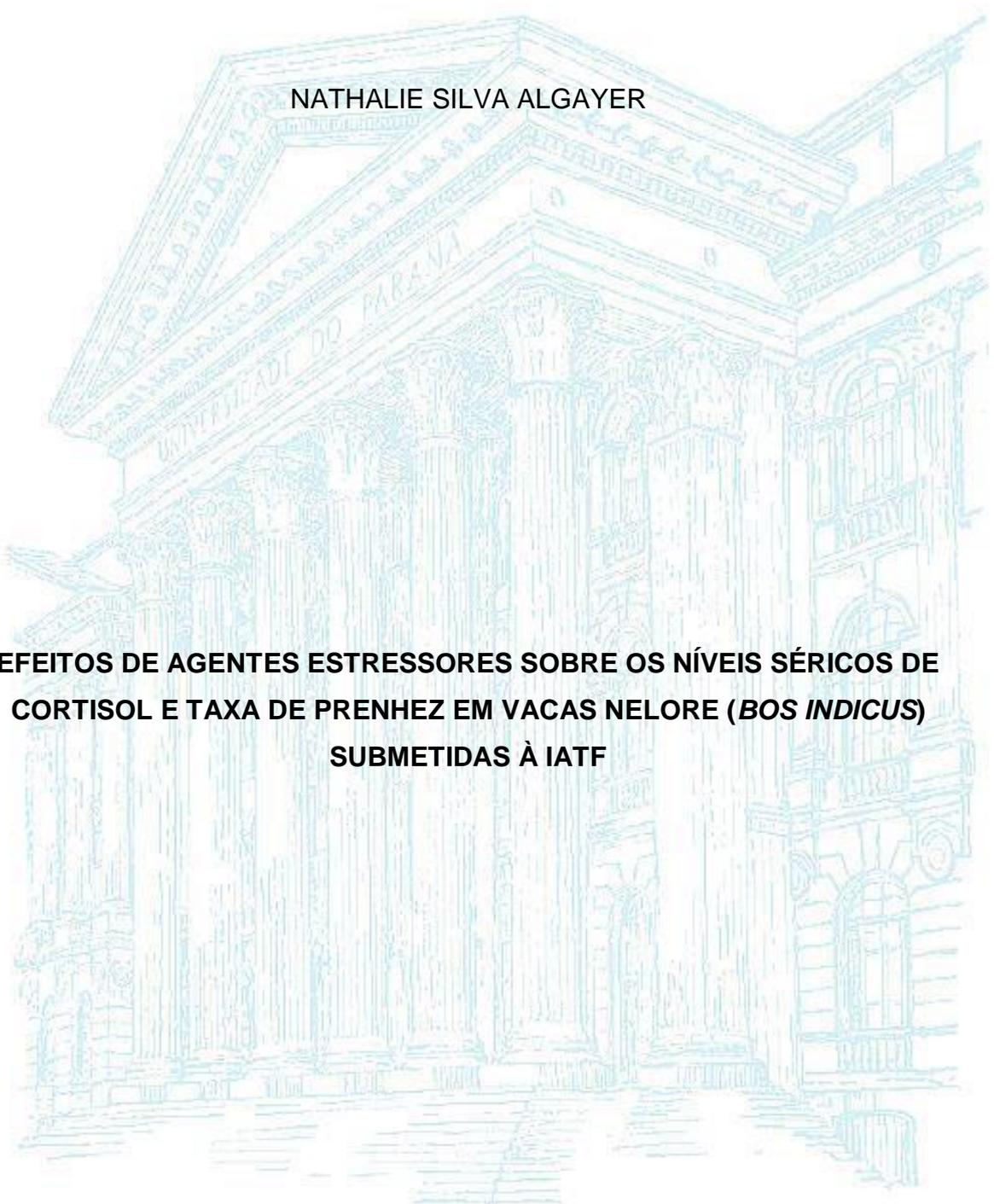


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

NATHALIE SILVA ALGAYER



**EFEITOS DE AGENTES ESTRESSORES SOBRE OS NÍVEIS SÉRICOS DE  
CORTISOL E TAXA DE PREENHEZ EM VACAS NELORE (*BOS INDICUS*)  
SUBMETIDAS À IATF**

CURITIBA

2016

NATHALIE SILVA ALGAYER

EFEITOS DE AGENTES ESTRESSORES SOBRE OS NÍVEIS SÉRICOS DE  
CORTISOL E TAXA DE PREENHEZ EM VACAS NELORE (*BOS INDICUS*)  
SUBMETIDAS À IATF

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Zootecnia, no Curso de Pós-Graduação em Zootecnia, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Rossi Junior

CURITIBA

2016

A394 Algayer, Nathalie Silva

Efeitos de agentes estressores sobre os níveis séricos de cortisol e taxa de prenhez em vacas Nelore (*Bos Indicus*) submetidas à IATF. Nathalie Silva Algayer. / Curitiba: 2016.  
82 f. il.

Orientador: Paulo Rossi Junior  
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná.  
Setor de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia.

1. Bovino de corte – Reprodução. 2. Inseminação artificial.  
I. Rossi Junior, Paulo. II. Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia.  
III. Título.

CDU 636.2.033.082.4

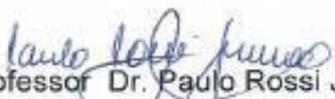
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA



PARECER

A Comissão Examinadora da Defesa da Dissertação intitulada “EFEITOS DE AGENTES ESTRESSORES SOBRE OS NÍVEIS SÉRICOS DE CORTISOL E TAXA DE PRENHEZ EM VACAS NELORE (*BOS INDICUS*) SUBMETIDAS À IATF” apresentada pela Mestranda **NATHALIE SILVA ALGAYER** 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 **APTA** para receber o Título de Mestre em Zootecnia, na Área de Concentração em Nutrição e Produção Animal.

Curitiba, 10 de maio de 2016.

  
Professor Dr. Paulo Rossi Júnior  
Presidente/Orientador

  
Professora Dra. Simone Gisele de Oliveira  
Membro

  
Professor Dr. Romaldo Romualdo Weiss  
Membro

Aos meus pais Olson e Elza,  
Aos meus avós Ursula, Günther e Maragarita  
Fontes de incentivo e amor.

**Dedico**

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus, por sempre me atender em orações e abençoar o meu caminho.

Aos meus pais por toda a força e incentivo. Por me ajudarem sem medir esforços para que eu alcançasse minhas conquistas. Graças a eles hoje sou quem sou.

Aos meus avós queridos Ursula, Günther e Margarita por toda a torcida, apoio e orações. Fui muito abençoada por ter vocês em minha vida.

Aos meus irmãos Catalina e Gui pelo apoio, muitas vezes peculiar! Mas sei que mesmo depois de brigas feias eles estavam comigo para o quer der e vier.

Ao meu Professor orientador Paulo Rossi Junior por me conceder essa oportunidade, pela ajuda no desenvolvimento desse projeto, por contribuir para meu crescimento acadêmico e profissional.

À Aliança Assessoria Pecuária pelo comprometimento, por ter incentivado e viabilizado este trabalho.

À Beckhauser pelo apoio financeiro essencial para que obtivéssemos os resultados desse estudo

À Nivea, Eliane e Guilherme, do Laboratório de Estatística Aplicada (LEA), pelo auxílio nas análises estatísticas, pela paciência, atenção, tempo dispendido e comprometimento.

À Professora Rosana Morais, do Laboratório de Fisiologia Endócrina e Reprodução Animal (LFERA), pela realização das análises laboratoriais.

Ao Professor Romildo Weiss e Simone Gisele de Oliveira, por participarem da minha banca de qualificação, agregarem conhecimentos e realizarem considerações para que este trabalho fosse melhorado.

À professora Ananda por me ajudar durante esses dois anos em diversos momentos, sempre disposta e receptiva.

À CAPES pela concessão da bolsa ao longo do mestrado

Às minhas amigas da vida, Bia, Gika, Jé, Helen e Rebs! Que estavam ali todas as horas sempre que precisei, para me aconselhar, me ajudar, para sair e dar aquela espairecida, para ouvir meus desabafos infinitos e repetitivos. Muito obrigada, tudo isso foi muito importante para mim.

Às minhas veterinárias, pelo apoio, amizade e pelos momentos inesquecíveis que me proporcionaram. Por serem minhas companheiras, pelas saídas, noites das meninas, risadas e conversas!

Às minhas amigas que fiz no mestrado, Álida e Tais, pela compreensão e parceria nas ocasiões difíceis dessa jornada.

Ao meu amado Gustavo, pelo apoio incondicional em todos os momentos, pela força e incentivo. Por acreditar em mim e na minha capacidade mais do que eu mesma. Pelos finais de semana e noites mal dormidas, nos quais optou por me ajudar. Pelo auxílio na escrita e na realização deste trabalho. Por sempre estar ali para o que der e vier. Por ser meu porto seguro e inspiração.

*“A persistência é o menor caminho do êxito.”*

*Charles Chaplin*

## RESUMO

A pecuária de corte é uma atividade representativa no Brasil e contribui expressivamente para a economia. No entanto, os índices de produtividade estão abaixo do desejado e do potencial do país, de modo que a baixa eficiência reprodutiva do rebanho tem colaborado para isto. A dificuldade de se obter um bezerro/vaca/ano, atrelada à alta incidência de anestro pós-parto atua fortemente nesta eficiência reprodutiva insatisfatória. Assim, protocolos que buscam sincronizar o estro dos animais e aumentar a taxa de serviço, os chamados protocolos de Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF), vêm sendo empregados, oferecendo inúmeras vantagens. Paralelo ao uso dos protocolos de sincronização, que buscam melhorar a eficiência reprodutiva, um fator que comprovadamente diminui a fertilidade e acontece rotineiramente na pecuária é o estresse. Os fatores liberados nesse mecanismo agem diretamente sobre o eixo hipotálamo-hipófise-gonadal, inibindo a reprodução. Os objetivos deste trabalho foram verificar se os agentes estressores que ocorrem no manejo da IATF (Inseminação Artificial em Tempo Fixo) e os níveis séricos de cortisol têm efeito sobre as taxas de prenhez em fêmeas *Bos indicus*. Foram utilizadas 261 vacas *Bos indicus*, múltiparas, saudáveis, lactantes paridas (30 a 45 dias pós-parto), com idade média de 6,6 ( $\pm$  1,45) anos e escore de condição corporal (ECC) entre 2,5 e 3 (na escala de 1 a 5, em que 1= muito magra e 5= muito gorda). O mesmo protocolo de IATF foi aplicado a todos os animais. Foram utilizados três inseminadores e sêmen de um único touro. O diagnóstico de gestação foi realizado de 28 a 32 dias após a inseminação, com uso de ultrassom transretal. Foram considerados agentes estressores: Tempo no Brete, Tempo no Tronco, Tempo Total, Distância Invernada Curral, Distância Curral Invernada, Distância Total Percorrida, Tempo sem Bezerro e Tempo no Curral. Para verificar se houve correlação entre o horário de coleta e os níveis de cortisol foi realizada a correlação de Spearman. O efeito dos agentes estressores sobre a probabilidade de gestação foi aferido por meio da análise de regressão logística, enquanto que o efeito dos níveis de cortisol sobre a gestação foi determinado pelo teste Mann-Whitney. Houve efeito do meio (inseminador, fazenda e mês) e do Tempo no Tronco sobre as chances de prenhez ( $p < 0,05$ ), de maneira que, quanto maior o Tempo no Tronco, menor a chance da prenhez. Isto mostra que esse agente estressor foi eficaz em inibir a reprodução, afetando a eficiência reprodutiva em vacas *Bos indicus* submetidas a um protocolo de IATF. A taxa de prenhez não foi afetada pelos níveis séricos de cortisol ( $p > 0,05$ ).

**Palavras-chave:** eficiência reprodutiva; estresse; IATF; manejo no curral; reprodução; tempo no tronco.

## ABSTRACT

The beef cattle livestock is a representative activity in Brazil and contributes significantly to the economy. However, productivity rates are below desired and below the potential of the country, so that the herd's low reproductive efficiency has contributed to this. The difficulty of obtaining a calf / cow / year, linked to the high incidence of postpartum anestrus acts strongly on this poor reproductive efficiency. Therefore, the protocols that seek synchronize the animals estrus and increase the service charge, the so called protocols of Fixed-Time Artificial Insemination (FTAI), have been employed, offering numerous advantages. Parallel to the use of synchronization protocols which seek the improvement of the reproductive efficiency, a proven factor that decreases the fertility and happens routinely in livestock is stress. The factors released in this mechanism act directly on the hypothalamic-pituitary-gonadal axis by inhibiting the reproduction. The objectives of this work were to verify if the stressing agents occurring during the handling of the Fixed-Time Artificial Insemination (FTAI) and the serum cortisol levels have an effect on the pregnancy rate of female *Bos indicus*. There were used 261 suckling cows *Bos indicus* (30 to 45 days postpartum), multiparous, healthy, with ages averaging 6.6 ( $\pm 1.45$ ) years and with body condition score between 2.5 and 3 (in the scale of 1 to 5, in which 1=very thin and 5=very fat). The same FTAI protocol was applied to all animals. Three inseminators and the semen of one only bull were used. The pregnancy diagnosis was made by transrectal ultrasonography 28 to 32 days after the insemination. The following stressing agents were considered: time in the pen, time in the chute, total time, distance between pasture and corral, distance between corral and pasture, time without calf, time in the corral. The Spearman correlation was used to verify if there was a relation between the collection time and the cortisol levels. The effect of the stressing agents on the pregnancy probability was measured by logistic regression analysis, while the effect of the cortisol levels on pregnancy was determined by the Mann-Whitney test. There was an effect of the means (inseminator, farm and month) and the time in the chute on the pregnancy rates ( $p < 0.05$ ), in a way that the longer the time in the chute, the smaller the pregnancy rate. This shows that the time in the chute was able to inhibit the reproduction, affecting the reproductive efficiency of *Bos indicus* cows subjected to a FTAI protocol. The pregnancy rate was not affected by the serum cortisol levels ( $p > 0.05$ ).

**Keywords:** FTAI; handling in the corral; reproduction; reproductive efficiency; stress; time in the squeeze chute.

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. FASES DO CICLO ESTRAL DA FÊMEA BOVINA .....	17
FIGURA 2. ONDAS FOLICULARES DURANTE O CICLO ESTRAL DA FÊMEA BOVINA.....	19
FIGURA 3. PRODUÇÃO DE ESTRADIOL PELAS CÉLULAS FOLICULARES.....	20
FIGURA 4. REPRESENTAÇÃO DOS FOLÍCULOS PRIMORDIAL, PRIMÁRIO, SECUNDÁRIO, TERCÁRIO E PRÉ-OVULATÓRIO, DA ESQUERDA PARA A DIREITA, RESPECTIVAMENTE .....	21
FIGURA 5. INTERAÇÕES HORMONAIIS DURANTE O CICLO ESTRAL DA FÊMEA BOVINA.....	23
FIGURA 6. ESQUEMA DA DINÂMICA HORMONAL DURANTE O CICLO ESTRAL DE UMA FÊMEA BOVINA COM DUAS ONDAS FOLICULARES .....	24
FIGURA 7. RESPOSTAS AO ESTRESSE E CONSEQUÊNCIAS DESTE A PARTIR DE UM ESTÍMULO ESTRESSOR RECONHECIDO COMO AMEAÇA À HOMEOSTASE .....	31
FIGURA 8. RESPOSTA DO SISTEMA NERVOZO SIMPÁTICO E DO EIXO HIPOTÁLAMO-HIPÓFISE-ADRENAL A PARTIR DO RECONHECIMENTO DA AMEAÇA À HOMEOSTASE, QUANDO O ANIMAL RECEBE UM ESTÍMULO ESTRESSOR.....	36
FIGURA 9. MECANISMOS DE CONTROLE DO EIXO HIPOTÁLAMO-HIPÓFISE-ADRENAL .....	37
FIGURA 10. AÇÃO DO ESTRESSE SOBRE A REPRODUÇÃO .....	46
FIGURA 11. PROTOCOLO DE IATF UTILIZADO PARA A SINCRONIZAÇÃO DO CICLO ESTRAL DAS VACAS DURANTE O EXPERIMENTO .....	65

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1. CARACTERÍSTICAS GEOGRÁFICAS E METEOROLÓGICAS DAS FAZENDAS ONDE FOI REALIZADO O EXPERIMENTO .....	64
TABELA 2. DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS NOS LOTES, FAZENDAS E MESES DO EXPERIMENTO .....	65
TABELA 3. UNIDADE, FORMA DE COLETA E MENSURAÇÃO DAS VARIÁVEIS CONSIDERADAS AGENTES ESTRESSORES .....	67
TABELA 4. ANÁLISE DESCRITIVA DAS VARIÁVEIS CONSIDERADAS AGENTES ESTRESSORES E DOS NÍVEIS SÉRICOS DE CORTISOL (NG/ML) PARA AS VACAS GESTANTES .....	69
TABELA 5. ANÁLISE DESCRITIVA DAS VARIÁVEIS CONSIDERADAS AGENTES ESTRESSORES E DOS NÍVEIS SÉRICOS DE CORTISOL (NG/ML) PARA AS VACAS NÃO GESTANTES .....	69

## LISTA DE SIGLAS

ACTH	-	Hormônio Corticotrófico
AVP	-	Arginina Vasopressina
BE	-	Benzoato de Estradiol
CE	-	Cipionato de Estradiol
CL	-	Corpo lúteo
CRH	-	Hormônio Liberador de Corticotrofina
eCG	-	Gonadotrofina Coriônica equina
FSH	-	Hormônio Folículo Estimulante
GnRH	-	Hormônio Liberador de Gonadotrofinas
H-H-A	-	Hipotálamo-hipófise-adrenal
H-H-G	-	Hipotálamo-hipófise-gonadal
IA	-	Inseminação Artificial
IATF	-	Inseminação Artificial em Tempo Fixo
IHA	-	Interação Humano Animal
LH	-	Hormônio Luteinizante
NPV	-	Núcleo paraventricular
PGF2 $\alpha$	-	Prostaglandina F2 $\alpha$
PIB	-	Produto Interno Bruto
SNS	-	Sistema Nervoso
VBP	-	Valor Bruto da Produção

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO I - SINCRONIZAÇÃO DO CICLO ESTRAL E RELAÇÃO ENTRE O ESTRESSE E A REPRODUÇÃO DAS FÊMEAS .....</b>	<b>11</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>11</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>12</b>
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>13</b>
<b>2. BOVINOCULTURA DE CORTE NO BRASIL.....</b>	<b>13</b>
2.1. PANORAMA DA BOVINOCULTURA DE CORTE .....	13
2.2. DIFICULDADES NO SISTEMA DE CRIA .....	15
<b>3. CICLO ESTRAL E SUA SINCRONIZAÇÃO.....</b>	<b>16</b>
3.1. FASES DO CICLO ESTRAL .....	16
3.2. FISIOLOGIA DO CICLO ESTRAL .....	17
3.2.1. Fase lútea.....	18
3.2.2. Principais funções dos folículos.....	19
3.2.3. Estádios de desenvolvimento dos folículos .....	21
3.2.4. Fase folicular .....	21
3.2.5. Ovulação .....	22
3.2.6. Dinâmica hormonal durante o ciclo estral.....	23
3.3. SINCRONIZAÇÃO DO CICLO ESTRAL.....	24
3.3.1. Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF).....	24
3.3.2. Sincronização da onda folicular e ovulação.....	26
3.3.3. O uso do eCG nos protocolos de IATF .....	27
3.3.4. Panorama da IATF no Brasil.....	28
<b>4. ESTRESSE E A REPRODUÇÃO DA FÊMEA.....</b>	<b>28</b>
4.1. ESTRESSE.....	28
4.1.1. Definição.....	28
4.1.2. Respostas ao estresse .....	30
4.1.3. Estresse e o comportamento dos bovinos.....	32
4.1.4. Situações na bovinocultura de corte que causam estresse .....	33
4.1.5. Alterações fisiológicas causadas pelo estresse.....	34
4.2. AÇÕES DO ESTRESSE SOBRE O EIXO HIPOTÁLAMO-HIPÓFISE-ADRENAL.....	35
4.2.1. Cortisol .....	37

