade relativa do ar na região normalmente se encontra em torno dos 77% (entre os meses de agosto e dezembro), porém a precipitação pluvial pode ser próxima a zero entre os meses de junho e julho (INMET, 2012).

Foram utilizadas 96 novilhas e um touro da raça Nelore. Os animais eram alimentados à pasto com *Brachiaria* sp. com suplementação de sal mineral, e acesso à água *ad libitum*.

As fêmeas pesavam em média 325 kg e foram avaliadas por palpação retal e ultrassonografia trans-retal (aparelho ALOKA SSD-500, transdutor linear de 5 MHz), para verificação de função ovariana e normalidade do trato reprodutivo.

Após a avaliação as novilhas foram divididas ao acaso em dois grupos: grupo G1 (n=47), para IA com sêmen resfriado a 5°C; e grupo G2 (n=49), para IA com sêmen congelado (N₂ a -196°C).

2.2 Avaliação e processamento do sêmen

O touro doador do sêmen foi avaliado previamente sob os aspectos de estado de condição corporal, trato reprodutivo, através de palpação retal, testicular e prepucial, e eletroejaculação, para análise de viabilidade espermática, coloração e aspecto seminal.

No dia da coleta do sêmen, o touro foi submetido à lavagem prepucial com soro fisiológico aquecido a 35°C, corte de pelos prepuciais, e colheita de sêmen através do método de eletroejaculação.

Imediatamente após a coleta o sêmen foi avaliado sob aspectos de volume (em tubo graduado de 15 mL), motilidade de massa, vigor, motilidade progressiva (em microscópio ótico sobre lâmina aquecida a 36°C) e concentração espermática (através de contagem realizada em Câmara de Neubauer).

A amostra foi então separada em duas frações; a primeira, a ser utilizada para o grupo G1 (sêmen resfriado), foi diluída com diluente à base de gema de ovo, em fração sem criopreservadores. A fração utilizada para o grupo G2 (sêmen congelado) empregou a mesma base de diluente, porém contendo criopreservadores (glicerol). Após a diluição foi realizado o envase em palheta média inseminante de 0,5 mL (IMV®), cada uma contendo 30 milhões de espermatozoides viáveis.

Todas as palhetas de sêmen foram resfriadas em recipiente próprio para a redução de temperatura de 35°C para 5°C (Botutainer®) e manutenção da temperatura a 5°C por quatro horas para estabilização metabólica dos espermatozoides.

O sêmen resfriado foi mantido durante 24 horas à temperatura de 5°C, até que fosse utilizado para a inseminação.

O sêmen para congelamento foi submetido a quatro horas de estabilização a 5°C, sendo então primeiramente realizada a queda de temperatura de 5°C para -20°C, e, em seguida, procedeu-se a manutenção das palhetas a 5 cm do vapor de nitrogênio durante 20 minutos, em recipiente fechado de boa manutenção térmica. Após este período, as palhetas foram imersas diretamente no N₂, e inseridas no botijão de conservação de sêmen para a utilização posterior.

O reaquecimento e descongelamento do sêmen, prévios às inseminações, foram feitos mediante imersão das palhetas em água a 36°C por 30 segundos.

2.3 Protocolo para as novilhas

As novilhas foram submetidas ao seguinte protocolo de sincronização de cio:

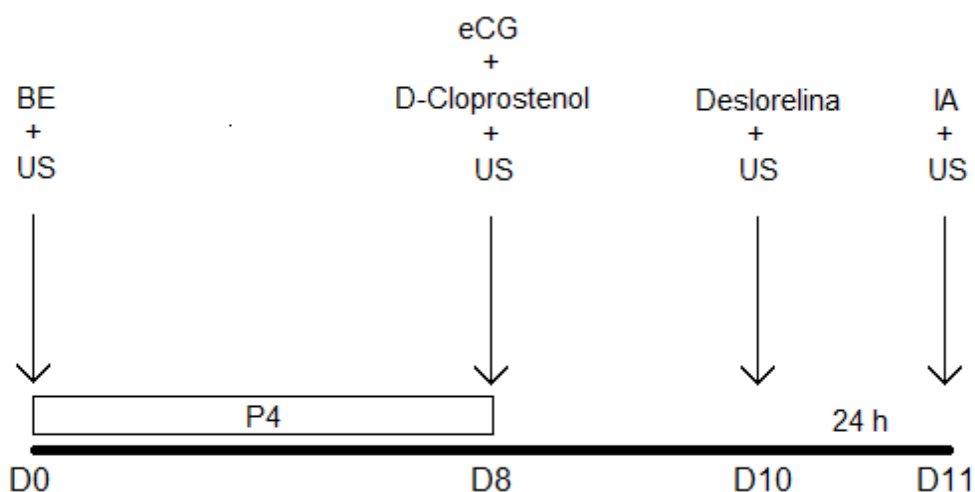


FIGURA 1 - PROTOCOLO DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO UTILIZADO. FONTE: O autor (2012).

No dia da inseminação (D11), as novilhas do grupo G1 foram inseminadas com o sêmen resfriado, e as do grupo G2 com o sêmen congelado.

2.4 Análises ultrassonográficas e diagnóstico gestacional

Foram realizadas análises ultrassonográficas todos os dias do protocolo (em D0, D8, D10 e D11), visando acompanhar a atividade ovariana e a dinâmica do crescimento folicular.

O diagnóstico de gestação foi realizado ao 28º dia após a IA, via ultrassonografia transretal.

2.5 Análises sanguíneas

Paralelamente coletou-se amostras de sangue de um grupo aleatório de 13 novilhas visando a determinação hormonal de cortisol, nos dias D0, D8 e D11. Os soros foram obtidos através de centrifugação do sangue recém-colhido em rotação de 5000 rpm, durante 10 minutos, e conservados a -20°C até as análises, determinadas pelo método do Teste de ELISA por competição, da marca Human®. As análises foram realizadas no Laboratório de Microbiologia e Ornitopatologia da Universidade Federal do Paraná.

2.6 Análises estatísticas

As análises estatísticas foram feitas para avaliar diferenças entre as taxas de prenhez entre os grupos através do teste do Qui-quadrado com nível de significância de 0,05. A avaliação das dimensões dos folículos pré-ovulatórios e as diferenças entre os níveis de cortisol foram submetidas à ANOVA e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância. O programa utilizado foi o Statistix 9.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Avaliação seminal

O sêmen colhido do touro encontrou-se em conformidade com os parâmetros mínimos descritos para animais de raças zebuínas (Fonseca, 1997; CBRA, 1998; Lopes et al., 2009). O touro apresentou circunferência escrotal de 37 cm, volume de sêmen de 9,5 mL. O exame microscópico para defeitos espermáticos com coloração de Panótico Rápido apresentou os seguintes valores: defeitos menores 2% (entre eles cauda dobrada e gota citoplasmática distal), defeitos maiores 9,5% (entre eles

gota citoplasmática proximal, cabeça pequena anormal e cauda fortemente enrolada) (TABELA 1).

À microscopia ótica as palhetas de sêmen resfriado e reaquecido a 36°C apresentaram valores de motilidade progressiva de 85% e vigor 4; as de sêmen congelado e reaquecido apresentaram motilidade progressiva de 50% e vigor 3 (TABELA 2).

TABELA 1 - PARÂMETROS E VALORES AVALIADOS NO TOURO DOADOR DE SÊMEN.

| PARÂMETROS AVALIADOS | VALORES |
|-------------------------|---------|
| Circunferência escrotal | 37 cm |
| Volume de ejaculado | 9,5 mL |
| Motilidade inicial | 95 % |
| Vigor inicial | 4 |
| Defeitos menores | 2 % |
| Defeitos maiores | 9,5 % |

TABELA 2 - VALORES DE MOTILIDADE PROGRESSIVA E VIGOR APÓS REAQUECIMENTO DO SÊMEN.

| | MOTILIDADE PROGRESSIVA | VIGOR |
|-----------------|------------------------|-------|
| Sêmen Resfriado | 85% | 4 |
| Sêmen Congelado | 50% | 3 |

Maziero et al. (2009), afirmam a existência de uma clara associação entre o potencial de fertilização e o movimento espermático de amostras seminais, na qual se observa relação entre ausência de movimento e quadros de infertilidade.