4.3.	AÇÕES NO EIXO HIPOTÁLAMO HIPÓFISE-GONADAL	38
4.3.1.	Ações do CRH e da $\beta$ -Endorfina	41
4.3.2.	Ações da AVP	42
4.3.3.	Ações do ACTH	43
4.3.4.	Ações da progesterona e catecolaminas	43
4.3.5.	Ações dos glicocorticoides	44
4.3.6.	Interação entre o estresse e a reprodução	46
<b>5.</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	<b>47</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>48</b>
	<b>CAPÍTULO II - EFEITOS DE AGENTES ESTRESSORES E DE NÍVEIS SÉRICOS DE CORTISOL SOBRE A TAXA DE PRENHEZ EM VACAS NELORE (<i>Bos indicus</i>) SUBMETIDAS À IATF</b>	<b>60</b>
	<b>RESUMO</b>	<b>60</b>
	<b>ABSTRACT</b>	<b>61</b>
	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>62</b>
	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>63</b>
	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>68</b>
	<b>CONCLUSÕES</b>	<b>75</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>76</b>
	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	<b>81</b>

## CAPÍTULO I - SINCRONIZAÇÃO DO CICLO ESTRAL E RELAÇÃO ENTRE O ESTRESSE E A REPRODUÇÃO DAS FÊMEAS

### RESUMO

Esta revisão visa apresentar as principais dificuldades do sistema de cria brasileiro, a biotécnica mais utilizada para aumentar a eficiência reprodutiva do rebanho e como o estresse pode atuar sobre a reprodução. A pecuária de corte é uma atividade representativa no Brasil e contribui expressivamente para a economia. No entanto, os índices de produtividade estão abaixo do desejado e do potencial do país, de modo que a baixa eficiência reprodutiva do rebanho tem colaborado para isto. A dificuldade de se obter um bezerro/vaca/ano, atrelada à alta incidência de anestro pós-parto atua fortemente nesta eficiência reprodutiva insatisfatória. Assim, protocolos que buscam sincronizar o estro dos animais e aumentar a taxa de serviço, os chamados protocolos de Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF), vêm sendo empregados, oferecendo inúmeras vantagens. Estes protocolos têm por objetivo sincronizar a onda folicular e a ovulação através da administração de hormônios, melhorando os índices de fertilidade. Para os animais *Bos indicus*, que constituem a grande maioria do rebanho brasileiro, os tratamentos que apresentam maior sucesso são à base de análogos de estradiol, progestágenos, prostaglandina F<sub>2α</sub> e recentemente têm se mostrado que o uso do eCG pode atuar melhorando os resultados. Paralelo ao uso dos protocolos de sincronização, que buscam melhorar a eficiência reprodutiva, um fator que comprovadamente diminui a fertilidade e acontece rotineiramente na pecuária é o estresse. O estresse caracteriza-se pela perda da homeostase e desencadeia uma resposta no organismo do animal, que envolve a ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal e do Sistema Nervoso Simpático. Os fatores liberados nesse mecanismo agem diretamente sobre o eixo hipotálamo-hipófise-gonadal, inibindo a reprodução. Deste modo, enquanto biotecnologias avançadas buscam incrementar os índices reprodutivos, situações rotineiras têm efeitos que atuam em sentido contrário. Por isso, é necessário o entendimento das duas situações, buscando melhorar os resultados da primeira e amenizar os efeitos da segunda. Neste sentido, estudos que mostrem o efeito do estresse sobre a reprodução em protocolos de IATF devem ser realizados.

Palavras-chave: fertilidade; IATF; eixo hipotálamo-hipófise-adrenal; eixo hipotálamo-hipófise-gonadal.

## ABSTRACT

This review sought to show the main difficulties in the Brazilian beef cows breeding, the biotechnique most used to enhance the reproductive efficiency of the herd and how does the stress can act on reproduction. The beef cattle livestock is a representative activity in Brazil and contributes significantly to the economy. However, productivity rates are below desired and below the potential of the country, so that the herd's low reproductive efficiency has contributed to this. The difficulty of obtaining a calf / cow / year, linked to the high incidence of postpartum anestrus acts strongly on this poor reproductive efficiency. Therefore, the protocols that seek synchronize the animals estrus and increase the service charge, the so called protocols of Fixed-Time Artificial Insemination (FTAI), have been employed, offering numerous advantages. These protocols aim to synchronize the follicular wave and ovulation through the administration of hormones, improving fertility rates. For *Bos indicus* animals, that constitute the majority of Brazilian's herd, the treatments that show best success are those based on estradiol analogues, progestins, prostaglandin F<sub>2</sub> $\alpha$  and recently it has been shown that the use of eCG can act to improve results. Parallel to the use of synchronization protocols which seek the improvement of the reproductive efficiency, a proven factor that decreases the fertility and happens routinely in livestock is stress. Stress is characterized by the loss of homeostasis and triggers a response in the animal's body that involves the activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and Sympathetic Nervous System. The factors released in this mechanism act directly on the hypothalamic-pituitary-gonadal axis by inhibiting the reproduction. Thus, while advanced biotechnologies seek to increase the reproductive rates, routine situations have effects that act in the opposite direction. Therefore, the understanding of both situations is necessary, seeking to improve the results of the first and ease the effects of the second. In this sense, studies that show the effects of stress on reproduction in FTAI protocols should be performed.

Keywords: fertility; FTAI; hypothalamic-pituitary-adrenal axis; hypothalamic-pituitary-gonadal axis.

## 1. INTRODUÇÃO

A pecuária de corte brasileira tem merecido destaque nos mercados nacional e internacional, pois é uma atividade consolidada em todos os estados do Brasil, é a principal fonte geradora de renda dentre as cadeias de produtos de origem animal e o volume de carne bovina produzida e exportada estão dentre os maiores a nível mundial (ANUALPEC, 2015; AGE/MAPA, 2015). Contudo, os índices produtivos da atividade estão aquém do potencial do país, de maneira que, se esses índices fossem melhorados, o retorno econômico da atividade seria muito maior.

Colaborando com a baixa produtividade e rentabilidade da pecuária está a eficiência reprodutiva insatisfatória. Os índices reprodutivos do rebanho brasileiro são precários e a atividade de cria tem se tornado o maior gargalo da atividade, pois causa um impacto significativo na cadeia. Dessa maneira, estudar os fatores que afetam a reprodução das vacas de corte se torna essencial.

Assim, os objetivos desta revisão bibliográfica são: 1) mostrar o panorama da bovinocultura de corte brasileira abordando as dificuldades enfrentadas pelo sistema de cria; 2) elucidar a fisiologia reprodutiva das fêmeas bovinas e como é possível sincronizar seu ciclo estral buscando aumentar os índices reprodutivos; e 3) Abordar o efeito do estresse sobre a reprodução das fêmeas.

## 2. BOVINOCULTURA DE CORTE NO BRASIL

### 2.1. PANORAMA DA BOVINOCULTURA DE CORTE

A pecuária de corte no país está passando por mudanças significativas nas últimas décadas devido às transformações no cenário político-econômico do país e também à concorrência com outras cadeias de produção de proteína animal, como de aves e suínos (OLVEIRA *et al.*, 2006; MENDES e PADILHA JUNIOR, 2007). Apesar de os índices produtivos estarem aumentando, ainda estão aquém do potencial do país (COSTA E SILVA, 2007). O desempenho insatisfatório da cadeia e a baixa fertilidade do rebanho têm colaborado para este cenário (MACHADO *et al.*, 2008).

A taxa de desfrute do rebanho brasileiro foi de 21,7% no ano de 2014 (ANUALPEC, 2015), esse índice está muito abaixo do potencial real da atividade. Além disso, está distante de índices alcançados por países competitivos como os Estados Unidos e Nova Zelândia, que tiveram no mesmo ano a taxa de desfrute de 35,46% e 42,14%, respectivamente (ANUALPEC, 2015).

No entanto, devido ao volume produzido, a bovinocultura de corte brasileira tem merecido destaque no mercado internacional e também na economia interna (OIAGEN *et al.*, 2006). É realizada em todos os estados do Brasil e consiste em uma importante atividade econômica que compõe o PIB brasileiro (EUCLIDES FILHO e EUCLIDES, 2010). Nos últimos anos, a produção de carne bovina tem se consolidado como a principal fonte geradora de renda dentre as cadeias de produtos de origem animal. Segundo o AGE/MAPA (2015), o Valor Bruto da Produção (VBP) desta cadeia representou sozinho 36,2% de todo o VBP produzido pela pecuária em 2014, atingindo o valor de 65,2 bilhões de reais.

O Brasil lidera o ranking mundial de carne bovina desde 2008 (MAPA, 2015). Em termos de tamanho de rebanho e produção de carne bovina, o Brasil ficou em segundo lugar, perdendo apenas para a Índia. Já em relação às taxas de abate, ocupou também a segunda posição, mas dessa vez permaneceu atrás da China (ANUALPEC, 2015).

Além disso, o Brasil é um dos únicos países que ainda pode expandir sua pecuária de corte, pois possui áreas que podem ser exploradas de forma ecologicamente correta, ao contrário de outros países tradicionais produtores de carne como Austrália e Argentina (MEZZADRI, 2007).

A pecuária extensiva é, sem dúvida, o sistema de produção mais representativo no país. Segundo o IBGE (2007) as pastagens ocupam mais de 172 milhões de hectares, aproximadamente 20% da área agricultável e 48% da área dos estabelecimentos agropecuários do nosso território. De maneira que, apesar de a área de pastagem ter aumentado apenas 4% de 1975 a 2006, o número de animais criados de forma extensiva mais que dobrou nesse período, mostrando o aumento da intensificação da produção (DIAS-FILHO, 2014).

Em relação às características do rebanho brasileiro, 80% dos animais são zebuínos ou cruzamento destes. Sendo que 80% dessa fração, são da raça Nelore ou anelorados, pois estes são mais adaptados as condições climáticas do país (AGUIAR, LEITE e ELOY, 2007).

## 2.2. DIFICULDADES NO SISTEMA DE CRIA

A atividade de cria abrange a reprodução, a maternidade, o aleitamento e a desmama (OLIVEIRA *et al.*, 2006). Esta atividade tem se tornado um dos principais gargalos da pecuária de corte brasileira e merece atenção especial devido ao impacto que causa na cadeia de carne. Trenkle e Willham (1977) calcularam o valor econômico da indústria da carne e verificaram que a reprodução é no mínimo 5 vezes mais importante do que a produção (lactação e crescimento) e 10 vezes mais importante do que a qualidade do produto (carcaça).

Nos últimos anos, mudanças no cenário nacional causaram, em muitas regiões, a troca de pastagens por áreas de culturas agrícolas. Assim, para liberar essas áreas, parte do rebanho brasileiro foi abatido, incluindo também fêmeas em idade reprodutiva. (MEZZADRI, 2013). A produção de bezerros tem sido insuficiente para atender a forte demanda a partir de 2014, estimulando a alta dos preços em toda a cadeia. Para o rompimento deste círculo vicioso, é necessário o aumento substancial da produtividade no sistema de cria (FERRAZ, 2015), já que a baixa produtividade e rentabilidade de todo o sistema está diretamente relacionada à cria (PFEIFER *et al.*, 2008). Dessa forma, técnicos e criadores devem estabelecer como uma das principais metas o incremento da eficiência reprodutiva para obter maior retorno econômico da atividade. (BARUSELLI *et al.*, 2004; ROCHA *et al.*, 2007a). Pode-se resumir a eficiência reprodutiva como a capacidade de emprenhar um animal, pela primeira vez, o mais precocemente possível e com os menores intervalos entre partos ao longo da vida (RADOSTITS e BLOOD, 1986; MONTEIRO e VIANNA, 2011).

Em condições favoráveis, uma vaca tem capacidade de produzir um bezerro por ano (STAGG *et al.*, 1995). Esta meta é mais difícil de ser alcançada no rebanho brasileiro que é majoritariamente constituído por *Bos indicus* (BARUSELLI *et al.*, 2008), pois o tempo de gestação desta subespécie é de 292 dias, 10 dias a mais do que a duração da gestação dos

*Bos taurus*. Assim, as vacas de origem zebuína, tem um prazo menor para emprenhar após o parto, o que dificulta a concepção de um bezerro por ano (BARUSSELI, GIMENES e SALES, 2007). Além disso, vacas criadas em condições

tropicais apresentam alta incidência de anestro pós-parto, isso desencadeia intervalos entre partos muito acima dos ideais (BARUSELLI *et al.*, 2004).

### **3. CICLO ESTRAL E SUA SINCRONIZAÇÃO**

#### **3.1. FASES DO CICLO ESTRAL**

O ciclo estral dos bovinos é definido como um padrão rítmico de eventos fisiológicos e modificações endócrinas que resultam em mudanças morfológicas no sistema reprodutivo e alterações comportamentais. Nos bovinos, o ciclo ocorre aproximadamente a cada 21 dias durante o ano inteiro e pode ser interrompido por gestação, amamentação, subnutrição ou condições patológicas (FERREIRA, 2010).

O estro é o período no qual o folículo está em seu estágio pré-ovulatório e há altas quantidades de estradiol e Hormônio Luteinizante (LH) circulantes (CUNNINGHAM, 2004). Durante esse período a fêmea manifesta um comportamento característico que contempla: receptividade sexual, comportamento homossexual, aumento na frequência de micção e de mugidos (BARUSSELI, GIMENES e SALES, 2007). O metaestro ocorre entre o fim do estro e o início da formação do corpo lúteo (CL). Nessa fase ocorre a ovulação, a formação do corpo hemorrágico e a etapa inicial do desenvolvimento do CL. Em seguida inicia o diestro, período no qual o CL está maduro, liberando altas quantidades de progesterona. Na sequência, com a regressão do CL, começa o proestro. Durante esses dias os níveis de progesterona caem, os de Hormônio Folículo Estimulante (FSH), LH e estradiol aumentam e há crescimento folicular rápido (RIPPE, 2009). As fases do ciclo estral e sua duração em bovinos estão resumidas na FIGURA 1.

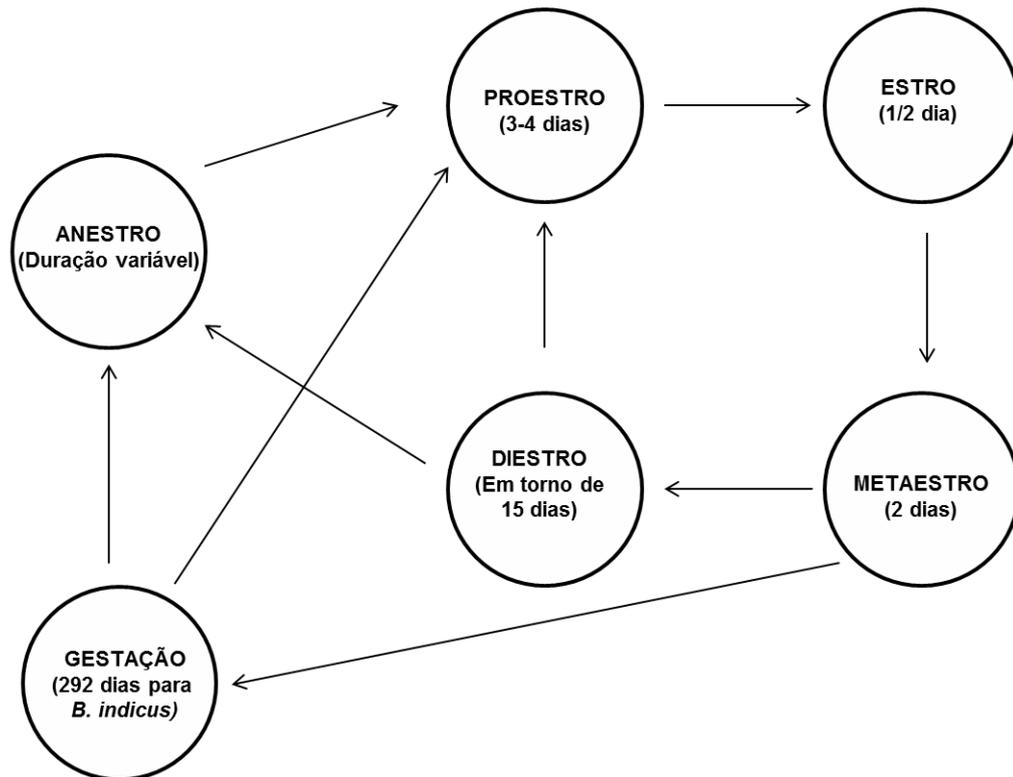


FIGURA 1. FASES DO CICLO ESTRAL DA FÊMEA BOVINA  
 FONTE: CUNNINGHAM (2004)

### 3.2. FISIOLOGIA DO CICLO ESTRAL

O eixo hipotálamo-hipófise-gonadal (H-H-G) é responsável por secretar diversos hormônios que são os principais reguladores do ciclo estral da fêmea. O hipotálamo secreta o Hormônio Liberador de Gonadotrofinas (GnRH) em pulsos, o que causa a liberação das gonadotrofinas LH ou FSH pela adenohipófise, estes agem no ovário atuando no desenvolvimento do folículo, na ovulação e na maturação e manutenção do CL (CUNNINGHAM, 2004).

Na fase lútea, quando as concentrações de progesterona estão altas e de estradiol baixas, os pulsos de GnRH gerados pelo hipotálamo ocorrem aproximadamente uma vez a cada 4 horas. Já na fase folicular, quando as concentrações de progesterona estão caindo e as de estradiol subindo, os pulsos aumentam atingindo um pulso por hora (DOBSON *et al.*, 2012).

### 3.2.1. Fase lútea

A fase lútea se inicia no momento da ovulação e termina com regressão do CL, durando aproximadamente 17 dias nos bovinos. Durante esse período, ocorre o desenvolvimento e a fase madura do CL, que é a estrutura predominante (FERREIRA, 2010).

O corpo lúteo é uma glândula endócrina transitória que tem como função principal secretar progesterona (BORGES *et al.*, 2003). Este é mantido por um padrão pulsátil lento de LH e inicia a produção significativa de progesterona 24 horas depois da ovulação (CUNNINGHAM, 2004).

No entanto, o processo de luteinização começa antes mesmo da ovulação, com mudanças nos receptores de gonadotrofinas das células foliculares. Após a ovulação, o local onde o folículo se encontrava é ocupado por diversos tipos de células e também por células do folículo (células da granulosa e células da teca), estas últimas originarão as células luteínicas. Há dois tipos de células luteínicas, as pequenas, que secretam pouca progesterona e são provenientes das células da teca, e as grandes, que secretam maiores quantidades de progesterona, provenientes das células da granulosa. Então, primeiramente é formado o corpo hemorrágico que depois evolui para o CL (SALLES e ARAÚJO, 2010).

Simultaneamente à presença do CL, durante a fase lútea ocorre o desenvolvimento de folículos, na forma de ondas de crescimento, como demonstrado na FIGURA 2. Em cada onda, alguns folículos começam a crescer de forma sinérgica, evento chamado de emergência folicular. Destes folículos, apenas um continua a se desenvolver, o folículo dominante, os outros, os folículos subordinados, regridem (BARUSSELI, GIMENES e SALES, 2007). Esse fenômeno é denominado divergência folicular. Após a divergência, o folículo dominante inibe a secreção de FSH, através da liberação de estradiol e inibina. No entanto, ele é capaz de continuar seu crescimento, pois é mais sensível ao FSH. Apesar de continuar crescendo, a ovulação não ocorre, pois durante a fase lútea há altos níveis de progesterona, que inibem a frequência e pulso do LH, essencial para a ovulação. Assim, o folículo dominante entra em atresia. Consequentemente, há a diminuição dos níveis de estradiol e inibina, o que causa um aumento na secreção de FSH e uma nova onda de crescimento folicular se inicia (MELLO *et al.*, 2014a). Nos bovinos

*Bos indicus* ocorre a incidência de 2 a 4 ondas foliculares por ciclo estral (BÓ, BARUSELLI e MARTÍNEZ, 2003).