Boland e Gordon (1979), relataram que a taxa de fertilidade foi maior e a taxa de mortalidade de embriões, menor, ao se usar sêmen fresco ou resfriado, quando comparado ao sêmen congelado. Em experimento com 73 novilhas, divididas em três grupos, foram verificadas porcentagens de embriões viáveis de 80, 75 e 62,5%, respectivamente.

3.2 Comparação entre grupos de novilhas

O total de novilhas prenhes considerando-se os dois grupos foi de 46 animais, ou 47,92%, que é um número similar ao observado em novilhas por outros autores

como em trabalhos realizados por Sá Filho et al. (2010), Sá Filho et al. (2008b) e Torres-Júnior et al. (2005).

Sá Filho et al. (2008b), observaram que no início do tratamento visando à IATF a condição corporal dos animais tem efeito significativo sobre o diâmetro folicular no momento da IATF, e as novilhas com escore de condição corporal igual ou superior a 3,25 apresentaram maior diâmetro folicular e taxas de prenhez mais elevadas.

O grupo G1 e o grupo G2 apresentaram 23 gestações cada um, ou seja, 48,94% e 46,94% respectivamente. Não houve diferença estatística significativa entre os grupos ($P > 0,05$), conforme observado na TABELA 3. Apesar da taxa de motilidade espermática e vigor do sêmen após reaquecimento ter sido maior no sêmen resfriado que no congelado, não houve diferença refletida em índices de gestação, como sugerido por Boland e Gordon (1979) e Maziero (2009). Crespilho (2010) teve resultados significativamente maiores em gestações quando utilizou sêmen resfriado por até 24 horas em relação ao sêmen congelado, e considerou o sêmen resfriado como alternativa viável econômica e biologicamente. Garcia et al. (1999) obtiveram resultados favoráveis com a utilização de sêmen resfriado por 8 horas, porém quando utilizaram sêmen resfriado por 32 horas não encontraram diferenças com o sêmen congelado.

Em relação ao diâmetro dos folículos dominantes (FD) pré-ovulatórios no dia D10, foram divididos grupos que se relacionavam entre si:

- diâmetro dos folículos do Grupo 1 comparado a diâmetro dos folículos do Grupo 2;
- diâmetro dos folículos entre as novilhas que apresentaram prenhez 28 dias depois comparado a diâmetro dos folículos entre as novilhas não-prenhes;

- diâmetros de folículos pré-ovulatórios entre as novilhas que se apresentaram ovuladas no dia da inseminação e apresentaram prenhez, comparadas às novilhas que se apresentaram ovuladas, porém não apresentaram prenhez, às novilhas que não haviam ovulado e estavam prenhes e às novilhas que não haviam ovulado e também não estavam prenhes (TABELAS 3 e 4).

TABELA 3 - DIFERENÇAS ENTRE TAXAS DE GESTAÇÃO NA INSEMINAÇÃO COM SÊMEN RESFRIADO E SÊMEN CONGELADO E ENTRE DIÂMETROS DE FOLÍCULOS DOMINANTES PRÉ-OVULATÓRIOS PRESENTES NOS DOIS GRUPOS DE NOVILHAS NELORE.

| | GRUPO 1 | GRUPO 2 |
|----------------|------------------------------|------------------------------|
| Taxa prenhez % | 48,94 (23/47) | 46,94 (23/49) |
| Ø FD ao D10 | 1,4277 ± 0,0551 ^a | 1,5980 ± 0,0551 ^b |

Médias com letras distintas nas linhas diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de $P < 0,05$.

TABELA 4 - DIÂMETROS DOS FOLÍCULOS DOMINANTES COMPARATIVOS ENTRE AS NOVILHAS QUE APRESENTARAM PREENHEZ E AS NÃO-PREENHES, DE MODO GERAL, E SEPARADAS ENTRE AS OVULADAS E AS NÃO OVULADAS AO MOMENTO DA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL.

| | PREENHES | NÃO-PREENHES |
|--------------------------|-----------------|-----------------|
| Ø FD pré-ovulatório | 1,5261 ± 0,0578 | 1,5040 ± 0,0578 |
| Ø FD, ovulado em D11 | 1,6200 ± 0,0729 | 1,5750 ± 0,0729 |
| Ø FD, não ovulado em D11 | 1,4806 ± 0,0729 | 1,4444 ± 0,0729 |

Médias com letras distintas nas linhas diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de $P < 0,05$.