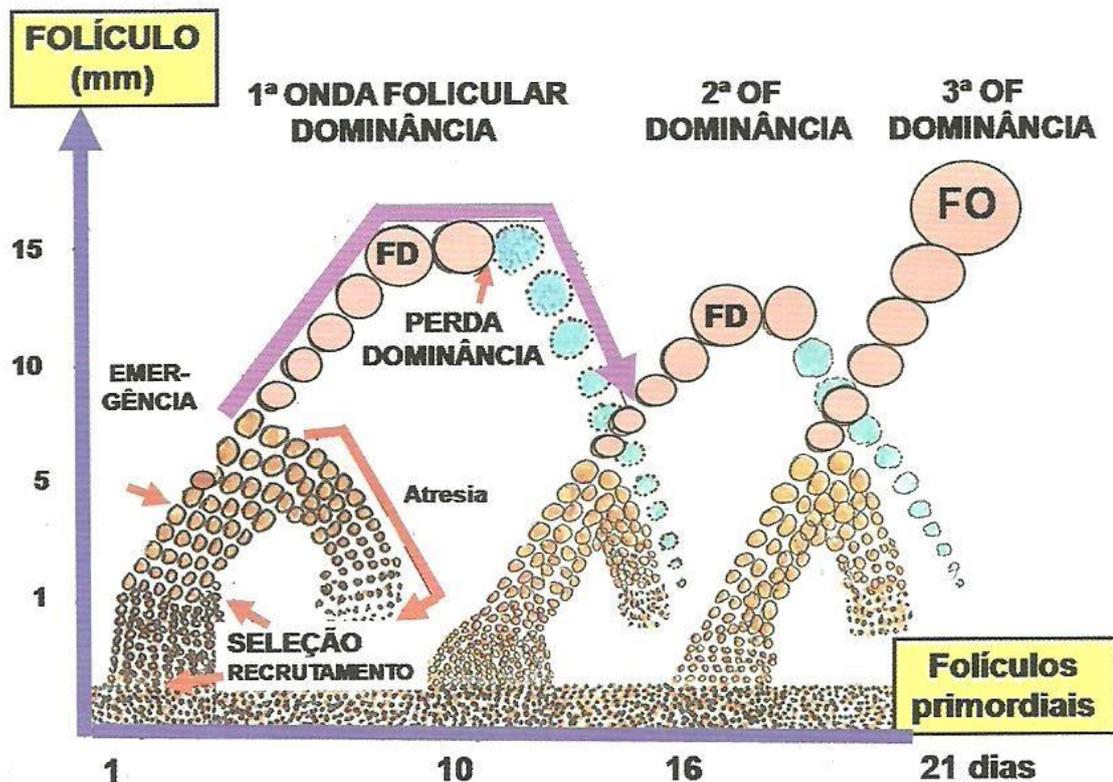


FIGURA 2. ONDAS FOLICULARES DURANTE O CICLO ESTRAL DA FÊMEA BOVINA.

FONTE: ADAPTADO DE FERREIRA (2010)

NOTA: FD: FOLÍCULO DOMINANTE; FO: FOLÍCULO OVULATÓRIO; OF: ONDA FOLICULAR.

O folículo ovulatório será aquele dominante no momento da regressão luteínica, quando os níveis de progesterona caem (FERREIRA, 2010). A regressão luteínica se inicia aproximadamente no 14º dia do ciclo, com a liberação de Prostaglandina F<sub>2α</sub> (PGF<sub>2α</sub>) pelas células do útero. Esta prostaglandina é transportada até o ovário sem passar pela circulação sistêmica e pode estimular sua própria produção pelas células do CL. Assim, mesmo uma pequena quantidade de PGF<sub>2α</sub> secretada pelo útero pode causar a luteólise (SALLES e ARAÚJO, 2010).

### 3.2.2. Principais funções dos folículos

A principal função das células foliculares é a secreção de estradiol, em maiores quantidades, e de andrógeno, em menores quantidades, sendo que essa secreção é proporcional ao tamanho do folículo (HAFEZ e HAFEZ, 2004).

A produção de estradiol se inicia nas células da teca sob estímulo do LH e FSH, onde o colesterol é captado da circulação e convertido em pregnolona. Esta é convertida em progesterona, que é transformada em androstenediona que, por sua vez, é convertida em testosterona. A testosterona entra nas células da granulosa onde há a enzima aromatase, que a transforma em estradiol, sob estimulação do FSH. Outra via de produção de estradiol é pela entrada da androstenediona nas células da granulosa que, também através da aromatase, é convertida em estrona e, esta, em estradiol. A sequência de eventos para a produção de estradiol está demonstrada na FIGURA 3. Os hormônios produzidos neste processo não necessariamente são convertidos em outros nas células do folículo, eles também podem sair da célula e atuar no organismo em suas funções fisiológicas. É importante salientar que, além da aromatase, outras enzimas agem neste processo e há outros subprodutos que compõem essa via (LIMA-VERDE, ROSSETTO e FIGUEIREDO, 2011).

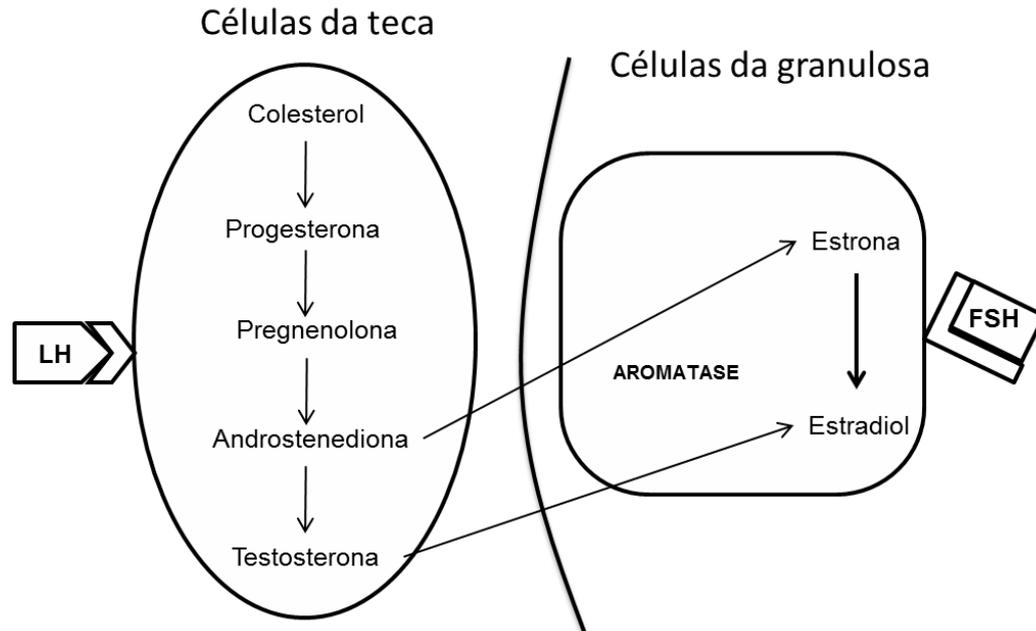


FIGURA 3. PRODUÇÃO DE ESTRADIOL PELAS CÉLULAS FOLICULARES  
 FONTE: ADAPTADO DE LIMA-VERDE (2011)

Além de secretar hormônios que regulam o ciclo estral, o folículo também é responsável por proporcionar um ambiente adequado para o crescimento e maturação do oócito (MAGALHÃES *et al.*, 2009).

### 3.2.3. Estádios de desenvolvimento dos folículos

Os folículos primordiais são formados durante a vida fetal ou logo após o nascimento e são constituídos por um oócito e uma camada de células pavimentosas da pré-granulosa. Este permanece quiescente até sua ativação. Após ativados, evoluem para os folículos primários, nos quais o oócito é circundado por uma camada de células da granulosa. Quando o folículo passa a ter duas ou mais camadas de células da granulosa (em formato cúbico) e uma camada de células da teca, é chamado de folículo secundário. Então, se inicia a formação do antro, que é um espaço preenchido por um líquido secretado pelas células da granulosa, o líquido folicular. Nesse momento, o folículo é chamado de terciário. O próximo e último estágio é o folículo pré-ovulatório, no qual o oócito é envolvido por uma camada de células da granulosa diferenciadas, denominadas células do *cumulus* (MAGALHÃES *et al.*, 2009).

Os folículos que ainda não possuem antro denominam-se pré-antrais e não são dependentes de gonadotrofinas. Já os antrais, que já possuem o antro, necessitam do LH e FSH para se desenvolver, sendo que a necessidade de FSH é maior no início do crescimento e de LH é maior no fim (HAFEZ e HAFEZ, 2004). Os estádios dos folículos estão representados na FIGURA 4.

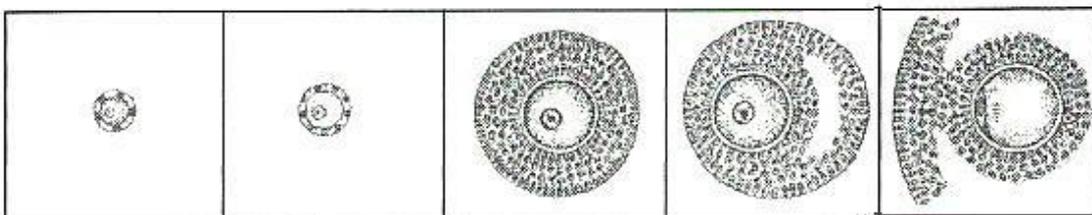


FIGURA 4. REPRESENTAÇÃO DOS FOLÍCULOS PRIMORDIAL, PRIMÁRIO, SECUNDÁRIO, TERCIÁRIO E PRÉ-OVULATÓRIO, DA ESQUERDA PARA A DIREITA, RESPECTIVAMENTE.

FONTE: ADAPTADO DE HAFEZ E HAFEZ (2004)

### 3.2.4. Fase folicular

A fase folicular tem curta duração quando comparada à lútea, ocorrendo por aproximadamente 4 dias. Esta perdura da regressão do CL à ovulação (FERREIRA, 2010).

Após a lise do CL, os eventos da fase folicular dependem da interação entre a frequência e pulso de GnRH e da produção de estradiol (SMITH e DOBSON, 2002). Pois, para alcançar uma onda de LH perfeitamente cronometrada, uma série de eventos estreitamente controlados devem ocorrer dentro do hipotálamo e da hipófise (DOBSON e SMITH, 2000).

Na fase folicular, por ação do FSH e do estradiol, ocorre a formação de receptores adicionais de LH nas células da granulosa e diminuição dos receptores para FSH. Dessa forma, o folículo se torna dependente de LH para crescer. Simultaneamente, o estradiol atua por um mecanismo de feedback positivo, atuando, a nível de hipófise e hipotálamo, na liberação de LH, que estimula a produção e secreção de mais estradiol pelo folículo (CUNNINGHAM, 2004). Assim, se inicia a onda de LH, esta começa aproximadamente 30 horas após início da queda da progesterona (DOBSON *et al.*, 2012). Então, com o aumento de receptores para LH, de estradiol e LH circulantes, o folículo cresce e a ovulação ocorre quando este é exposto à adequada frequência de pulso de LH, aproximadamente 1 pulso/hora (BÓ, BARUSELLI e MARTÍNEZ, 2003).

### 3.2.5. Ovulação

A ovulação ocorre aproximadamente 24 horas depois do início do pico de LH e consiste na liberação do oócito maduro pelo folículo (BÓ, BARUSELLI e MARTÍNEZ, 2003). Acreditava-se que a ovulação era causada somente pela pressão intrafolicular do ovário, pressão que era atribuída à ação do músculo liso do estroma do ovário. Mas foi mostrado que a pressão não aumenta o suficiente para causar a ruptura do folículo. Nas últimas décadas, os estudos vêm mostrando que a ovulação ocorre devido à uma resposta inflamatória aguda causada pelo pico de gonadotrofinas (ESPEY e RICHARDS, 2006).

O LH estimula a produção intrafolicular de prostaglandinas da série E2, que atuam na ruptura do folículo. Outra ação importante do LH é o início da luteinização das células foliculares, que ocorre antes da ovulação. Assim, as células começam a sintetizar pequenas quantidades de progesterona (MELLO *et al.*, 2014a).

Este esteroide estimula a produção de collagenase local, que atua quebrando as fibras de colágeno no revestimento externo do ovário. Além disso, a  $PGF2\alpha$  (produzida localmente no ovário sob estímulo do LH) causa a ruptura de lisossomos que liberam enzimas que também agem na degradação do tecido conectivo. Desse modo o oócito pode ser liberado. Ao mesmo tempo, ocorre um aumento do fluxo sanguíneo e do líquido folicular, elevando a pressão intrafolicular, contribuindo para o processo de ovulação (MARTIN e FERREIRA, 2009).

### 3.2.6. Dinâmica hormonal durante o ciclo estral

Com o objetivo de sintetizar a dinâmica dos hormônios que regulam o ciclo estral da vaca, a FIGURA 5 demonstra as interações hormonais que ocorrem no ciclo, evidenciando a forma de atuação destes, e a FIGURA 6 mostra o ritmo de liberação dos hormônios reprodutivos durante os 21 dias do ciclo.

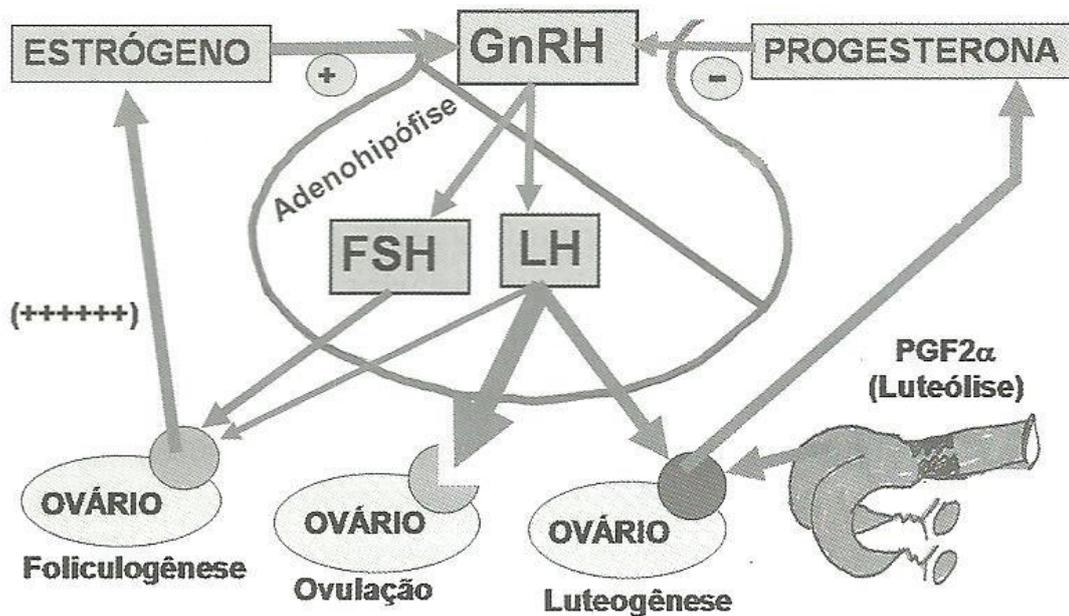


FIGURA 5. INTERAÇÕES HORMONAIS DURANTE O CICLO ESTRAL DA FÊMEA BOVINA. O GNRH É LIBERADO PELO HIPOTÁLAMO QUE AGE SOBRE A ADENOHIPÓFISE ESTIMULANDO A LIBERAÇÃO DE FSH E LH. O FSH ATUA ESTIMULANDO O CRESCIMENTO DOS FOLÍCULOS NO OVÁRIO, JÁ O LH ATUA NA FASE FINAL DA MATUREZAÇÃO DOS FOLÍCULOS, NA OVULAÇÃO E NA FORMAÇÃO E MANUTENÇÃO DO CORPO LÚTEO. OS FOLÍCULOS OVULATÓRIOS LIBERAM ESTRÓGENO NA CORRENTE SANGUÍNEA QUE AGE ESTIMULANDO A LIBERAÇÃO DE GNRH. O CORPO LÚTEO SECRETA PROGESTERONA, QUE ATUA INIBINDO A LIBERAÇÃO DE GNRH. A PROSTRAGLANDINA  $F2\alpha$  É LIBERADA PELO ÚTERO, QUANDO O EMBRIÃO NÃO É RECONHECIDO, E CAUSA A LISE DO CORPO LÚTEO PARA QUE UM NOVO CICLO SE INICIE. FONTE: ADAPTADO DE FERREIRA (2010)

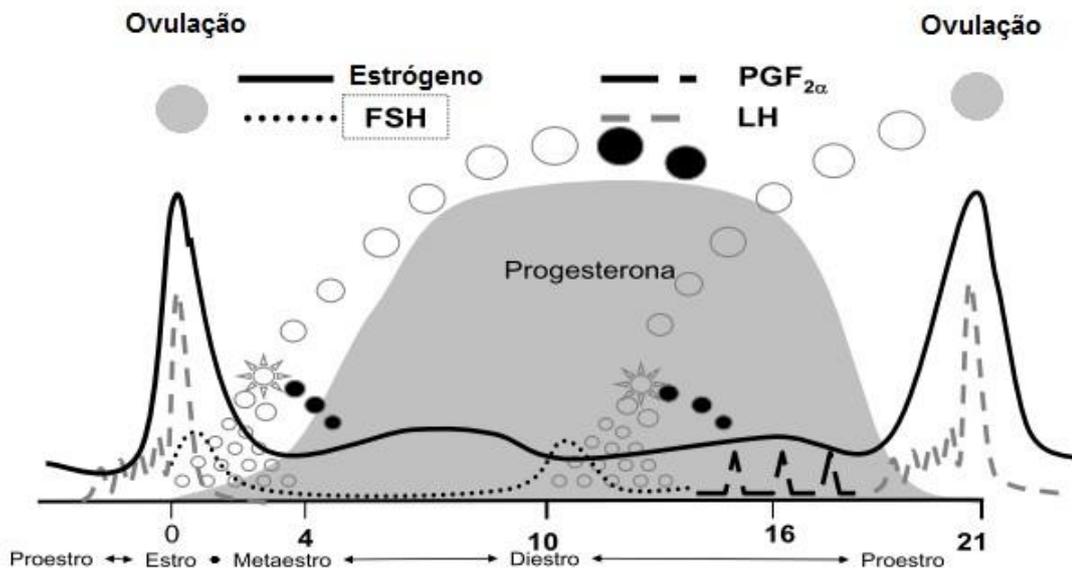


FIGURA 6. ESQUEMA DA DINÂMICA HORMONAL DURANTE O CICLO ESTRAL DE UMA FÊMEA BOVINA COM DUAS ONDAS FOLICULARES. OS FOLÍCULOS RECRUTADOS E DOMINANTE ESTÃO REPRESENTADOS PELOS CÍRCULOS SEM PREENCHIMENTO. OS CÍRCULOS COM PREENCHIMENTO NA COR PRETA REPRESENTAM OS FOLÍCULOS QUE ENTRARAM EM ATRESIA E OS CÍRCULOS COM PREENCHIMENTO EM CINZA REPRESENTAM OS FOLÍCULOS OVULATÓRIOS. FONTE: ADAPTADO DE RIPPE (2009)

### 3.3. SINCRONIZAÇÃO DO CICLO ESTRAL

#### 3.3.1. Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF)

O rebanho bovino mundial está amplamente distribuído em regiões tropicais, caracterizadas por altas temperaturas e índices pluviométricos. Isso fornece uma boa condição de crescimento de forragem, resultando em um sistema de produção com custos mais baixos (BARUSELLI *et al.*, 2004). Devido a sua capacidade de adaptação, os animais de origem zebuína (*Bos indicus*) predominam nessas regiões de clima tropical (BÓ *et al.*, 2007). Desta forma, esta subespécie representa aproximadamente 80% do rebanho brasileiro. Contudo, apesar das características de adaptação, a pecuária de corte vem apresentando baixos índices reprodutivos no Brasil (BARUSELLI *et al.*, 2008).

Para aumentar a eficiência reprodutiva e os ganhos genéticos do rebanho, biotécnicas vem sendo empregadas em todo o mundo, como a Inseminação Artificial (IA; OLIVEIRA, L. Z. *et al.*, 2015). Esta técnica foi a primeira a ser utilizada com o objetivo de acelerar a transferência de características desejáveis, com a

disseminação de genes geneticamente superiores e é uma ótima alternativa para promover o melhoramento de rebanhos zebuínos, incrementando os ganhos econômicos dos produtores (BÓ *et al.*, 2007; MONTEIRO e VIANA, 2011; BARUSELLI *et al.*, 2012).

Entretanto, os programas que usam a IA têm sido comprometidos pela baixa taxa de serviço, que ocorre pela falha na detecção do estro ou pelo anestro pós-parto (SÁ FILHO, MARQUES e BARUSELLI, 2010). Em vacas de corte, o anestro pós-parto é uma condição fisiológica induzida pela amamentação, pelo vínculo materno bezerro e por baixo escore de condição corporal (BARUSELLI *et al.*, 2004; MELLO *et al.*, 2014b). Esta situação impede que a vaca seja capaz de parir um bezerro por ano, o que seria possível em condições favoráveis (BARUSELLI *et al.*, 2004).

As falhas na detecção de estro decorrem de características reprodutivas do gado *Bos indicus*, que apresenta estro de duração curta (aproximadamente 10 horas). Além disso, parte considerável dos animais (em torno de 30%) inicia e encerra o estro durante a noite (BÓ, BARUSELLI e MARTÍNEZ, 2003). Dessa maneira, uma alternativa viável para contornar esses problemas é o uso de protocolos de Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF), que permitem IA sem necessidade de detecção de estro e que induzem a ciclicidade em vacas em anestro (BÓ *et al.*, 2007). Assim, a inseminação pode ser programada e todos os animais podem ser inseminados juntos (BARUSELLI *et al.*, 2012).

O uso da IATF aumenta o número de animais inseminados, melhorando a eficiência reprodutiva do rebanho (MELLO *et al.*, 2014b). A antecipação da prenhez pós-parto e a utilização de touros geneticamente superiores resultam em bezerros desmamados mais pesados (BÓ e BARUSELLI, 2014). Gerando maior retorno econômico para o produtor, além do impacto no aumento da produção de carne (MONTEIRO e VIANA, 2011).

As vantagens apresentadas pela IATF são inúmeras: 1) é uma importante ferramenta de controle; 2) permite a utilização da IA em larga escala; 3) sincroniza os partos (BARUSELLI *et al.*, 2012); 4) pode ser facilmente realizada pela equipe da fazenda; 5) promove melhoramento genético; 6) tem como consequência a produção de bezerros mais pesados ao desmame (BÓ e BARUSELLI, 2014); 7) permite padronização dos bezerros, fornecendo lotes homogêneos para a compra; 8) favorece o manejo de descarte de matrizes (OLIVEIRA, F. A. *et al.*, 2015); 9)

melhora a fertilidade dos próximos ciclos reprodutivos em protocolos que utilizam dispositivos de progesterona (BÓ *et al.*, 2007); 10) possibilita a profilaxia de doenças sexualmente transmissíveis; 11) facilita a realização do cruzamento industrial, com a utilização de sêmen de touros de origem europeia; 12) diminui custos com a manutenção e reposição de touros (MONTEIRO e VIANA, 2011); 13) racionaliza a mão-de-obra; 14) melhora o custo-benefício da atividade (ROCHA *et al.*, 2007b).

Dentre os fatores que podem afetar a taxa de prenhez em protocolos de IATF temos: categoria animal, raça, manejo da propriedade, período pós-parto, situação do ovário no início do protocolo, escore de condição corporal, entre outros (OLIVEIRA, F. A. *et al.*, 2015).

### 3.3.2. Sincronização da onda folicular e ovulação

Os protocolos de IATF visam controle da função lútea e folicular (BARUSELLI *et al.*, 2012). Há basicamente dois tipos de protocolos: aqueles que usam a combinação de GnRH e PGF2 $\alpha$  (pode ser acrescentada a progesterona) e os que combinam progesterona (ou progestágenos) com estradiol, nos quais também se usa PGF2 $\alpha$  e pode ser acrescentada a Gonadotrofina Coriônica equina (eCG). Os tratamentos a base de GnRH, sem estradiol, não tem apresentado bons resultados para o gado de corte, além disso, é necessário realizar muitos manejos, o que dificulta sua aplicação. Já os tratamentos a base de estradiol e progesterona tem apresentado resultados superiores e podem ser feitos em 3 ou 4 manejos. Dessa forma estes protocolos são os preferenciais para o gado de corte e serão abordados nesta revisão (BÓ *et al.*, 2007; BÓ e BARUSELLI, 2014).

Os tratamentos visam sincronizar a emergência da onda folicular através da administração de análogos de estradiol concomitante à utilização de dispositivo de progesterona/progestágenos. Estudos mostram que a utilização desses hormônios causa a atresia do folículo dominante e induz, em aproximadamente 4 dias, uma nova onda de crescimento folicular. O dispositivo de progesterona (intravaginais) ou de progestágenos (auriculares) mantém níveis de progesterona circulantes altos, inibindo o pico de LH, mas permitindo a emergência de uma nova onda de crescimento folicular, o que consiste em uma simulação da fase lútea do ciclo estral. Então é necessário diminuir as concentrações de progesterona exógena (retirando

os dispositivos implantados) e endógena (administrando PGF2 $\alpha$  para a lise de um possível corpo lúteo) para permitir o surgimento do pico de LH. Este pico é induzido com a administração de análogos de estradiol somados ou não ao eCG (BÓ e MAPLETOFT, 2010; SALES *et al.*, 2012).

O protocolo base consiste na inserção de um dispositivo liberador de progesterona (ou progestágenos) e administração de benzoato de estradiol (BE) no dia 0. No dia 7, 8 ou 9 o dispositivo é retirado e a PGF2 $\alpha$  é aplicada. Depois de 24 horas o Benzoato de Estradiol (BE) é administrado novamente. A inseminação é realizada 24 horas após este último manejo (BÓ e BARUSELLI, 2014).

Estudos vêm sendo realizados com o objetivo de diminuir de 4 para 3 manejos, simplificando a aplicação do protocolo. Neste sentido, o uso do Cipionato de Estradiol (CE) no dia da retirada do implante de progesterona foi testado para substituir a aplicação do BE 24 horas após a retirada do implante. Os trabalhos mostraram que essa substituição é viável e não afeta as taxas de prenhez (AYRES *et al.*, 2008; SALES *et al.*, 2012; FRANÇA *et al.*, 2015).

Além de proporcionarem bons resultados para zebuínos e serem realizados em poucos manejos, os protocolos a base de progestágenos e estradiol melhoram a fertilidade em ciclos sucessivos (BÓ *et al.*, 2007). Ou seja, ocorre um aumento da manifestação do cio daquelas vacas que foram sincronizadas, mas não emprenharam. Assim, a prenhez aumenta na estação de monta, mesmo se as vacas forem submetidas à monta natural após o protocolo (OLIVEIRA, F. A. *et al.*, 2015).

### 3.3.3. O uso do eCG nos protocolos de IATF

Estudos mostraram que a administração do eCG, em protocolos a base de progesterona e estradiol, no momento da remoção do implante, melhora a eficiência reprodutiva das vacas que são sincronizadas no período pós-parto. Assim, esta prática vem sendo adotada nas propriedades de cria (ROCHA *et al.*, 2007b). O incremento nas taxas de gestação causado por esse hormônio provavelmente deve-se à ação gonadotrófica do eCG, que age estimulando tanto os receptores de LH quanto de FSH. Assim, ocorre um estímulo na taxa de crescimento do folículo dominante e na ovulação em vacas zebuínas. Essa situação é ideal para animais em período pós-parto, pois estes têm a pulsatilidade de LH afetada e comprometimento no crescimento do folículo dominante (BARUSSELI, GIMENES e SALES, 2007).

Por promover o aumento do folículo dominante, o eCG causa um acréscimo nas concentrações circulantes de progesterona após a ovulação, pois o CL formado terá maior massa luteal. Isto colabora para o desenvolvimento do conceito, refletindo em melhores taxas de prenhez ao final do protocolo. Caso o animal não emprenhe, o aumento de progesterona favorecerá uma nova gestação no ciclo subsequente (MELLO *et al.*, 2014b).

Sá Filho *et al.* (2010) observaram que as taxas de gestação foram superiores quando o eCG foi adicionado ao protocolo de IATF. No entanto, o incremento nas taxas de gestação parece estar associado às vacas que estão em anestro, apresentam baixo escore corporal e/ou são nulíparas (MARTINS *et al.*, 2010; MONTEIRO e VIANA, 2011; BÓ e BARUSELLI, 2014).

#### 3.3.4. Panorama da IATF no Brasil

Resultados satisfatórios vêm sendo obtidos em vacas de corte, com aproximadamente 50% de prenhez por protocolo realizado (SALES *et al.*, 2012). Como os animais podem ser ressincronizados ou submetidos à monta natural após a primeira sincronização, ao final da estação de monta os índices podem chegar na casa dos 80% de prenhez (BARUSELLI *et al.*, 2004; BÓ *et al.*, 2009). As taxas de prenhez alcançadas com a utilização da IATF são reproduzíveis e esta técnica vem impactando de forma positiva no sistema de produção de carne do país (BÓ e BARUSELLI, 2014). Dados de 2011 obtidos em um estudo realizado por Baruselli *et al.*, (2012) mostram que os animais inseminados constituíam quase 10% do rebanho brasileiro, sendo que mais metade dessa parcela correspondia às vacas inseminadas com o emprego de protocolos de IATF. Este estudo também mostrou que o uso desta biotécnica está em crescimento no Brasil.

## 4. ESTRESSE E A REPRODUÇÃO DA FÊMEA

### 4.1. ESTRESSE

#### 4.1.1. Definição

Os primeiros autores a realizarem abordagens específicas sobre o estresse foram Cannon e De La Paz (1911). Estes verificaram que gatos tinham seu sistema nervoso simpático acionado, ativação da adrenal e aumento nos níveis plasmáticos de adrenalina, quando expostos a cães. Em seguida, estudos feitos por Selye (1936), mostraram que diferentes agentes nocivos não específicos causavam uma síndrome típica, cujos sintomas não dependiam da natureza do agente. Mais tarde, o mesmo autor definiu o estresse, utilizando esse termo pela primeira vez na comunidade científica, e denominou-o como síndrome geral de adaptação. Esta ocorria em três fases: a reação de alarme, estado fisiológico de resistência e exaustão. Sendo que, cada fase manifesta alterações fisiológicas específicas (SELYE, 1965).

No entanto, Broom e Johnson (1993), discordaram da definição de Selye, apontando que a resposta biológica não era tão coerente, que havia variações individuais, que as respostas aos agentes nocivos dependiam do estímulo e que os padrões fisiológicos descritos também poderiam se manifestar em decorrência de estímulos não estressantes. Esses pesquisadores definiram o estresse como um efeito ambiental sobre um indivíduo, que sobrecarrega seus sistemas de controle aumentando sua mortalidade, reduzindo seu sucesso no crescimento e na reprodução.

Os autores mais atuais definiram como: a) a ruptura da homeostase dos organismos, onde existe uma resposta fisiológica ou comportamental contra o estímulo nocivo ou condição adversa do meio ambiente (MAZIERO *et al.*, 2012); b) uma série coordenada de respostas organizadas para aumentar a probabilidade de sobrevivência do indivíduo, quando este é exposto a condições hostis (CARRASCO e VAN DE KAR, 2003); c) como a incapacidade de um animal em lidar com o seu ambiente, revelando o fracasso em alcançar seu potencial genético (DOBSON e SMITH, 2000).

Aplicado na produção animal, Arantes (2013) apontou que o estresse consiste basicamente nos desafios à homeostase que colocam em risco a produtividade dos rebanhos, causando impacto econômico.

Em relação aos tipos de estresse, este pode ser físico – causado por fome, sede, lesões, fadiga e temperaturas extremas - ou psicológico – causado por contenção, manejo, medo e novidade (GRANDIN, 1997).

Ainda há a classificação que divide o estresse em eustresse e distresse, sendo o primeiro um estresse positivo (FILGUEIRAS e HIPPERT, 1999) e o segundo uma situação em que um animal não pode escapar ou adaptar-se, resultando em efeitos negativos sobre o seu bem-estar (UNDERWOOD, 2002). No entanto o termo eustresse não é normalmente utilizado para nomear o estresse passado pelos animais, é preferencialmente utilizado o termo estresse, de uma forma geral para situações positivas ou negativas, ou distresse (MOBERG, 2000).

Classicamente, os agentes estressores são aqueles que podem alterar a homeostasia, ativando o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (AGUIAR, LEITE e ELOY, 2007). Estes podem ser provenientes de situações de manejo (transporte, vacinações, palpações), do ambiente (calor, frio, fome, sede) ou de disputas de comportamento na sociedade (SILVEIRA, FISCHER e SOARES, 2006). Etim *et al.* (2013) cita como principais estressores na vida de um animal: desmama, confinamento, superlotação, isolamento, perigo, dor, dieta inadequada, mudanças no ambiente e tédio.

#### 4.1.2. Respostas ao estresse

Frente a agentes estressores, o animal desencadeia uma resposta emocional, resultado da interação de fatores que serão vistos em seguida. Esta resposta resultará em mudanças comportamentais e fisiológicas (GRANDIN, 1997).

As respostas emocionais são produzidas no sistema límbico e projetadas para diversas partes do cérebro, incluindo aquelas envolvidas no início e manutenção da resposta ao estresse (HEMSWORTH e COLEMAN, 2011).

O pesquisador Moberg (2000) organizou a resposta dos animais ao estresse em três fases: 1) reconhecimento da ameaça à homeostase; 2) resposta ao estresse; 3) consequências das repostas ao estresse, como mostra a FIGURA 7. A fase 2 tem o objetivo de remover o estímulo estressante, evitando a ameaça. Mas em algumas ocasiões, o animal encontra situações em que não consegue acabar com o estímulo. Nesses casos, ocorre o a fase 3. Dessa forma, não o estímulo em si, mas o custo biológico do estresse é a chave para entender as implicações deste sobre o bem-estar animal (MOBERG, 2000).

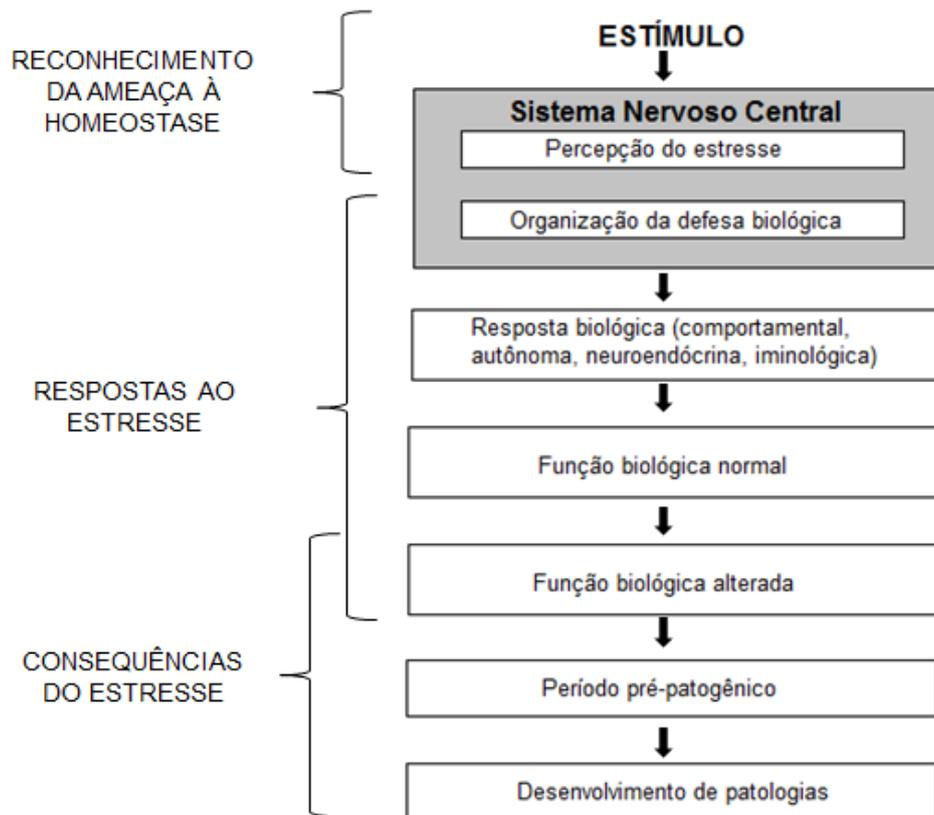


FIGURA 7. RESPOSTAS AO ESTRESSE E CONSEQUÊNCIAS DESTE A PARTIR DE UM ESTÍMULO ESTRESSOR RECONHECIDO COMO AMEAÇA À HOMEOSTASE  
 FONTE: ADAPTADO DE MOBERG (2000).

Basicamente, os animais podem reagir frente a uma situação que considerem uma ameaça fugindo, permanecendo imóvel, se defendendo ou atacando (BLANCHARD e BLANCHARD, 1988).

As respostas ao estresse dependem dos aspectos quantitativos e qualitativos do estímulo (LADEWIG, 1987). Além disso, fatores individuais de cada animal tem influência nessas respostas, como genótipo e idade. Há genótipos mais dóceis ao manejo e animais mais velhos normalmente são mais calmos, se adaptando de melhor às situações (ARANTES et. al., 2013). Exemplos que elucidam a questão do genótipo influenciando as respostas ao estresse, são os estudos indicando que bovinos com sangue predominantemente zebuíno são mais agitados do que aqueles com sangue predominantemente europeu, se estressando mais facilmente com o mesmo manejo (SILVEIRA, FISCHER e MENDONÇA, 2006).

Assim, uma complexa interação entre fatores genéticos, experiências prévias, qualidade e quantidade do estímulo determinam a resposta que certo animal terá frente a um agente estressor (GRANDIN, 1997). Como por exemplo, as respostas hormonais, que dependem da severidade do estímulo para ativar mais ou menos o sistema endócrino (SMITH e DOBSON, 2002).

Durante o manejo dos bovinos, a interação humano-animal (IHA) pode causar medo e conseqüentemente estresse, gerando danos na produtividade e no bem-estar animal (HEMSWORTH e COLEMAN, 2011). Além do medo, outras sensações aversivas, que atuam de forma isolada ou conjunta causando estresse, são a dor e a frustração. Como, por exemplo, a frustração que o animal sente em querer fugir e ser contido. Todas essas sensações têm a função de ajudar o animal a prever eventos perigosos e evitá-los (MACEDO, ZÚCCARI e COSTA E SILVA, 2012). No entanto, se realizados de maneira correta, os animais podem se habituar aos manejos e às pessoas envolvidas nestes, diminuindo suas respostas (PARANHOS DA COSTA e MORALES, 2011).

#### 4.1.3. Estresse e o comportamento dos bovinos

Características comportamentais dos bovinos como reconhecimento e interação com os humanos, organização social e instintos primitivos de presa, ajudam a esclarecer como estes agem frente a um estímulo de estresse.

A IHA é caracterizada pela relação que os humanos e animais desenvolvem em suas atividades de manejo (PETERS, BARBOSA SILVEIRA e RODRIGUES, 2007). Assim, os bovinos podem perceber as diferenças entre os humanos de diversas maneiras, como reconhecimento da face e cor da roupa, e responder de forma específica para cada pessoa, em decorrência da IHA já estabelecida. (RUSSI *et al.*, 2011).

É importante atentar para o fato de que os ruminantes mantêm características primitivas de presas. Assim, o humano pode causar medo nos animais, pois estes podem considerá-lo como um predador. Dessa maneira, os animais detectam o predador e fogem deste, com medo e conseqüente estresse (HÖTZEL *et al.*, 2005).

Os bovinos vivem em grupos, com sociedade estabelecida, ou seja, são animais gregários. Essa convivência é tão importante que aqueles animais que ficam isolados tornam-se estressados (PARANHOS DA COSTA e COSTA E SILVA, 2007).

No entanto, quando os bovinos são manejados, ocorre desorganização de sua sociedade. Assim, eles perdem referenciais importantes de seu comportamento, como hierarquia de dominância e espaço individual (PARANHOS DA COSTA, 2000).

O estresse também pode ser causado por alterações no status social. Em um estudo com vacas leiteiras, os animais que diminuíram seu status na sociedade apresentaram aumento do intervalo entre partos, aumento de número de inseminações por gestação, diminuição na produção de leite e aumento na contagem de células somáticas no leite (BALL e PETERS, 2006).

#### 4.1.4. Situações na bovinocultura de corte que causam estresse

Procedimentos comuns, e muitas vezes inevitáveis, na bovinocultura de corte são agentes estressores importantes. Essas práticas não necessariamente causam dor, mas geram medo, causando o estresse psicológico (GRANDIN, 1997; MACEDO, ZÚCCARI e COSTA E SILVA, 2012).

O manejo dos animais pode ocorrer com mais ou menos intensidade, dependendo do sistema de produção. Estudos revelaram que mesmo manejados diariamente durante 21 dias, os animais *Bos indicus* ainda manifestam sinais de estresse, mostrando que habituação desses animais ao manejo no curral é difícil (MAZIERO *et al.*, 2012). O curral é um local que causa aversão aos animais, principalmente os *Bos indicus*, que são mais reativos do que os *Bos taurus* (MACEDO, ZÚCCARI e COSTA E SILVA, 2012).