Houve diferença significativa ($P < 0,05$) entre os diâmetros de folículos de G1 e G2, sendo que o G2 apresentou maior média de diâmetros foliculares. Porém, ao contrário do que relataram Sá Filho et al. (2008b), em cujo trabalho foi observada maior probabilidade de prenhez conforme maior fosse o diâmetro do folículo da novilha no momento da inseminação, no presente estudo não foi observado este efeito significativamente superior em nenhum dos grupos.

Em relação à ovulação, o acetato de deslorelina utilizado mostrou-se eficaz no D11 do protocolo. 39,58% das novilhas já haviam ovulado. Estas observações estão de acordo com estudos prévios sobre a utilização do acetato de deslorelina como indutor de ovulação, em vacas leiteiras e em éguas (Melo et al., 2005; Bartolome et al., 2004).

No caso das novilhas que apresentaram ovulação antes da inseminação (FD ovulados em D11), também não houve diferenças estatísticas significativas quando relacionadas com a prenhez. Roelofs et al. (2006) e Dalton e Saacke (2007) sugeriram que, para melhorar os índices de prenhezes, a IA deve ser realizada próxima ao momento da ovulação (aproximadamente 30 horas após o início do cio), mas preferencialmente anterior a ela, para impedir que o oócito envelheça e permitir a melhoria da disponibilidade espermática para fecundação.

Neste estudo pôde-se observar a viabilidade da inseminação artificial feita com sêmen colhido e processado a campo, com taxas de prenhez similares às de outros trabalhos citados (Baruselli et al., 2006; Claro Filho et al., 2010; Sá Filho et al., 2010), tanto em relação ao sêmen quanto em relação à introdução das novilhas à fase reprodutiva.

No período experimental os animais ainda encontravam-se em recuperação proveniente de uma estiagem forte ocorrida nos meses anteriores (junho a novembro), nos quais a chuva foi escassa e a umidade relativa do ar encontrava-se em torno dos 50%. Restle et al. (1999) constataram que a reprodução de novilhas, atrelada à sua puberdade, se dá por consequência da velocidade de ganho de peso, que por sua vez está condicionado ao meio ambiente. Costa e Silva et al. (2010) relatam que o comportamento sexual das fêmeas pode ser diminuído por exposição a temperaturas altas, inclusive com redução da manifestação do tempo de cio.

3.3 Análises de cortisol plasmático

Os resultados obtidos de cortisol sanguíneo foram, em média: D0 = $199,24 \pm 29,83$, D8 = $87,20 \pm 24,11$, e D11 = $177,68 \pm 36,35$ (TABELA 5).

Os valores de cortisol plasmático variaram muito entre os autores pesquisados; Dunn em 1990 encontrou valores acima de 93 ng/mL ao manter bovinos em

decúbito dorsal durante apenas 103 segundos; em revisão, Grandin (1997) encontrou valores diferentes em diversos experimentos, variando de 0,5 ng/mL a 100 ng/mL.

Segundo Grandin (1997), os níveis de cortisol são altamente variáveis e comparações de valores absolutos não deveriam ser feitas entre estudos diferentes, já que o estresse submetido aos animais varia a cada experimento. Esses autores ressaltaram lembrar que o cortisol é uma medida dependente do tempo, e que seus valores levam de 10 a 20 minutos para atingir valores de pico. Assim, procedimentos rápidos seriam terminados antes mesmo dos valores de cortisol subirem.

TABELA 5 - DIFERENÇAS ENTRE NÍVEIS SÉRICOS DE CORTISOL EM D0, D8 E D11 E RESULTADOS DE PREENHEZ INDIVIDUAL.

| NOVILHA Nº | D0 | D8 | D11 | MÉDIAS | PRENHEZ |
|----------------------|----------------|----------------|----------------|--------|----------|
| 1 | 197,59 | 46,05877 | 173,4258 | 197,59 | POSITIVA |
| 2 | 142,51 | 84,16993 | 96,03795 | 107,57 | POSITIVA |
| 3 | 70,52 | 42,45294 | 166,6585 | 93,21 | NEGATIVA |
| 4 | 224,94 | 91,77451 | 303,2446 | 206,65 | POSITIVA |
| 5 | 182,97 | 53,40392 | 168,8789 | 135,08 | NEGATIVA |
| 6 | 226,00 | 35,00009 | 176,5382 | 145,85 | POSITIVA |
| 7 | 259,72 | 106,9665 | 286,7838 | 217,82 | NEGATIVA |
| 8 | 307,95 | 130,296 | 100,0941 | 179,45 | POSITIVA |
| 9 | 251,02 | 32,86532 | 286,8982 | 190,26 | NEGATIVA |
| 10 | 167,52 | 207,0488 | 94,85508 | 156,47 | NEGATIVA |
| 11 | 230,96 | 112,84 | 212,6782 | 185,49 | POSITIVA |
| 12 | 197,59 | 129,1957 | 91,02074 | 139,27 | NEGATIVA |
| 13 | 130,85 | 61,57 | 152,7037 | 115,04 | POSITIVA |
| Média ± D. Padrão | 199,24 ± 29,83 | 87, 20 ± 24,11 | 177,68 ± 36,35 | | |

Neste experimento encontramos médias altas de níveis de cortisol. Isso pode ser proveniente do uso de novilhas, assim como observado por Tenessen et al. (1984), que afirmaram que novilhas e vacas tem os níveis de cortisol mais alto que touros, bois e bezerros. Além disso, verificaram que o manejo do animal no início de sua vida tem efeito mais tarde sobre a sua resposta fisiológica a situações estressoras. As novilhas utilizadas em nosso experimento foram criadas em manejo extensivo, e se deslocavam correndo por aproximadamente 1,5 a 2 km até a

chegada ao curral de manejo. Grandin (1997) afirmou que animais criados em manejo constante tinham menores níveis de cortisol após contenção, quando comparados a animais que eram criados soltos.

No presente experimento foram avaliados os níveis sanguíneos de cortisol para verificar a correlação com a ocorrência da prenhez. Isto não foi observado, sendo a média de cortisol sérico apresentadas pelas novilhas que emprenharam de $162,52 \pm 18,46$, e das novilhas que não emprenharam, de $155,35 \pm 20,05$ ($P \geq 0,05$).

4 CONCLUSÃO

Ao se comparar as taxas de prenhez relativas à inseminação artificial em tempo fixo utilizando o sêmen resfriado e o sêmen congelado, não foram observadas diferenças estatísticas significativas.

Houve diferença significativa ($P < 0,05$) entre os diâmetros dos folículos pré-ovulatórios dos grupos inseminados com sêmen resfriado e congelado, porém não foram observadas relações destes com as taxas de fecundidade.

Os níveis elevados de cortisol sérico não tiveram relação com a quantidade de prenhezes apresentadas pelas novilhas.

Pôde-se confirmar a possibilidade de utilização do acetato de deslorelina como indutor de ovulação.

REFERÊNCIAS

AMBROSE, J. D.; PIRES, M. F.; MOREIRA, F. et al. Influence of deslorelin (GnRH-agonist) implant on plasma progesterone, first wave dominant follicle and pregnancy in dairy cattle. **Theriogenology**, v. 50, n. 7, p. 1157 -1170. 1998.

ASBIA – Associação Brasileira de Inseminação Artificial. **Relatório estatístico de exportação, importação e comercialização de sêmen**. 2010. Disponível em: <<http://www.asbia.org.br/novo/upload/mercado/relatorio2010.pdf>> Acesso em: 09/05/2011.

Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne. ABIEC. 2009. **Pecuária Brasileira**. Disponível em: <<http://www.abiec.com.br>> Acesso em: 26/09/2010.

BARTOLOME, J. A.; SANTOS, J. E. P.; PANCARCI, S. M. et al. Induction of ovulation in nonlactating dairy cows and heifers using different doses of a deslorelin implant. **Theriogenology**, v. 61, p. 407 - 419, 2004.

BARUSELLI, P. S.; AYRES, H., SOUZA, A. H. et al. **Impacto da IATF na eficiência reprodutiva em bovinos de corte**. In: Biotecnologia da reprodução em bovinos (2º Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada) **Anais...** Londrina, 2006. p. 113 a 132.

BOLAND, M. P.; GORDON, I. Fertilization and embryo survival in the beef heifer. **Animal Breeding Research Report**, v. 1976-77, p. 71-72, 1979.