Durante o processo reprodutivo, onde a IHA é intensa, práticas rotineiras provocam desconforto, medo e dor, desencadeando respostas ao estresse. Dentre essas práticas podemos citar o exame ginecológico e inseminação (COSTA E SILVA *et al.*, 2010; MACEDO, ZÚCCARI e COSTA E SILVA, 2012). Estudos demonstraram que o isolamento, a contenção, o ruído elevado, desmama, superlotação e até a novidade também agem desencadeando respostas ao estresse (GRANDIN, 1997; TILBROOK *et al.*, 1999; ETIM *et al.*, 2013).

O transporte é outro procedimento inevitável e já foi demonstrado por diversos autores como um forte estressor (GRANDIN, 2000). Smith e Dobson (2002) avaliaram o efeito do transporte por 8 horas em ovelhas, com descanso de 1 hora após as primeiras 4 horas. Esses pesquisadores verificaram que nas primeiras 4 horas as ovelhas ficaram sob estresse constante e nas 4 horas após o descanso

tiveram picos de estresse. Já Ishiaki e Kariya (2010) verificaram que, em um transporte de 2 horas, houve maior estresse quando as vacas foram transportadas em estradas com região montanhosa do que quando o transporte foi feito em região plana, mas ambos os grupos ficaram estressados. Por fim, Maziero *et al.* (2011) mostrou que vacas zebuínas manifestaram alterações fisiológicas características de estresse quando foram submetidas ao transporte por uma hora.

#### 4.1.5. Alterações fisiológicas causadas pelo estresse

Na ocorrência de um estresse físico ou emocional, o Sistema Nervoso Simpático (SNS) é ativado (CUNNINGHAM, 2004). Esse sistema, também denominado de “sistema de luta ou fuga”, age por meio de um controle neurológico direto de sistemas, vísceras e glândulas. O controle sobre a glândula adrenal merece especial atenção, pois o SNS ativa as células secretoras da medula da adrenal, que liberam adrenalina e noradrenalina. Esses hormônios são essenciais nas respostas fisiológicas ao estresse (STRAIN, 2006). Além da adrenalina e noradrenalina, em situações de estresse, o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (H-H-A) é ativado, liberando cortisol (BREEN *et al.*, 2005).

A ativação do SNS e do eixo H-H-A causa uma estimulação generalizada do organismo com aumento da frequência cardíaca, elevação da pressão arterial, dilatação das pupilas e piloereção, preparando o corpo para o estado de alerta (CUNNINGHAM, 2004). Ocorre também degradação do glicogênio, resultando em hiperglicemia, e mobilização das gorduras, causando aumento dos níveis de ácidos graxos sanguíneos (EILER, 2006). O apetite, a libido e o sistema imunológico são suprimidos e toda a energia é desviada para os músculos (ETIM *et al.*, 2013). Além disso, a adrenalina e o cortisol agem de maneiras diferentes, alterando o leucograma dos animais (JAIN, 1993).

O estresse também atua inibindo a reprodução. Isto ocorre de maneira complexa e envolve a liberação de muitos hormônios - Hormônio Liberador de Corticotrofina (CRH), Hormônio Corticotrófico (ACTH), Arginina Vasopressina (AVP), cortisol, adrenalina e noradrenalina - e de opioides endógenos, como a  $\beta$ -endorfina (FERIN, 2006).

#### 4.2. AÇÕES DO ESTRESSE SOBRE O EIXO HIPOTÁLAMO-HIPÓFISE-ADRENAL

O eixo H-H-A tem fundamental importância nas respostas do organismo à estímulos estressores (MACEDO, ZÚCCARI e COSTA E SILVA, 2012). Esse eixo é formado por três elementos. 1) hipotálamo: uma área do diencefalo responsável por secretar hormônios, que regulam os sistemas dos organismos, e por ser o centro de controle para vias do sistema nervoso autônomo; 2) hipófise: constituída pela adenohipófise e pela neurohipófise; 3) glândula adrenal: constituída por córtex (subdividido em zonas) e medula (CUNNINGHAM, 2004).

O hipotálamo é o local onde os sistemas endócrino e neurológico se conectam, é composto por núcleos (aglomerados de neurônios responsáveis por secretar hormônios específicos) e por áreas (EILER, 2006). O núcleo paraventricular (NPV) é ativado por estressores liberando AVP e CRH (FERIN, 2006). Há evidências de que uma única subpopulação de neurônios dentro do NPV seja responsável pela produção e secreção tanto da AVP, quanto do CRH (SAWCHENKO, SWANSON e VALE, 1984).

O CRH e o AVP atuam juntos mediando a liberação de ACTH pela hipófise (CUNNINGHAM, 2004; RIVIER *et al.*, 1984). O CRH é o mais potente secretor de ACTH e a AVP age potencializando a resposta da hipófise ao CRH (DUNN e BERRIDGE, 1990). É provável que a AVP induza o aumento de número de receptores ao CRH no corticotrofo - células da hipófise que produzem ACTH (HARBUZ e LIGHTMAN, 1992). Assim, a AVP sozinha não é capaz de realizar a função do CRH, mas parece ser necessária para uma ativação completa do ACTH (FERIN, 2006). O CRH também atua sobre a hipófise estimulando a liberação de  $\beta$ -endorfina (GARCIA, 2013).

O ACTH é liberado na corrente sanguínea pela adenohipófise e age sobre as zonas fasciculada e reticular do córtex da adrenal, que secreta glicocorticoides em grandes quantidades, como o cortisol, e esteroides sexuais em pequenas quantidades, como a progesterona (CUNNINGHAM, 2004). O cortisol é o principal glicocorticoide na maioria dos mamíferos, já a corticosterona é predominante em roedores, pássaros, répteis e anfíbios. Esses hormônios não permanecem estocados na adrenal, eles têm de ser sintetizados para depois serem liberados (HEMSWORTH e COLEMAN, 2011).

Como visto anteriormente, o SNS também atua nas respostas do estresse. A ativação do eixo H-H-A e do SNS, frente a uma ameaça à homeostase, é esquematizada na FIGURA 8.

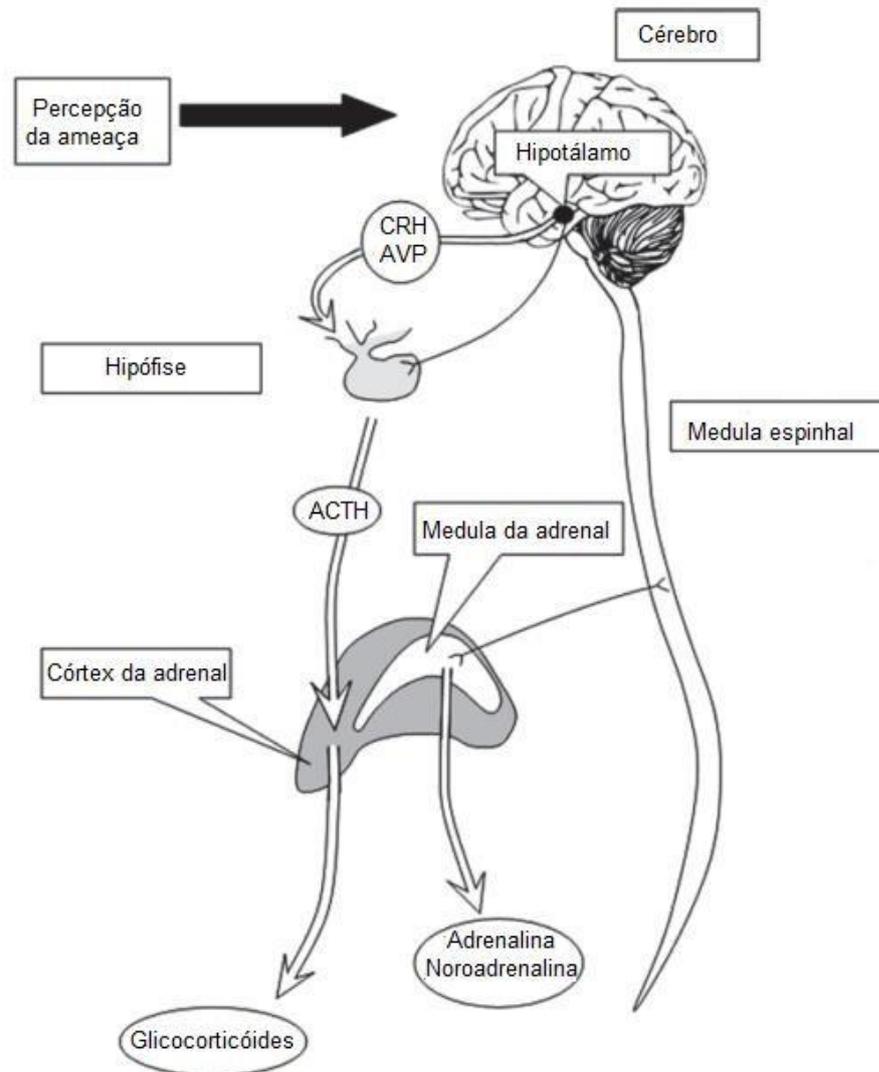


FIGURA 8. RESPOSTA DO SISTEMA NERVOSO SIMPÁTICO E DO EIXO HIPOTÁLAMO-HIPÓFISE-ADRENAL A PARTIR DO RECONHECIMENTO DA AMEAÇA À HOMEOSTASE, QUANDO O ANIMAL RECEBE UM ESTÍMULO ESTRESSOR  
 FONTE: ADAPTADO DE HEMSWORTH E COLEMAN (2011)

Alguns trabalhos mostraram a ação do estresse em animais sobre o eixo H-H-A. Em uma situação de transporte de 2 horas em ovinos, foi verificado que ocorreu aumento de AVP, CRH, ACTH e cortisol. A elevação dos hormônios liberados pelo hipotálamo e hipófise foi imediata, enquanto a elevação do cortisol tardou um pouco mais para ocorrer (DOBSON e SMITH, 2000). Em roedores, houve aumento de ACTH e corticosterona após contenção (FERIN, 2006).

O aumento de cortisol e progesterona foi verificado tanto depois da administração de ACTH em novilhas submetidas à ovariectomia (BAGE *et al.*, 2000), quanto após picos de estresse em vacas não submetidas à ovariectomia (MAZIERO *et al.*, 2012). Esses estudos mostram que ambos os hormônios são liberados pela adrenal quando o eixo H-H-A é ativado em situações estressantes.

O eixo H-H-A é regulado por feedback negativo realizado pelos glicocorticoides, no caso dos mamíferos, o cortisol. Este atua a nível cerebral, regulando os estímulos do cérebro para o hipotálamo, a nível de hipotálamo, regulando a liberação de AVP e CRH, e ainda a nível de hipófise, atuando na liberação do ACTH (SMITH e DOBSON, 2002), como mostra a FIGURA 9.

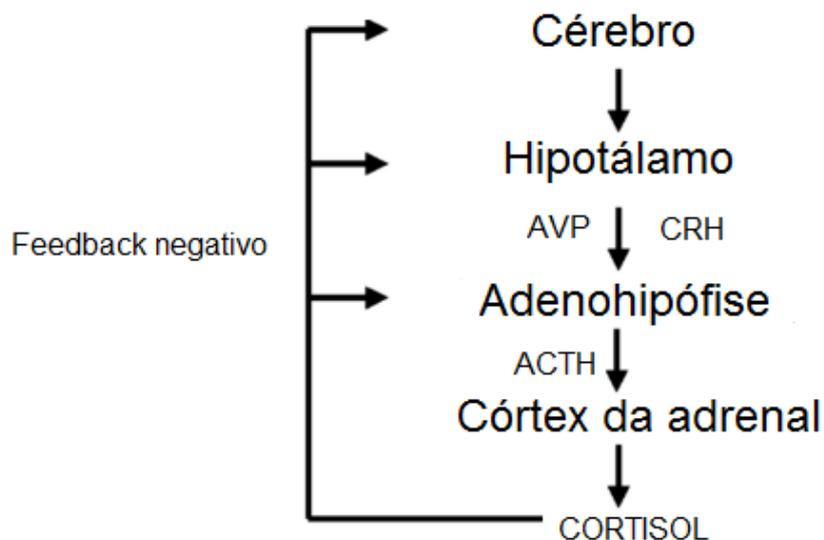


FIGURA 9. MECANISMOS DE CONTROLE DO EIXO HIPOTÁLAMO-HIPÓFISE-ADRENAL  
 FONTE: ADAPTADO DE SMITH E DOBSON (2002)

#### 4.2.1. Cortisol

O hormônio classicamente utilizado em trabalhos para medir a respostas dos animais ao estresse é o cortisol, pois qualquer tipo de estresse causará aumento marcante desse glicocorticoide (MACEDO, ZÚCCARI e COSTA E SILVA, 2012). Após a exposição ao estresse agudo, os níveis de cortisol demoram de 10 (NAKAO *et al.*, 1994) a 20 minutos para aumentar e atingem um platô em 2 horas (SILANIKOVE, 2000). O tempo de meia-vida do cortisol difere dentre os autores. Hemsworth e Coleman (2011) afirmam que este é de aproximadamente de 90 a 120 minutos. Eiler (2006) cita 80 min, enquanto Cunningham (2004) refere-se a 60 min.

Dessa forma, podemos afirmar que o tempo de meia-vida pode variar entre uma a duas horas. As concentrações basais para esse hormônio em bovinos encontram-se abaixo de 10 ng/ml (YOSHIDA e NAKAO, 2005). Entretanto, em situações de estresse, autores encontraram valores próximos de 300 ng/ml (FUJITA *et al.*, 2013).

O cortisol é produzido no córtex da adrenal a partir do colesterol, sendo que a progesterona, também secretada em situações de estresse, é um elemento intermediário dessa síntese (MACEDO, ZÚCCARI e COSTA E SILVA, 2012).

Uma das principais funções dos glicocorticoides é a neoglicogênese hepática, que envolve a conversão de aminoácidos em carboidratos. Esses aminoácidos são liberados por tecidos periféricos (músculos e fígado) através de uma ação catabólica dos hormônios. Com a produção do glicogênio hepático, ocorre consequente aumento de glicose no sangue. Outra função dos glicocorticoides é de promover a lipólise. Além disso, ocorre também supressão do sistema imune e estimulação da secreção de ácido gástrico no estômago (CUNNINGHAM, 2004). Todas essas vias de atuação tem o objetivo de incrementar a energia para o metabolismo celular. Isto, juntamente com a ação anti-inflamatória dos glicocorticoides, contribui para aumentar a resistência do organismo contra ameaças (MACEDO, ZÚCCARI e COSTA E SILVA, 2012).

Em várias espécies já está elucidado que a liberação do cortisol ocorre em ritmos durante dia, o chamado ritmo circadiano. No entanto, esse ritmo ainda não está esclarecido em bovinos (EILER, 2006). Fulkerson *et al.* (1980) afirmam que existe um ciclo circadiano e que os picos de hormônios são registrados à meia noite e no meio da manhã, enquanto a tarde as concentrações do hormônio são menores. Contudo, outro estudo identificou um ritmo circadiano muito fraco, com o pico identificado no início da manhã (LEFCOURT *et al.*, 1993). Ainda houve autores que afirmaram não haver ritmo circadiano em bovinos (ABEBE, SCOTT e ELEY, 1992).

#### 4.3. AÇÕES NO EIXO HIPOTÁLAMO-HIPÓFISE-GONADAL

As respostas dos animais aos agentes estressores afetam o sistema reprodutivo de forma inibitória em vários níveis, aumentando as taxas de infertilidade (FERIN, 2006). Em sua revisão, Tilbrook *et al.* (2000) citam diversos tipos de estresse que agem inibindo a reprodução. Dentre estes estão: estressores metabólicos (estresse induzido por insulina), estressores imunológicos (infecção ou

administração de endotoxinas), estressores físicos (transporte, tosa, contenção, exercício) e estressores psicológicos (isolamento, interações sociais e interações humano-animal).

Evidências de que fatores estressantes afetam a eficiência reprodutiva em bovinos leiteiros foram demonstradas em diferentes estudos, como no caso de vacas expostas ao estresse, que obtiveram taxas de fertilidade menores, comparadas a vacas de mesma genealogia não expostas (DOBSON e SMITH, 2000). Cooke *et al.* (2011) mostraram que o temperamento excitado de vacas Nelore afetou negativamente a taxa de prenhez em uma situação de sincronização de estro seguido de IATF, de maneira que vacas com escore de temperamento maior engravidaram menos do que vacas com temperamento menor. Já Edwards *et al.* (1987) submetem novilhas, que passaram por um protocolo de superovulação, a um transporte de 15 a 60 min a cada 12 horas por quatro dias. Essas novilhas apresentaram menor número de corpo lúteo e níveis de cortisol mais altos do que os animais do grupo controle, que passaram pelo mesmo protocolo mas permaneceram no pasto.

Basicamente o estresse afeta a reprodução através de alguns hormônios, como o CRH, AVP, ACTH,  $\beta$ -endorfina e glicocorticoides. Estes atuam no eixo H-H-G inibindo a secreção de GnRH, LH e estradiol (SMITH e DOBSON, 2002; RUSSI *et al.*, 2011).

Um dos principais locais para as alterações exercidas por estímulos de estresse parece ser o controle neuronal da secreção de GnRH (DOBSON e SMITH, 2000). Mensurações diretas de GnRH no sistema hipotálamo-hipófise forneceram fortes evidências de que o estresse atua a nível de hipotálamo inibindo os pulsos de GnRH (FERIN, 2006). Essa inibição ocorre de maneira rápida, pois com o aparecimento de um agente estressor, acontece o declínio de GnRH e diminuição da liberação de LH e FSH em minutos. No entanto, também há evidências que indicam que o efeito do estresse ocorre a nível de hipófise, pois a administração de ACTH ou o transporte reduziram os níveis de LH quando GnRH foi administrado (DOBSON e SMITH, 2000).

Alguns estudos, que serão abordados na sequência, mostraram a interferência na liberação do LH causada por estresse, sem avaliar se a inibição ocorreu a nível de hipotálamo e/ou hipófise. Foi verificado que o estresse interfere nos horários precisos de liberação de LH durante a fase folicular. Como por

exemplo, o transporte, que pode reduzir a frequência e amplitude da liberação de gonadotrofinas e atrasar o pico de LH (DOBSON e SMITH, 2000). Nanda, Dobson e Ward (1990) trabalharam com vacas sincronizadas para ovulação e observaram que o pico de LH não ocorreu ou atrasou, com curta duração ou menor amplitude, quando os animais foram submetidos ao transporte. Já em ovelhas que foram submetidas à ovariectomia, houve supressão da secreção de LH por ação do estresse agudo causado por contenção e isolamento (TILBROOK *et al.*, 1999).

Outro estudo, realizado em ovelhas intactas, mostrou que a redução da pulsatilidade do LH, causada por estresse, retarda o crescimento folicular e reduz a produção de estradiol pelo ovário. Isto interfere no sinal de realimentação positiva do estradiol, retardando o pico de LH e reduzindo a amplitude desse pico (SMITH e DOBSON, 2002).

É importante salientar que menores níveis plasmáticos de estradiol colaboram para a diminuição do comportamento do estro (DOBSON *et al.*, 2001), o que prejudica os resultados de inseminações artificiais (sem sincronização de ovulação), pois estas dependem de sinais comportamentais para apresentarem sucesso. O efeito do estresse no comportamento do estro foi demonstrado por Pierce *et al.* (2008). Estes autores verificaram que estímulos estressantes em ovelhas podem diminuir a atratividade (capacidade da fêmea em atrair o macho) e a proceptividade (motivação da fêmea em iniciar a atividade sexual), no entanto não alteraram a receptividade (atividade de monta).

A alteração na secreção do GnRH e gonadotrofinas causada por estresse também pode afetar a maturação dos oócitos e, conseqüentemente, dos embriões. Ainda que o estímulo estressor não seja suficientemente forte para impedir a ovulação, o suprimento inadequado de gonadotrofinas pode prejudicar a viabilidade dos oócitos. Assim, mesmo que ocorra estro e fertilização, o embrião falhará (DOBSON e SMITH, 2000). Dessa forma, também podem ser atribuídas ao efeito do estresse: falhas no desenvolvimento do oócito, na fertilização e na implantação do embrião (ROCHA *et al.*, 2012).

Um estudo realizado com novilhas mostrou que o aumento do tempo de duração do folículo ovulatório, induzido artificialmente, prejudicou as taxas de prenhez (MIHM *et al.*, 1994). Macedo *et al.* (2011) verificaram que vacas estressadas ao manejo de curral durante o protocolo de superovulação apresentaram menor taxa de viabilidade embrionária.

#### 4.3.1. Ações do CRH e da $\beta$ -Endorfina

O CRH é liberado pelo hipotálamo e tem como ação principal, e mais conhecida, estimular a produção de ACTH pela hipófise (CUNNINGHAM, 2004). No entanto, estudos têm mostrado que este hormônio também tem fortes efeitos sobre o sistema reprodutivo.

Olster e Ferin (1987) mostraram que a infusão de CRH em macacos resultou em rápida inibição de LH e FSH. Também foi observado que a administração de antagonistas do CRH revertem parcialmente a supressão induzida pelo estresse sobre a liberação do LH (RIVIER, RIVIER e VALE, 1986).

No entanto, a inibição da liberação do GnRH e LH, causada pelo CRH, não ocorre por meio da ativação do CRH sobre o eixo H-H-A. Isto é evidenciado por estudos que mostram que a infusão de ACTH não é capaz de mimetizar o efeito do CRH sobre a reprodução (XIAO e FERIN, 1988). Além disso, foi verificado que administração de CRH em macacos, que foram submetidos à adrenalectomia, foi capaz de inibir a pulsatilidade do LH e FSH, mostrando que a adrenal não participa do processo de inibição (XIAO *et al.*, 1989).

A ação do CRH também não ocorre sobre a hipófise, inibindo sua capacidade de resposta ao GnRH, ele parece agir diretamente sobre o hipotálamo, inibindo a liberação de GnRH (SAPOLSKY, ROMERO e MUNCK, 2000). Há evidências fortes de que os opioides endógenos atuam na ação inibitória do CRH sobre liberação pulsátil de LH. (FERIN, 2006).

O opioide endógeno mais estudado nesse sistema é a  $\beta$ -endorfina (SMITH e JENNES, 2001). Esta é liberada pela hipófise, quando estimulada com CRH (GARCIA, 2013). Estudos mostraram que a administração de  $\beta$ -endorfina em humanos, macacos e roedores suprime de forma aguda a pulsatilidade do LH e FSH (FERIN, 2006).

A consequência do efeito do CRH e  $\beta$ -endorfina sobre o GnRH é a diminuição da liberação de LH e FSH pela hipófise, que afeta a liberação de hormônios sexuais pelo ovário (ROCHA *et al.*, 2012). Além disso, o CRH parece atuar diretamente no ovário, modulando sua atividade. Receptores para CRH foram identificados em

ovários de ratos e humanos (MASTORAKOS *et al.*, 1993; MASTORAKOS *et al.*, 1994). Há evidências de que este hormônio iniba a produção de estradiol, decorrente da estimulação realizada pelo FSH, nas células do folículo (FERIN, 2006).

#### 4.3.2. Ações da AVP

Em ovelhas foi observado que a ativação do eixo H-H-A, por endotoxinas, ocasionou aumento das concentrações de CRH e AVP, que coincidiu com a diminuição da pulsatilidade de GnRH e LH (BATTAGLIA *et al.*, 1998). Apesar de fornecer evidências de que a AVP está envolvido na supressão do GnRH e LH, este estudo não avaliou se essa supressão foi causada por efeito específico do AVP. Como já visto, isto poderia ser causado pelo CRH, que é um potente inibidor dos pulsos de GnRH.

Outros trabalhos mostraram a ação específica do AVP sobre a reprodução. Chen *et al.* (1996) verificaram que a infusão de AVP em macacos não modificou a atividade hipotalâmica, mas reduziu as concentrações séricas do LH. Contudo, outro estudo também realizado em macacos mostrou que, além da redução sérica do LH, a infusão de AVP foi capaz de reduzir a frequência dos pulsos do LH (SHALTS *et al.*, 1994). Já em ratas que foram submetidas à ovariectomia, a administração de AVP suprimiu a liberação de LH, afetando a amplitude, sem alterar a frequência do pulso. Esse efeito foi bloqueado com a administração de um antagonista da AVP (CATES, FORSLING e O'BYRNE, 1999).

Apesar de Chen *et al.* (1996) não terem verificado modificações na atividade hipotalâmica com a infusão de AVP, diversos estudos mostram que o local de inibição do AVP sobre o eixo H-H-G é o hipotálamo. Observou-se que o AVP pode atuar controlando a secreção de gonadotrofinas em nível de hipotálamo em situações de estresse, pois foi identificada a presença de sinapses entre neurônios de vasopressina e neurônios de GnRH (THIND, BOGGAN e GOLDSMITH, 1991).

Um experimento *in vitro* mostrou que além de aumentar a liberação de GnRH, a AVP parece atuar modulando a liberação circadiana de GnRH (FUNABASHI *et al.*, 2000). Há indícios de que a AVP em grandes quantidades atue acelerando a atividade do pulso gerador de GnRH a tal nível que pituitária não é capaz de responder corretamente e ocorre uma diminuição da secreção de LH (FERIN, 2006).

#### 4.3.3. Ações do ACTH

Estudos realizados em ratos mostraram que após situações de estresse, causadas por contenção, houve aumento de ACTH e corticosterona acompanhados de decréscimos significativos de LH no plasma (FERIN, 2006). A administração crônica de ACTH em novilhas também resultou em supressão da liberação de LH. Isto causou uma secreção reduzida e prolongada de estradiol pelo ovário, prejudicando a ovulação (DOBSON et al., 2000). Dessa maneira, além de prejudicar a ovulação, há menor intensidade e frequência do comportamento de estro (DOBSON et al., 2001). No entanto, nesses estudos, não é possível concluir que o ACTH isoladamente suprimiu a liberação de LH, pois esse efeito pode ter ocorrido por uma ativação do eixo H-H-A, que tem como consequência a liberação de pequenas quantidades de progesterona e de grandes quantidades cortisol.

Para evidenciar a ação específica do ACTH outros trabalhos foram realizados. Observou-se que o ACTH quando injetado suprime a liberação do LH, induzida por GnRH, e inibe o pico do LH em uma parcela significativa dos animais. No entanto, não houve variação da concentração de cortisol entre os animais que ovularam ou não. Isto indica que a diminuição da resposta do LH ao GnRH é causada, ao menos em partes, pela ação direta do ACTH na hipófise (PHOGAT, SMITH e DOBSON, 1999).

Além disso, foi observado em um estudo semelhante que a administração de ACTH reduziu a resposta do LH ao GnRH em ovelhas e que o aumento de cortisol não foi compatível com a inibição da secreção de LH (TILBROOK *et al.*, 1999). Esses estudos mostram que o ACTH age a nível de hipófise, prejudicando a reprodução.

#### 4.3.4. Ações da progesterona e catecolaminas

Como já visto, a progesterona é liberada pelo córtex da adrenal em situações de estresse. Em quantidades elevadas, esta atua inibindo o estro e o pico pré-ovulatório de LH (HAFEZ, JAINUDEEN e ROSNINA, 2004). A progesterona suprime a fase final do crescimento do folículo, pois diminui a frequência do pulso de LH, através de uma ação direta sobre o hipotálamo (CUNNINGHAM, 2004). Em estudo realizado em ovelhas, observou-se que este esteroide sexual bloqueia a liberação do LH, que seria secretado por feedback positivo de estradiol (KASA-VUBU *et al.*, 1992). Já Davidge *et al.* (1987) mostraram que a progesterona diminuiu o comportamento de estro em vacas, que foram submetidas à ovariectomia, induzidas com estradiol.

A ação das catecolaminas sobre o eixo H-H-G também tem sido estudada. Com já visto, estas são liberadas pela medula da adrenal através ativação do SNS em situações de estresse. Evidências mostram que podem estar envolvidas nas vias pelas quais o estresse inibe a secreção de GnRH e LH. Os estudos realizados verificaram que a infusão de catecolaminas causa supressão da liberação do GnRH e LH (FERIN, 2006). Outros trabalhos indicam que as catecolaminas podem atuar desempenhando um papel semelhante ao do ACTH, inibindo a resposta do LH ao GnRH, a nível de hipófise (TILBROOK, TURNER e CLARKE, 2000).

#### 4.3.5. Ações dos glicocorticoides

Evidências de que o cortisol afeta a reprodução de ruminantes foram fornecidas por Echternkamp (1984). Este autor verificou que vacas aclimatadas a coletas de sangue tiveram maiores concentrações de cortisol e menores de LH, sendo que houve correlação negativa entre esses hormônios. Já em ovelhas, a infusão de cortisol na fase folicular inibiu o desenvolvimento do folículo, produzindo um efeito supressivo maior na fase folicular do que na fase lútea (MACFARLANE *et al.*, 2000). Além disso, o cortisol suprimiu os pulsos de alta frequência de LH que ocorrem no período pré-ovulatório, interferiu no aumento da secreção de estradiol pelos folículos e atrasou ou bloqueou o pico de LH (BREEN *et al.*, 2005).

Os efeitos antirreprodutivos dos glicocorticoides são amplos e ocorrem através da inibição da liberação de GnRH pelo hipotálamo e também por meio da supressão da capacidade de resposta da hipófise ao GnRH (SAPOLSKY, ROMERO e MUNCK, 2000).

A ação sobre o hipotálamo foi mostrada por Gore, Attardi e Defranco (2006), estes administraram cronicamente (durante 6 dias) glicocorticoides em ratos e verificaram que a liberação do GnRH foi inibida. No entanto, é interessante salientar que isso não ocorreu quando a administração foi aguda.

Os glicocorticoides também foram apontados como inibidores da atividade do GnRH nas células hipotalâmicas. Além disso, receptores para glicocorticoides foram identificados nos neurônios de GnRH no hipotálamo (TILBROOK, TURNER e CLARKE, 2000).

A ação dos glicocorticoides sobre a hipófise é suportada por observações de que estes inibem, *in vitro*, a secreção de LH pelas células da hipófise de ratas e vacas, quando é adicionado GnRH (FERIN, 2006). Além disso, foram identificados receptores para glicocorticoides nas células da hipófise, mais especificamente nos gonadotrofos (células que sintetizam gonadotrofinas) e células folículo-estreladas (células que sintetizam um inibidor da resposta dos gonadotrofos ao GnRH; MACEDO, ZÚCCARI e COSTA E SILVA, 2012). Ademais, Breen e Karsch (2004) verificaram que o aumento de cortisol inibiu a amplitude do pulso de LH, sem modificar a liberação do GnRH pelo hipotálamo.

Ainda há indícios de que os glicocorticoides têm ação direta no ovário, inibindo a reprodução em última instância. Estes suprimem a atividade da enzima aromatase, que atua na produção de estradiol (AMWEG, 2015), diminuem o número de receptores de LH e inibem a produção de estradiol nas células da granulosa dos folículos de vacas (KAWATE, INABA e MORI, 1993). Kala e Nivsarkar (2016) observaram que o aumento dos níveis de cortisol em ratos foi correlacionado ao aumento da enzima superóxido dismutase, uma enzima que atua no processo de ovulação. E que, apesar de ser necessária, o excesso dessa enzima pode atuar prejudicando o processo ovulatório.

Assim, os estudos mostram que os glicocorticoides atuam a nível de hipotálamo, hipófise e ovário, suprimindo a reprodução.

Apesar de vários estudos demonstrarem que a administração de glicocorticoides inibe a secreção de gonadotrofinas em diversas espécies, o aumento da secreção de glicocorticoides nem sempre está associado à diminuição da secreção das gonadotrofinas, particularmente em casos de estresse agudo. Muitos estudos indicam que esses hormônios não são os mediadores

predominantes da supressão induzida por estresse sobre a secreção de LH (TILBROOK, TURNER e CLARKE, 2000).

#### 4.3.6. Interação entre o estresse e a reprodução

No esquema apresentado a seguir estão representadas todas as vias citadas pelas quais o estresse afeta a reprodução.

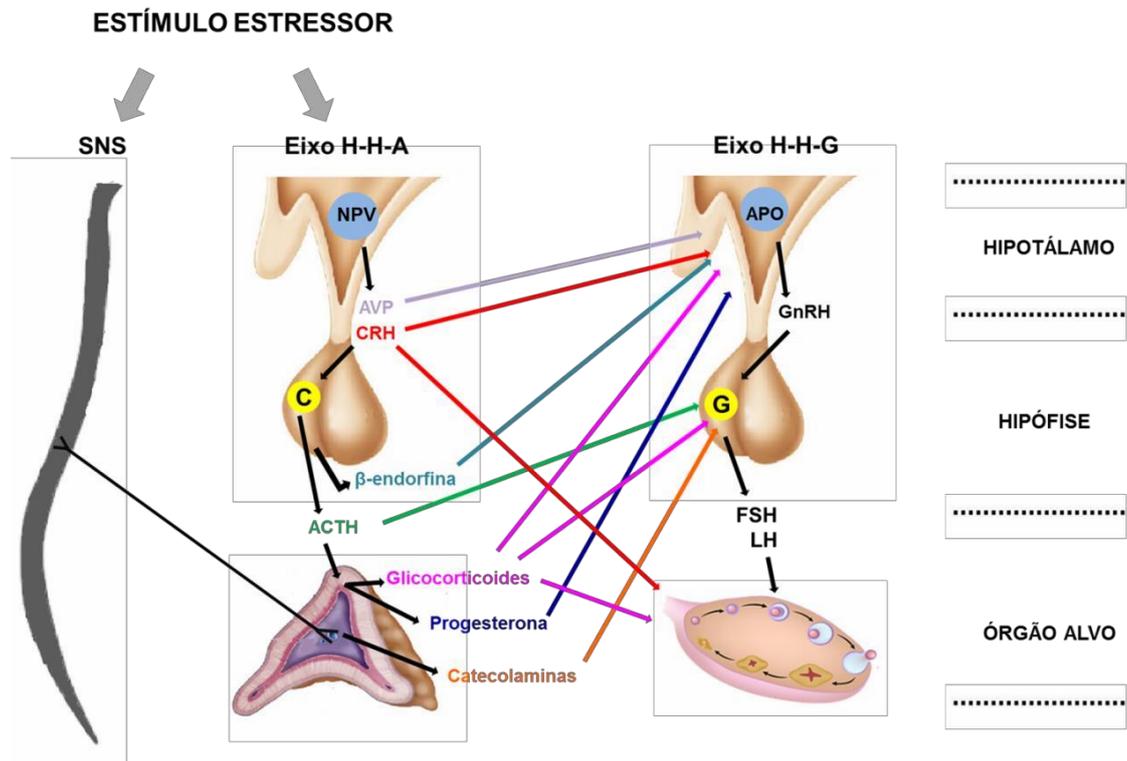


FIGURA 10. AÇÃO DO ESTRESSE SOBRE A REPRODUÇÃO

FONTE: A AUTORA (2016)

NOTAS: DIAGRAMA MOSTRANDO A AÇÃO DO ESTRESSE SOBRE A REPRODUÇÃO. O ESTÍMULO ESTRESSOR ATUA SOBRE O SNS (SISTEMA NERVOSO SIMPÁTICO) QUE, ATRAVÉS DE CONEXÕES NERVOSAS QUE PARTEM DA MEDULA ESPINHAL, CAUSA A LIBERAÇÃO DE CATECOLAMINAS PELA MEDULA DA GLÂNDULA ADRENAL. O ESTÍMULO ESTRESSOR TAMBÉM ATUA SOBRE O EIXO H-H-A (HIPOTÁLAMO-HIPÓFISE-ADRENAL) GERANDO A LIBERAÇÃO DE HORMÔNIOS EM CASCATA CARACTERÍSTICOS DA RESPOSTA DO ORGANISMO AO ESTRESSE. ESSES HORMÔNIOS, JUNTAMENTE COM AS CATECOLAMINAS, INIBEM A REPRODUÇÃO ATUANDO EM DIVERSOS NÍVEIS (HIPOTÁLAMO, HIPÓFISE E/OU OVÁRIO) DO EIXO H-H-G (HIPOTÁLAMO-HIPÓFISE-GONADAL). AS FLECHAS MOSTRAM O(S) LOCAL(IS) DE ATUAÇÃO DE CADA HORMÔNIO, LIBERADO NA RESPOSTA AO ESTRESSE, SOBRE O EIXO H-H-G. NPV: NÚCLEO PARAVENTRICULAR; APO: ÁREA PRÉ-ÓPTICA; C: CORTICOTROFOS; G: GONADOTROFOS.

É importante lembrar que a reprodução é um estado anabólico altamente custoso para as fêmeas e é adiado durante um período de estresse (SAPOLSKY, ROMERO e MUNCK, 2000). Se as condições não são adequadas ocorre inibição da

reprodução, evitando assim os riscos que uma prenhez poderia gerar. A transmissão dos genes para a próxima geração pode esperar (DOBSON *et al.*, 2012).

## **5. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

O conhecimento da fisiologia reprodutiva das fêmeas bovinas se mostra essencial para entender as causas da baixa eficiência reprodutiva do rebanho brasileiro, para elucidar o funcionamento dos protocolos de IATF e para buscar maneiras de melhorá-los. Os estímulos estressores presentes em inúmeras situações rotineiras da pecuária são eficazes na inibição da reprodução, atuando em diversos níveis do eixo hipotálamo-hipófise-gonadal. Dessa forma, mudanças no manejo dos animais e melhorias na interação humano-animal podem atuar benéficamente sobre eficiência reprodutiva.

Assim, enquanto biotecnologias avançadas buscam incrementar os índices reprodutivos, situações rotineiras têm efeitos que atuam em sentido contrário. Por isso, é necessário o entendimento das duas situações, buscando melhorar os resultados da primeira e amenizar os efeitos da segunda. Nesse sentido, estudos que mostrem o efeito do estresse sobre a reprodução em protocolos de IATF devem ser realizados, pois esses protocolos submetem os animais a estímulos estressores significantes.

## REFERÊNCIAS

- ABEBE, G.; SCOTT, J.; ELEY, R. Absence of diurnal rhythm of plasma cortisol in *Bos indicus* (Boran) cattle. **Tropical Agriculture (Trinidad)**. v. 69, n. 1, p. 39-42, 1992.
- AGUIAR, F. C.; LEITE, E. R.; ELOY, A. M. X. **Impactos do estresse sobre produção animal**. Sobral, CE: Embrapa Caprinos, 26 p., 2007.
- AMWEG, A. N.; SALVETTI, N. R.; REY, F.; ORTEGA, H. H. Elementos de respuesta a estrés en el ovario y su implicancia en la stress response elements in the ovary and its implication in ovarian. **Revista Ciencias Morfológicas**. v. 17, n. 2, p. 26-39, 2015.
- ANUALPEC - Anuário da Pecuária Brasileira. **Pecuária de corte – estatísticas**. cap. 2-3, p. 33-112, São Paulo: Informa Economics FNP, 2015.
- ARANTES, A. O.; AQUINO, B. R.; URMAN, F. L.; FRANCELINO, P. E.; BARBOSA, T. C.; BERBER, R. C. A. Efeitos da condição de estresse em bovinos de corte. **Scientific Electronic Archives**, Sinop, v. 3, p. 63-72, 2013.
- AYRES, H.; MARTINS, C. M.; FERREIRA, R. M.; MELLO, J. E.; DOMINGUEZ, J. H.; SOUZA, A. H.; VALENTIN, R.; SANTOS, I. C. C.; BARUSELLI, P. S. Effect of timing of estradiol benzoate administration upon synchronization of ovulation in suckling Nelore cows (*Bos indicus*) treated with a progesterone-releasing intravaginal device. **Animal Reproduction Science**. v. 109, p. 77-87, 2008.
- BAGE, R.; FORSBERG, M.; GUSTAFSSON, H.; LARSSON, B.; RODRIGUEZ-MARTINEZ, H. Effect of ACTH-challenge on progesterone and cortisol levels in ovariectomised repeat breeder heifers. *Animal Reproduction Science*. v. 63, p. 65–76, 2000.
- BALL, P. J. H.; PETERS, A. R. **Reprodução em bovinos**. 3th. ed. São Paulo: Roca, p. 159, 2006.
- BARUSELLI, P. S.; REIS, E. L.; MARQUES, M. O.; NASSER, L. F.; BÓ, G. A. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrus beef cattle in tropical climates. **Animal Reproduction Science**, v. 82–83, p. 479–486, 2004.
- BARUSELLI, P. S.; GIMENES, L. U.; SALES, J. N. S. Fisiologia reprodutiva de fêmeas taurinas e zebuínas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 31, n. 2, p. 205-211, 2007.
- BARUSELLI, P. S.; JACOMINI, J. O.; SALES, J. N. S.; CREPALDI, G. A. Importância do emprego da eCG em protocolos de sincronização para IA, TE e SOV em tempo fixo. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUÇÃO ANIMAL APLICADA, 3., 2008, Londrina, PR. **Anais...** Londrina, PR: SIRAA, 2008. p. 146-167.