BORGES, A. M.; **Influência de diferentes manejos e tratamentos hormonais na dinâmica ovariana durante o ciclo estral e no anestro pós-parto de vacas Gir e Nelore**. 136f. Viçosa, 2001. Tese (doutorado). Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa.

BORGES, M. C. B.; **Efeito do estradiol associado ao progestágeno sobre a taxa de sincronização do estro, de ovulação e prenhez em vacas zebuínas lactantes no pós-parto**. 48f. Viçosa, 2006. Dissertação (mestrado). Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Viçosa.

CBRA – Colégio Brasileiro de Reprodução Animal. **Manual para exame andrológico e avaliação do sêmen animal**. Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal. 2. ed. 1998. 49 p.

CLARO JÚNIOR, I.; SÁ FILHO, O. G.; PERES, R. F. G. et al. Reproductive performance of prepubertal Bos indicus Heifers after progesterone-based treatments. **Theriogenology**, v. 74, i. 6, p.903 - 911, 2010.

COOKE, R. F.; BOHNERT, D. W.; MENEGHETTI, M. et al. Effects of temperament on pregnancy rates to fixed-timed AI in Bos indicus beef cows. **Livestock Science**, v.142, p. 108-113, 2011.

COSTA E SILVA, E. V.; KATAYAMA, K. A.; MACEDO, G. G. et al. Efeito do manejo e de variáveis bioclimáticas sobre a taxa de gestação em vacas receptoras de embriões. **Ciência Animal Brasileira**, v. 11, n. 2, p. 280 a 291, 2010.

CRISPILHO, A. M. **Avaliação de diferentes metodologias de preservação do sêmen bovino para a utilização em programas de inseminação artificial em tempo-fixo (IATF)**. 2010. Botucatu, 97f. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia.

CRESPILHO, A. M.; PAPA, F. O.; ALBERTI, K. et al. Eficiência comparativa entre dois diluidores para a congelação de sêmen bovino sobre os padrões de motilidade e integridade de membrana plasmática. **ARS veterinária**, Jaboticabal, SP, Vol. 22, nº3, 229-235, 2006.

DALTON, J. C. Semen evaluation and fertility in the field. Biotecnologia da Reprodução em Bovinos (4º Simpósio Internacional de Reprodução Animal) **Anais...** Londrina, p. 101 a 116, 2010.

DALTON, J. C.; SAAKE, R. G. Parâmetros da qualidade do sêmen para programas de sincronização. In: Curso novos enfoques na produção e reprodução de bovinos. **Anais...** Uberlândia, p. 154 a 161, 2007.

DOBSON, H.; TEBBLE, J. E.; SMITH, R. F. et al. Is stress really all that important?. **Theriogenology**, v. 55, p. 65-73, 2001.

DROBNIS, E. Z.; CROWE, L. M.; BERGER, T. et al. Cold shock damage is due to lipid phase transitions in cell membranes - a demonstration using sperm as a model. **The Journal of Experimental Zoology** n. 265, p. 432 a 437, 1993.

DUNN, C. S.. Stress reactions of cattle undergoing ritual slaughter using two methods of restraint. **Veterinary Record**. v.126, p. 522, 1990.

FONSECA, V.O.; SANTOS, N.R.; MALINSKI, P.R. Classificação andrológica de touros zebus (*Bos taurus indicus*) com base no perímetro escrotal e características morfo-físicas do sêmen. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.21, n.2, p.36-39, 1997.

FOOTE, R. H.; BRATTON, R. W. Survival of bovine spermatozoa stored at 5 and 25°C in extenders containing varying levels of egg yolk, glucose, glycine, glycerol, citrate and other salts. **Journal of Dairy Science**, v. 43, n. 9, p. 1322 a 1329, 1960.

GARCIA, A. R.; ARRUDA, R. P.; MADUREIRA, E. H. et al.. Influência do uso de sêmen resfriado e da aplicação de GnRH sobre a taxa de prenhez de novilhas Nelore inseminadas em tempo-fixo. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.23, n.3, p.342-344, 1999.

GARCIA, A.R.; ARRUDA, R.P.; MADUREIRA, E.H. et al.. Influência do uso de sêmen resfriado e da aplicação de GnRH sobre a taxa de prenhez de novilhas Nelore inseminadas em tempo-fixo. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.23, n.3, p.342-344, 1999.