- BARUSELLI, P. S.; SALES, J. N. S.; SALA, R. V.; VIEIRA, L. M.; SÁ FILHO, M. F. History, evolution and perspectives of timed artificial insemination programs in Brazil. **Animal Reproduction**. v. 9, p. 139-152, 2012.
- BATTAGLIA, D. F.; BROWN, M. E.; KRASA, H. B.; THRUN, L. A.; VIGUIÉ, C.; KARSCH, F. J. Systemic challenge with endotoxin stimulates corticotropin-releasing hormone and arginine vasopressin secretion into hypophyseal portal blood: coincidence with gonadotropin-releasing hormone suppression. **Endocrinology**. v. 139, p. 4175-4181, 1998.
- BLANCHARD, D. C.; BLANCHARD, R. J. Ethoexperimental approaches to the biology of emotion. **Annual Review of Psychology**. Palo Alto, v. 39, p. 43-68, 1988.
- BÓ, G. A.; BARUSELLI, P. S.; MARTÍNEZ, M. F. Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 78, p. 307-326, 2003.
- BÓ, G. A.; CUTAIA L.; PERES, L. C.; PINCINATO, D.; MARAÑA, D.; BARUSELLI, P. S. Technologies for fixed-time artificial insemination and their influence on reproductive performance of *Bos indicus* cattle. **Society of Reproduction and Fertility Supplement**. v. 64, p. 223-236, 2007.
- BÓ, G. A.; CUTAIA L.; SOUZA, A. H.; BARUSELLI, P. S. Actualización sobre protocolos de IATF en bovinos de leche utilizando dispositivos con progesterona. **Revista Taurus**. v. 11, p. 20-34, 2009.
- BÓ, G. A.; MAPLETOFT, R. J. Estado del arte de las técnicas de control de desarrollo folicular y la ovulación para el empleo de las biotecnologías. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUÇÃO ANIMAL APLICADA, 4., 2010, Londrina. **Anais...** Londrina, PR: [S.I.], 2010. p.23-48.
- BÓ, G. A.; BARUSELLI, P. S. Synchronization of ovulation and fixed-time artificial insemination in beef cattle. **Animal**. v. 8, p. 144-150, 2014.
- BORGES, A. M.; TORRES, C. A. A.; RUAS, J. R. M.; ROCHA JÚNIOR, V. R.; CARVALHO, G. R. Desenvolvimento luteal e concentrações plasmáticas de progesterona em vacas das raças Gir e Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, n. 2, p. 276-283, 2003.
- BREEN, K. M.; KARSCH, F. J. Does Cortisol Inhibit Pulsatile Luteinizing Hormone Secretion at the Hypothalamic or Pituitary Level? **Endocrinology**. v. 145, p. 692-698, 2004.
- BREEN, K. M.; BILLINGS, H. J., WAGENMAKER, E. R.; WESSINGER, E. W.; KARSCH, F. J. Endocrine basis for disruptive effects of cortisol on preovulatory events. **Endocrinology**. v. 146, n. 4, p. 2107-2115, 2005.

BROOM, D.M.; JOHNSON, K.G. **Stress and animal welfare**. London: Chapman & Hall, 211p., 1993.

CANNON, W. B.; DE LA PAZ, D. Emotional stimulation of adrenal secretion. **American Journal Physiology**, v. 27, p. 64-70, 1911.

CARRASCO, G. A.; VAN DE KAR, L. D. Neuroendocrine pharmacology of stress. **European Journal of Pharmacology**, v. 463, p. 235–272, 2003.

CATES, P. S.; FORSLING, M. L.; O'BYRNE, K. T. Stress-induced suppression of pulsatile luteinising hormone release in the female rat: role of vasopressina. **Journal of Neuroendocrinology**. v. 11, p. 677–683, 1999.

CHEN, M. D.; ORDOG, T.; GOLDSMITH, J. R.; CONNAUGHTON, M. A.; KNOBIL, E. The insulin hypoglycemia-induced inhibition of gonadotropin- releasing hormone pulse generator activity in the rhesus monkey: roles of vasopressin and corticotropin-releasing factor. **Endocrinology**. v. 137, p. 2012-2021, 1996.

COOKE, R. F.; BOHNERT, D. W.; MENEGHETTI, M.; LOSI, T. C.; VASCONCELOS, J. L. M. 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. Comportamento e eficiência reprodutiva. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 31, n. 2, p.177-182, 2007.

COSTA-E-SILVA, E. V.; RUEDA, P. M.; CARNEIRO, R. C. P. B.; MACEDO, G. G.; ZÚCCARI, C. E. S. N. Estratégias para avaliar bem-estar animal em animais em reprodução. II CONGRESSO BRASILEIRO DE BIOÉTICA E BEM ESTAR ANIMAL, 2., 2010, Belo Horizonte. **Revista Ciência Veterinária nos Trópicos**, Recife-PE, v. 13, suplemento 1, p. 20-28, 2010.

CUNNINGHAM, J. G. **Tratado de Fisiologia Veterinária**. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 596p.

DAVIDGE, S. T.; WIEBOLD, J. L.; SENGER, P. L.; HILLERS, J. K. Influence of varying levels of blood progesterone upon estrus behavior in cattle. **Journal Animal Science**. v. 64, p. 126-132, 1987.

DIAS-FILHO, M. B. **Diagnóstico das pastagens no Brasil**. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2014. 12p.

DOBSON, H.; RIBADU, A. Y.; NOBLE, K. M.; TEBBLE; J. E.; WARD, W. R. Ultrasonography and hormone profiles of adrenocorticotrophic hormone (ACTH)-induced persistent ovarian follicles (cysts) in cattle. **Journal of Reproduction and Fertility**. v. 120, p. 405-10, 2000.

DOBSON, H.; SMITH, R. F. What is stress, and how does it affect reproduction? **Animal Reproduction Science**, v. 60, p. 743–752, 2000.

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

DOBSON, H.; FERGANI, C.; ROUTLY, F. E.; SMITH, R. F. Effects of stress on reproduction in ewes. **Animal Reproduction Science**. v. 130, p. 135-140, 2012.

DUNN, A. J.; BERRIDGE, C. W. Physiological and behavioral responses to corticotropin-releasing factor administration: is CRF a mediator of anxiety or stress responses? **Brain Research Reviews**. v. 15, p. 71-100, 1990.

ECHTERNKAMP, S. E. Relationship between lh and cortisol in acutely stressed beef cows. **Theriogenology**. v. 22, p. 305-311, 1984.

EDWARDS, L. M.; RAHE, C. H.; GRIFFIN, J. L.; WOLFE, D. F.; MARPLE, D. N.; CUMMINS, K. A.; PITCHETT, J. F. Effect of transportation stress on ovarian function in superovulated hereford heifers. **Theriogenology**. v. 28, p. 291-299, 1987.

EILER, H. Glândulas endócrinas. In: DUKES, H.H. **Fisiologia dos animais domésticos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. p.577-622.

ESPEY, L. L.; RICHARDS, J. S. Ovulation. In: NEILL, J. D. **Knobil and Neill's Physiology of Reproduction**. 3.ed. v. 1. Pittsburgh: Elsevier, 2006. p.425-474.

ETIM, N. N.; OFFIONG, E. E. A.; EYOH, G. D.; UDO, M. D. Stress and animal welfare: an uneasy relationship. **European Journal of Advanced Research in Biological and Life Sciences**, v. 1, n. 1, 2013.

EUCLIDES FILHO, K.; EUCLIDES, V. P. B. Desenvolvimento recente da pecuária de corte brasileira e suas perspectivas. In: PIREZ, A. V. **Bovinocultura de corte**. Piracicaba, SP: FEALQ, 2010. v. 1, cap. 2, p 11-40.

FERREIRA, A. M. **Reprodução da fêmea bovina: fisiologia aplicada e problemas mais comuns (causas e tratamentos)**. 1.ed. Juiz de Fora, MG: Editar, 2010.

FERRAZ, J. V. E se o preço do boi gordo chegar a R\$ 2,50/@? **Anuário da Pecuária Brasileira – ANUALPEC**. 15-16p. São Paulo: Informa Economics FNP, 2015.

FERIN, M. Stress and the reproductive system. In: NEILL, J. D. **Knobil and Neill's Physiology of Reproduction**. 3.ed. v. 1. Pittsburgh: Elsevier, 2006.

FILGUEIRAS, J. C.; HIPPERT, M. I. S. A polêmica em torno do conceito de estresse. **Psicologia: Ciência e Profissão**. v. 19, n. 3, p. 40-51, 1999

FRANÇA, L. M.; RODRIGUES, A. S.; BRANDÃO, L. G. N.; LOIOLA, M. V. G.; CHALHOUB, M.; FERRAZ, P. A.; BITTENCOURT, R. F.; JESUS, E. O.; RIBEIRO FILHO, A. L. Comparação de dois ésteres de estradiol como indutores da ovulação sobre o diâmetro folicular e a taxa de gestação de bovinos leiteiros submetidos a

programa de Inseminação Artificial em Tempo Fixo. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**. v. 16, n. 4, p. 958-965, 2015.

FUJITA, A. S.; WEISS, R. R.; ROSSI JUNIOR, P.; KOZICKI, L. E.; GRESELLE, F. V. N.; BERTOL, M. A. F. Taxa de gestação em novilhas nelore sincronizadas para IATF e inseminadas com sêmen resfriado e congelado. **Archives of Veterinary Science**. v. 18, n. 3, p. 13-21, 2013.

FULKERSON, W. J.; SAWYER, G. J.; GOW, C. B. Investigations of ultradian and circadian rhythms in the concentration of cortisol and prolactin in the plasma of dairy cattle. **Australian Journal of Biological Sciences**, v. 33, p. 557-567, 1980.

FUNABASHI, T.; SHINOHARA, K.; MITSUSHIMA, D.; KIMURA, F. Gonadotropin-releasing hormone exhibits circadian rhythm in phase with arginine-vasopressin in co-cultures of the female rat preoptic area and suprachiasmatic nucleus. **Journal of Neuroendocrinology**. v. 12, p. 521–528, 2000.

GARCIA, A. R. Conforto térmico na reprodução de bubalinos criados em condições tropicais. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 37, n. 2, p. 121-130, 2013.

GORE, A. C.; ATTARDI, B.; DEFRANCO, D. B. Glucocorticoid repression of the reproductive axis: Effects on GnRH and gonadotropin subunit mRNA levels. **Molecular and Cellular Endocrinology**. v. 256, p. 40–48, 2006.

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

GRANDIN, T. Behavioural principles of handling cattle and other grazing animals under extensive conditions. In: **Livestock handling and transport**. 4th. ed. Oxfordshire: CABI, 2000.

HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. Foliculogênese, maturação ovocitária e ovulação. In: HAFEZ, B.; HAFEZ, E. S. E. **Reprodução Animal**. Barueri, SP: Manole, 2004. p.69-82.

HAFEZ, E. S. E.; JAINUDEEN, M. R.; ROSNINA, Y. Hormônios, fatores de crescimento e reprodução. In: HAFEZ, B.; HAFEZ, E. S. E. **Reprodução Animal**. Barueri, SP: Manole, 2004. p.33-54.

HARBUZ, M. S.; LIGHTMAN, S. L. Stress and the hypothalamo-pituitary-adrenal axis: acute, chronic and immunological activation. **Journal of Endocrinology**. v. 134, p. 327-339, 1992.

HEMSWORTH, P. H.; COLEMAN, G. J. **Human–livestock interactions: the stockperson and the productivity and welfare of intensively farmed animals**. 2th. ed. Oxfordshire: CABI, 2011.

HÖTZEL, M. J., MACHADO FILHO, L. C. P.; YUNES, M. C.; SILVEIRA, M. C. A. C. Influência de um ordenhador aversivo sobre a produção leiteira de vacas da raça holandesa. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n. 4, p. 1278-1284, 2005.

IBGE. **Censo Agropecuário 2006: Resultados Preliminares**. Rio de Janeiro. 2007. 146p.

ISHIZAKI, H.; KARIYA, Y. Road Transportation Stress Promptly Increases Bovine Peripheral Blood Absolute NK Cell Counts and Cortisol Levels. **The Journal of veterinary medical science / the Japanese Society of Veterinary Science**, n. 6, v. 72, p. 747-753, 2010.

JAIN, N. C. **Essentials of veterinary hematology**. California: Wiley, 1993.

KALA, M.; NIVSARKAR, M. Role of cortisol and superoxide dismutase in psychological stress induced anovulation. **General and Comparative Endocrinology**. v. 225, p. 117-124, 2016.

KASA-VUBU, J. Z.; DAHL, G. E.; EVANS, N. P.; THRUN, L. A.; MOENTER, S. M.; PADMANABHAN, V.; KARSCH, F. J. Progesterone blocks the estradiol-induced gonadotropin discharge in the ewe by inhibiting the surge of gonadotropin-releasing hormone. **Endocrinology**. v. 131, n. 1, p. 208–212, 1992.

KAWATE, N.; INABA, T.; MORI, J. Effects of cortisol on the amounts of estradiol-17 $\beta$  and progesterone secreted and the number of luteinizing hormone receptors in cultured bovine granulosa cells. **Animal Reproduction Science**. v. 32, p. 15-25, 1993.

LADWIG, J. Endocrine aspects of stress: evaluation of stress reaction in farm animals. In; WIEPKEMA, P. R.; VAN ADRICHEM, P. W. M. **Biology of stress in farm animals: an integrative approach**. Netherlands: Martinus Nijhoff Publishers, 1987. p.13-25.

LEFCOURT, A. M.; BITMAN J.; S. KAHL; WOOD, D. L. Circadian and Ultradian Rhythms of Peripheral Cortisol Concentrations in Lactating Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**. v. 76, n. 9, p. 2607-2612, 1993.

LIMA-VERDE, I. B.; ROSSETTO, R.; FIGUEIREDO, J. R. Influência dos hormônios esteroides na foliculogênese. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. v. 35, n. 4, p. 472-482, 2011.

MACEDO, G.G.; ZÚCCARI, C. E. S. N.; ABREU, U. G. P.; NEGRÃO, J. A.; COSTA E SILVA, E. V. Human–animal interaction, stress, and embryo production in *Bos indicus* embryo donors under tropical conditions. **Tropical Animal Health and Production**. v. 43, p. 1175-1182, 2011.

MACEDO, G.G.; ZÚCCARI, C. E. S. N.; COSTA E SILVA, E. V. Efeito do estresse na eficiência reprodutiva de fêmeas bovinas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 36, n. 1, p. 10-17, 2012.

MACFARLANE, M. S.; BREEN, K. M.; SAKURAI, H.; ADAMS B.M.; ADAMS, T. E. Effect of duration of infusion of stress-like concentrations of cortisol on follicular development and the preovulatory surge of LH in sheep. **Animal Reproduction Science**. v. 63, p. 167-175, 2000.

MACHADO, R.; CARNEIRO, M. A.; BARBOSA, R. T.; MADUREIRA, E. H.; ALENCAR, M. M.; BINELLI, M. Taxas de serviço, concepção e prenhez de vacas nelore tratadas com gonadotrofina coriônica humana e 17 $\beta$ -estradiol após a inseminação artificial em tempo fixo. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 45, n. 3, p. 221-230, 2008.

MAGALHÃES, D. M.; FERNANDES, D. D.; ARAÚJO, V. R.; ALMEIDA, A. P.; MATOS, M. H. T.; FIGUEIREDO, J. R. Papel do hormônio foliculo estimulante na foliculogênese *in vivo* e *in vitro*. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 33, n. 4, p. 171-182, 2009.

MARTIN, I.; FERREIRA, J. C. P. Fisiologia da ovulação e da formação do corpo lúteo bovino. **Revista Veterinária e Zootecnia**, v. 16, n. 2, p. 270-279, 2009.

MARTINS, C. M.; VALENTIM, R.; BOMBONATTO, D. S.; SANTOS, I. C. C.; BARUSELLI, P. S. Efeito do FSH e do eCG na dinâmica folicular e taxa de prenhez de protocolos de IATF em vacas zebuínas em anestro. **Acta Scientiae Veterinaria**. v. 38, p. 731, 2010.

MASTORAKOS, G.; WEBSTER, E. L.; FRIEDMAN, T. C.; CHROUSOS, G. P. Immunoreactive Corticotropin-releasing Hormone and Its Binding Sites in the Rat Ovary. **The Journal of Clinical Investigation**. v. 92, p. 961-968, 1993.

MASTORAKOS, G.; SCOPA, C. D.; VRYONIDOU, A.; FRIEDMAN, T. C.; KATTIS, D.; PHENEKOS, C.; MERINO, M. J.; CHROUSOS, G. P. Presence of immunoreactive corticotropin-releasing hormone in normal and polycystic human ovaries. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**. v. 79, n. 4, p. 1191-1197, 1994.

MAZIERO, R. R. D; MARTINS, A. C.; MOLLO, M. R.; MARTIN, I; BASTOS, M. R.; FERREIRA, J. C. P.; RUMPF, R.; SARTORI, R. Ovarian function in cows submitted to acute stress during proestrus. **Livestock Science**, v. 138, p. 105–108, 2011.

MAZIERO, R. R. D; MARTIN, I.; MATTOS, M. C. C.; FERREIRA, J. C. P. Avaliação das concentrações plasmáticas de cortisol e progesterona em vacas Nelore (*Bos taurus indicus*) submetidas a manejo diário ou manejo semanal. **Revista Veterinária e Zootecnia**, v. 19, n. 3, p. 366-372, 2012.

MELLO, R. R. C.; FERREIRA, J. E.; MELLO, M. R. B.; PALHANO, H. B. Aspectos da dinâmica folicular em bovinos. **ACSA – Agropecuária Científica no Semiárido**. v. 10, n. 4, p. 01-06, 2014a.

MELLO, R. R. C.; FERREIRA, J. E.; MELLO, M. R. B.; PALHANO, H. B. Utilização da gonadotrofina coriônica equina (eCG) em protocolos de sincronização da

ovulação para IATF em bovinos: revisão. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. v. 38, n. 3, p. 129-134, 2014b.

MENDES, J. T. G.; PADILHA JUNIOR, J. B. **Agronegócio - Uma Abordagem Econômica**. São Paulo: Prentice Hall, 2007.

MEZZADRI, F. P. **Cenário atual da pecuária de corte – aspectos do Brasil com foco no estado do Paraná**. Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento - Departamento de Economia Rural. Curitiba, PR: SEAB/DERAL, 2007. 49p.

MEZZADRI, F. P. **Análise da conjuntura agropecuária ano 2012/2013 - pecuária de corte**. Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento - Departamento de Economia Rural. Curitiba, PR: SEAB/DERAL, 2013. 49p.

MIHM, M.; BAGUISI, A.; BOLAND, M. P.; ROCHE, J. F. Association between the duration of dominance of the ovulatory follicle and pregnancy rate in beef heifers. **Journal of Reproduction and Fertility**. v. 102, p. 123-130, 1994.

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - Assessoria de Gestão Estratégica. Valor bruto da produção - lavouras e pecuária – Brasil. Disponível em: <[http://www.agricultura.gov.br/arq\\_editor/file/Comunicacao/2014%20VBP%20e%20aspeyres%20agropecuaria%2002.xls](http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/Comunicacao/2014%20VBP%20e%20aspeyres%20agropecuaria%2002.xls)>. Acesso em: 16 de setembro de 2015.

MOBERG, G. P. Biological response to stress: implications for animal welfare. In: MOBERG, G. P.; MENCH, J. A. **The biology of animal stress: basic principles and implications for animal welfare**. Oxfordshire: CAB International, 2000. p. 1-21.

MONTEIRO, B. M.; VIANA, R. B. Estado da arte da inseminação artificial em tempo fixo em gado de corte no Brasil. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 54, n. 1, p. 89-97, 2011.

NAKAO, T.; SATO, T.; MORIYOSHI, M.; KAWATA, K. Plasma cortisol response in dairy cows to vaginoscopy, genital palpation per rectum and artificial insemination. **Journal of Veterinary Medicine Series A**. v. 41, p. 16-21, 1994

NANDA, A. S.; DOBSON, H.; WARD, W. R. Relationship between an increase in plasma cortisol during transport-induced stress and failure of oestradiol to induce a luteinising hormone surge in dairy cows. **Research in Veterinary Science**. v. 49, 1990, 25p.