GRANDIN, T.. Assesment of stress during handling and transport. **Journal of Animal Science**, v.75, p. 249-257, 1997

INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA -INMET. Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento. 2012. Disponível em: <www.inmet.gov.br>.

LOPES, F. G.; GUIMARÃES, J. D.; COSTA, E. P. et al. Avaliação andrológica por pontos e comportamento sexual em touros da raça Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.6, p.1018 a 1025, 2009.

MAZIERO, R. R. D.; CRESPILO, A. M.; FREITAS DELL'AQUA, C. P. et al. Análise de sêmen bovino e sua relação com a fertilidade. **Revista Brasileira de Reprodução Animal Supl.** n. 5, p. 5 - 10, 2010.

MELO, C. M.; PAPA, F. O.; MEDEIROS, A. S. L. et al. Efeito da deslorelina e do extrato de pituitária equina na indução da ovulação em éguas. In: Reunião Anual do SBTE, 2005, **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 33, p. 193, 2005.

PAPA, F. O.; CRESPILO, A. M.; FREITAS DELL'AQUA, C. P. et al. Impacto do sêmen no sucesso dos programas de IATF: métodos básicos e avançados de avaliação. Biotecnologia da Reprodução em Bovinos (3º Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada) **Anais...** Londrina, 2008. p. 78 a 94.

RESTLE, J.; POLLI, V. A.; SENNA, D. B.. Efeito de grupo genético e heterose sobre a idade e peso à puberdade e sobre o desempenho reprodutivo de novilhas de corte. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.34, n.4, p.701-707, 1999.

ROELOFS, J. B.; GRAAT E. A. M.; MULLAART, E. et al. Effects of insemination-ovulation interval of fertilization rates and embryo characteristics in dairy cattle. **Theriogenology**, v. 66, i. 9, p. 2173 a 2181, 2006.

RUAS, J. R. M.; TORRES, C. A. A.; BORGES, L. E. et al. Concentrações plasmáticas de colesterol, glicose e uréia em vacas zebuínas, em relação à condição corporal e *status* reprodutivo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n.6, p. 2036 - 2042, 2000.

RUEDA, P. M.; **Alterações comportamentais e hematológicas em vacas Nelore submetidas a protocolo de inseminação artificial em tempo fixo**. 53f. Campo Grande, 2009. Dissertação (mestrado). Pós-Graduação em Ciência Animal. Universidade Federal do Mato Grosso do Sul.

SÁ FILHO, M. F.; GIMENES, L. U.; SALES, J. N. et al. IATF em novilha. Biotecnologia da Reprodução em Bovinos (3º Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada) **Anais...** Londrina, p. 54 a 67, 2008a.

SÁ FILHO, M. F.; MARQUES, M. O.; BARUSELLI, P. S. Indução de ciclicidade e IATF em novilhas zebuínas. Biotecnologia da Reprodução em Bovinos (4º Simpósio Internacional de Reprodução Animal) **Anais...** Londrina, p. 79 a 100, 2010.

SÁ FILHO, M. F.; SALES, J. N. S.; CREPALDI, G. A. et al. Effect of different ovulation inductors on pregnancy rates of Nelore (*Bos indicus*) heifers synchronized to fixed-time artificial insemination.. In: II International Symposium on Animal Biology of Reproduction, 2008, São Paulo. **Animal Reproduction**, v. 6. p. 307-307, 2008b.

SANTOS, L. L.; SEABRA JUNIOR, S.; NUNES, M. C. M.. Luminosidade, temperatura do ar e do solo em ambientes de cultivo protegido. **Revista de Ciências Agro-Ambientais**, v.8, n.1, p.83- 93, 2010.

SCHUH, H. Comparison between liquid and deep-frozen semen for artificial insemination in developing and developed countries. **World Animal Review**, v. 70-71, p. 44 a 53. 1992.

TENESSEN, T., PRICE, M. A., BERG, R. T. Comparative responses of bulls and steers to transportation. **Canadian Journal of Animal Science**. V. 64, p. 333, 1984.

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

WATSON, P.F. The causes of reduced fertility with cryopreserved semen. **Animal Reproduction Science**, v.60-61, p.481-492, 2000.