OIAGEN, R. P.; BARCELLOS, J. O. J.; CHISTOFARI, L. F.; CASTRO, E. E. C.; CANOZZI, M. E. A. Custo de produção em terneiros de corte: uma revisão. **Revista Veterinária em Foco**, v. 3, n. 2, p. 169-180. Canoas, RS: ULBRA, 2006.

OLIVEIRA, R. L.; BARBOSA, M. A. A. F.; LADEIRA, M. M.; SILVA, M. M. P.; ZIVIANI, A. C.; BAGALDO, A. R. Nutrição e manejo de bovinos de corte na fase de cria. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, n.1, v. 7, p. 57-86, 2006.

OLIVEIRA, F. A.; LOPES, A. C.; TORRES, C. A. A.; PENITENTE FILHO, J. M. P.; BOLZAN, R. P.; RANGEL, O. J. P.; MORAES, R. M. Principais protocolos de IATF e

particularidades de cada categoria animal. In: MOREIRA, G. R.; MARTINS, C. B.; DEMINICIS, B. B. **Tópicos Especiais em Ciência Animal III**. v. 2. Alegre, ES: CAUFES, 2015. p.257-277.

OLIVEIRA, L. Z.; DOMINGUES, G. A.; ATIQUE NETTO, H.; OLIVEIRA, C. S.; SENA, L. M.; MARTINS, C. B. IATF X TETF: uma abordagem sobre a aplicação atual dessas biotécnicas reprodutivas. In: MOREIRA, G. R.; MARTINS, C. B.; DEMINICIS, B. B. **Tópicos Especiais em Ciência Animal III**. v. 2. Alegre, ES: CAUFES, 2015. p.218-235.

OLSTER, D. H.; FERIN, M. Corticotropin-releasing hormone inhibits gonadotropin secretion in the ovariectomized rhesus monkey. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**. v. 65, n. 2, p. 262-267, 1987.

PARANHOS DA COSTA, M. J. R. Ambiência na produção de bovinos de corte a pasto. **Anais de Etologia**, v. 18, p. 26-42, 2000.

PARANHOS DA COSTA, M. J. R.; COSTA E SILVA, E. V. Aspectos básicos do comportamento social de bovinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 31, n. 2, p. 172-176, 2007.

PARANHOS DA COSTA, M. J. R.; MORALES, A. M. T. Practical approach on how to improve the welfare in cattle. **Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias**, Medellín, v. 24, n. 3, p. 347-359, 2011.

PETERS, M. D. P.; BARBOSA SILVEIRA, I. D.; RODRIGUES, C. M. Interação humano e bovino de leite. **Revista Archivos de Zootecnia**, v. 56, p. 9-23, 2007.

PFEIFER, L. F. M.; SCHNEIDER, A.; SILVA NETO, J. W.; ZIGUER, E. A.; DIONELLO, N. J. L.; CORRÊA, M. N. Avaliação biológica e econômica do uso de flunixin meglumine em vacas e novilhas de corte inseminadas em tempo fixo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 8, p. 1392-1397, 2008.

PHOGAT, J.B.; SMITH, R.F.; DOBSON, H. Effect of adrenocorticotrophic hormone (ACTH<sup>1-24</sup>) on ovine pituitary gland responsiveness to exogenous pulsatile GnRH and oestradiol-induced LH release in vivo. **Animal Reproduction Science**. v. 55, p. 193-203, 1999.

PIERCE, B. N.; HEMSWORTH, P. H.; RIVALLAND, E. T. A.; WAGENMAKER, E. R.; MORRISSEY, A. D.; PAPARGIRIS, M. M.; CLARKE, I. J.; KARSCH, F. J.; TURNER, A. I.; TILBROOK, A. J. Psychosocial stress suppresses attractivity, proceptivity and pulsatile LH secretion in the ewe. **Hormones and Behavior**. v. 54, p. 424-434, 2008.

RADOSTITS, O. M.; BLOOD, D. C. **Manual de controle da saúde e produção dos animais**. São Paulo: Manole, 1986.

RIPPE, C. A. El ciclo estral. In: DAIRY CATTLE REPRODUCTION CONFERENCE, 2009, Minneapolis. **Anais ... Minneapolis: BOISE**, 2009. p. 111-116.

RIVIER, C.; RIVIER, J.; MORMEDE, P.; VALE, W. Studies of the nature of the interaction between vasopressin and corticotropin-releasing factor on adrenocorticotropin release in the rat. **Endocrinology**. v. 115, n. 3, p. 882-886, 1984.

RIVIER, C.; RIVIER, J.; VALE, W. Stress-induced inhibition of reproductive functions: role of endogenous corticotropin-releasing factor. **Science**. v. 231, p. 607-609, 1986.

ROCHA, J. M.; RABELO, M. C.; SANTOS, M. H. B.; CHAVES, R. M.; MACHADO, P. P.; FREITAS NETO, L. M.; OLIVEIRA, M. A. L. Eficiência reprodutiva de vacas Nelore submetidas a diferentes manejos na Região Agreste do Estado do Rio Grande do Norte. **Medicina Veterinária**, Recife, v. 1, n. 1, p. 58-61, 2007a.

ROCHA, J. M.; RABELO, M. C.; SANTOS, M. H. B.; MACHADO, P. P.; BARTOLOMEU, C. C.; NEVES, J. P.; LIMA, P. F.; OLIVEIRA, M. A. L. IATF em vacas Nelore: avaliação de duas doses de eCG e reutilização de implantes intravaginais de progesterona. **Medicina Veterinária**, Recife, v. 1, n. 1, p. 40-47, 2007b.

ROCHA, D. R.; SALLES, M. G. F.; MOURA, A. A. A. N.; ARAÚJO, A. Impacto do estresse térmico na reprodução da fêmea bovina. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 36, n. 1, p. 18-24, 2012.

RUSSI, L. S.; ROSA, M. S.; BARBALHO, P. C.; COSTA-E-SILVA, E. V.; ZÚCCARI, C. E. S. N. Etologia aplicada em bovinos. **Revista de Etologia**, v. 10, n. 1, p. 45-53, 2011.

SÁ FILHO, M. F.; AYRES, H.; FERREIRA, R. M.; MARQUES, M. O.; REIS, E. L.; SILVA, R. C. P.; RODRIGUES, C. A.; MADUREIRA, E. H.; BÔ, G. A.; BARUSELLI, P. S. Equine chorionic gonadotropin and gonadotropin-releasing hormone enhance fertility in a norgestomet-based, timed artificial insemination protocol in suckled Nelore (*Bos indicus*) cows. **Theriogenology**. v. 73, p. 651-658, 2010.

SÁ FILHO, M. F.; MARQUES, M. O.; BARUSELLI, P. S. Indução de ciclicidade e IATF em novilhas zebuínas. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUÇÃO ANIMAL APLICADA, 4., 2010, Londrina. **Anais...** Londrina, PR: [S.I.], 2010. p. 79-100.

SALES, J. N. S.; CARVALHO, J. B. P.; CREPALDI, G. A.; CIPRIANO, R. S.; JACOMINI, J. O.; MAIO, J. R. G.; SOUZA, J. C.; NOGUEIRA, G. P.; BARUSELLI, P. S. Effects of two estradiol esters (benzoate and cypionate) on the induction of synchronized ovulations in *Bos indicus* cows submitted to a timed artificial insemination protocol. **Theriogenology**. v. 78, p. 510-516, 2012.

SALLES, M.G.F.; ARAÚJO, A.A. Corpo lúteo cíclico e gestacional: revisão. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 34, n. 3, p.185-194, 2010.

SAPOLSKY, R. M.; ROMERO, L. M.; MUNCK, A. U. How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. **Endocrine Reviews**. v. 21, n. 1, p. 55-89, 2000.

SAWCHENKO, P. E.; SWANSON, L. W.; VALE W. W. Co-expression of corticotropin-releasing factor and vasopressin immunoreactivity in parvocellular neurosecretory neurons of the adrenalectomized rat. **Neurobiology**. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. v. 81, p. 1883-1887, 1984.

SHALTS, E.; XIA, L.; XIAO, E.; FERIN, M. Inhibitory effect of arginine-vasopressin on LH secretion in the ovariectomized rhesus monkey roles of vasopressin and corticotropin-releasing. **Neuroendocrinology**. v. 59, p. 336-342, 1994.

SELYE, H. A syndrome produced by diverse nocuous agents. **Nature**, v. 138, p. 32, 1936.

SELYE, H. **Stress: a tensão da vida**. São Paulo: Ibrasa, 2<sup>a</sup> ed., 1965.

SILANIKOVE, N. Effects of heat stress on the welfare of extensively managed domestic ruminants. **Livestock Production Science**. v. 67, p. 1–18, 2000.

SILVEIRA, I. D. B; FISCHER, V.; MENDONÇA, G. Comportamento de bovinos de corte em pista de remate. **Revista Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 5, p.1529-1533, 2006.

SILVEIRA, I. D. B; FISCHER, V.; SOARES, G. J. D. Relação entre o genótipo e o temperamento de novilhos em pastejo e seu efeito na qualidade da carne. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 2, p. 519-526, 2006.

SMITH, M. J.; JENNES, L. Neural signals that regulate GnRH neurones directly during the oestrous cycle. **Reproduction**. v. 122, p. 1-10, 2001.

SMITH, R. F.; DOBSON, H. Hormonal interactions within the hypothalamus and pituitary with respect to stress and reproduction in sheep. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 23, p. 75–85, 2002.

STAGG, K.; DISKIN, M. G.; SREENAN, J. M.; ROCHE, J. F. Follicular development in long-term anestrous suckled beef cows fed two levels of energy postpartum. **Animal Reproduction Science**. v. 38, p. 49-61, 1995.

STRAIN, G. M. Sistema nervoso vegetativo. In: DUKES, H.H. **Fisiologia dos animais domésticos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. p.858-870.

THIND, K. K.; BOGGAN, J. E.; GOLDSMITH, P. C. Interactions between vasopressin and gonadotropin-releasing-hormone-containing neuroendocrine neurons in the monkey supraoptic nucleus. **Neuroendocrinology**. v. 53, p. 287-297, 1991.

TILBROOK, A. J.; CANNY, B. J.; SERAPIGLIA, M. D.; AMBROSE, T. J.; CLARKE, I. J. Suppression of the secretion of luteinizing hormone due to isolation/restraint stress in gonadectomised rams and ewes is influenced by sex steroids. **Journal of Endocrinology**. v. 160, p. 469-481, 1999.

TILBROOK, A. J.; TURNER, A. I.; CLARKE, I. J. Effects of stress on reproduction in non-rodent mammals: the role of glucocorticoids and sex differences. **Reviews of Reproduction**. v. 5, p. 105-113, 2000.

TRENKLE, A.; WILLHAM, R. L. Beef production efficiency: The efficiency of beef production can be improved by applying knowledge of nutrition and breeding. **Science**. v. 198, p. 1009-1015, 1977.

UNDERWOOD, W. J. Pain and distress in agricultural animals. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. v. 221, p. 208-211, 2002.

XIAO, E.; FERIN, M. The inhibitory action of corticotropin-releasing hormone on gonadotropin secretion in the ovariectomized rhesus monkey is not mediated by adrenocorticotrophic hormone. **Biology of Reproduction**. v. 38, n. 4, p. 763-767, 1988.

XIAO, E.; LUCKHAUS, J.; NIEMANN, W.; FERIN, M. Acute inhibition of gonadotropin secretion by corticotropin-releasing hormone in the primate: Are the adrenal glands involved? **Endocrinology**. v. 124, n. 4, p. 1632-1637, 1989.

YOSHIDA, C. NAKAO, T. Response of plasma cortisol and progesterone after acth challenge in ovariectomized lactating dairy cows. **Journal of Reproduction and Development**. v. 51, n. 1, p. 99-107, 2005.

## **CAPÍTULO II - EFEITOS DE AGENTES ESTRESSORES SOBRE OS NÍVEIS SÉRICOS DE CORTISOL E TAXA DE PREENHIZ EM VACAS NELORE (*Bos indicus*) SUBMETIDAS À IATF.**

### **RESUMO**

Os objetivos deste trabalho foram verificar se os agentes estressores que ocorrem no manejo da IATF (Inseminação Artificial em Tempo Fixo) e os níveis séricos de cortisol têm efeito sobre as taxas de prenhez em fêmeas *Bos indicus*. Também visou-se mensurar se o manejo do dia da inseminação artificial (D10) foi suficiente para causar estresse aos animais e correlacionar o horário de coleta de sangue com os níveis séricos de cortisol. O experimento foi realizado em três fazendas que trabalham em sistema de cria comercial, localizadas no Mato Grosso do Sul. Foram utilizadas 261 vacas *Bos indicus*, múltíparas, saudáveis, lactantes paridas (30 a 45 dias pós-parto), com idade média de 6,6 ( $\pm 1,45$ ) anos e escore de condição corporal (ECC) entre 2,5 e 3 (na escala de 1 a 5, em que 1= muito magra e 5= muito gorda). As fêmeas foram submetidas pela primeira vez à Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF) na estação de monta em questão. O mesmo protocolo de IATF foi aplicado a todos os animais. No primeiro dia do protocolo (D0), foi administrado 2 mg de benzoato de estradiol e introduzido um dispositivo intravaginal de liberação de progesterona. Após oito dias (D8), o dispositivo foi retirado e os animais receberam 0,5 mg de cipionato de estradiol, 225  $\mu$ g de D-cloprostenol e 300 UI de eCG. A inseminação foi realizada 48 horas depois (D10). Foram utilizados três inseminadores e sêmen de um único touro. O diagnóstico de gestação foi realizado de 28 a 32 dias após a inseminação, com uso de ultrassom transretal. A mensuração dos agentes estressores ocorreu no D10 do protocolo de IATF. Foram considerados agentes estressores: Tempo no Brete, Tempo no Tronco, Tempo Total, Distância Invernada Curral, Distância Curral Invernada, Distância Total Percorrida, Tempo sem Bezerro e Tempo no Curral. Para verificar se houve correlação entre o horário de coleta e os níveis de cortisol foi realizada a correlação de Spearman. O efeito dos agentes estressores sobre a probabilidade de gestação foi aferido por meio da análise de regressão logística, enquanto que o efeito dos níveis de cortisol sobre a gestação foi determinado pelo teste Mann-Whitney. As concentrações de cortisol não foram afetadas pelo o horário da coleta. O manejo realizado até a entrada no brete, no D10 do protocolo de IATF, foi eficaz em causar estresse aos animais. Houve efeito do meio (inseminador, fazenda e mês) e do Tempo no Tronco sobre as chances de prenhez ( $p < 0,05$ ), de maneira que, quanto maior o Tempo no Tronco, menor a chance da prenhez. Isto mostra que esse agente estressor foi eficaz em inibir a reprodução, afetando a eficiência reprodutiva em vacas *Bos indicus* submetidas a um protocolo de IATF. A taxa de prenhez não foi afetada pelos níveis séricos de cortisol ( $p > 0,05$ ).

**Palavras-chave:** eficiência reprodutiva; sistema de cria; estresse; manejo no curral; reprodução; tempo no tronco.

## ABSTRACT

The objectives of this work were to verify if the stressing agents occurring during the handling of the Fixed-Time Artificial Insemination (FTAI) and the serum cortisol levels have an effect on the pregnancy rate of female *Bos indicus*. In addition, it also aimed to measure whether the handling on the day of the artificial insemination (D10) was enough to stress the animals and to correlate the blood collection time of the cortisol analysis with the serum levels of this hormone. The experiment was conducted at three farms that work with a commercial beef cows breeding, located in Mato Grosso do Sul. There were used 261 suckling cows *Bos indicus* (30 to 45 days postpartum), multiparous, healthy, with ages averaging 6.6 ( $\pm$  1.45) years and with body condition score between 2.5 and 3 (in the scale of 1 to 5, in which 1=very thin and 5=very fat). The females were subjected to the FTAI for the first time in the beginning of the breeding season. The same FTAI protocol was applied to all animals. On the first day of the FTAI protocol (D0), 2 mg of estradiol benzoate were administered and a progesterone-releasing intravaginal device was inserted. After eight days (D8), the device was removed and the animals were given 0.5 mg of estradiol cypionate, 225  $\mu$ g of D-cloprostenol and 300 UI of eCG. The insemination was done 48 hours later (D10). Three inseminators and the semen of one only bull were used. The pregnancy diagnosis was made by transrectal ultrasonography 28 to 32 days after the insemination. The stressing agents were measured on the D10 of the FTAI protocol. The following stressing agents were considered: time in the pen, time in the chute, total time, distance between pasture and corral, distance between corral and pasture, time without calf, time in the corral. The Spearman correlation was used to verify if there was a relation between the collection time and the cortisol levels. The effect of the stressing agents on the pregnancy probability was measured by logistic regression analysis, while the effect of the cortisol levels on pregnancy was determined by the Mann-Whitney test. The cortisol concentrations were not affected by the collection time. The handling until the entrance to the pen, on the D10 of the FTAI protocol, stressed the animals. There was an effect of the means (inseminator, farm and month) and the time in the chute on the pregnancy rates ( $p < 0.05$ ), in a way that the longer the time in the chute, the smaller the pregnancy rate. This shows that the time in the chute was able to inhibit the reproduction, affecting the reproductive efficiency of *Bos indicus* cows subjected to a FTAI protocol. The pregnancy rate was not affected by the serum cortisol levels ( $p > 0.05$ ).

**Keywords:** beef cows breeding; handling in the corral; reproduction; reproductive efficiency; stress; time in the squeeze chute.

## INTRODUÇÃO

Para aumentar a eficiência reprodutiva e os ganhos genéticos da atividade, biotécnicas vem sendo empregadas, como a Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF). Os protocolos de IATF mais utilizados em *Bos indicus*, que constituem a grande maioria do rebanho brasileiro, visam sincronizar a onda folicular e ovulação através de análogos de estradiol, progestágenos, prostaglandina F<sub>2α</sub> e recentemente tem se mostrado que o uso do eCG pode atuar melhorando os resultados.

O uso desta biotécnica está em crescimento no Brasil e já ultrapassa a metade dos animais inseminados (BARUSELLI *et al.*, 2012). Contudo, muitos fatores podem atuar afetando os resultados da IATF. Dentre estes estão: categoria animal, raça, manejo da propriedade, escore de condição corporal (ECC), entre outros (OLIVEIRA *et al.*, 2015). Além destes, estudos mais recentes mostraram que o temperamento e a reatividade afetam negativamente a taxa de gestação de fêmeas *Bos indicus* submetidas à protocolos de IATF (RUEDA, 2012; COOKE *et al.*, 2011). Este efeito é atribuído às respostas ao estresse causado durante os manejos dos protocolos de IATF.

Estudos constataram que práticas rotineiras na bovinocultura causam estresse expressivo aos animais, gerando desconforto, dor e/ou medo. Dentre as práticas que desencadeiam respostas ao estresse nos ruminantes podemos citar: manejo no curral, exame ginecológico, inseminação, isolamento, contenção, ruído e transporte (GRANDIN, 1997; TILBROOK *et al.*, 1999; WAYNERT *et al.*, 1999; COSTA-E-SILVA *et al.*, 2010; MACEDO, ZÚCCARI e COSTA E SILVA, 2012; MAZIERO *et al.*, 2012).

O estresse pode ser definido como a ruptura da homeostase dos organismos, onde existe uma resposta fisiológica ou comportamental contra o estímulo nocivo ou condição adversa do meio ambiente (MAZIERO *et al.*, 2012). Esta resposta envolve a ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (H-H-A) e do Sistema Nervoso Simpático (SNS). Os fatores liberados nesse mecanismo (CRH,  $\beta$ -endorfina, AVP, ACTH, progesterona, catecolaminas e glicocorticoides) agem diretamente sobre o eixo hipotálamo-hipófise-gonadal (H-H-G), suprimindo a reprodução em diversos níveis. Dentre estes fatores, o cortisol, principal glicocorticoide na maioria dos mamíferos, merece destaque. Já foi mostrado que este atua no hipotálamo, hipófise

e ovários, inibindo a reprodução em mamíferos. (KAWATE, INABA e MORI, 1993; SAPOLSKY, ROMERO e MUNCK, 2000).

Os hormônios liberados em resposta ao estresse atuam basicamente inibindo a secreção de GnRH, LH e estradiol (SMITH e DOBSON, 2002; RUSSI *et al.*, 2011). Assim, uma das principais consequências do estresse é a interrupção ou adiamento da ovulação, pois para que esta aconteça como o esperado, todos os hormônios reprodutivos envolvidos devem ser liberados com a concentração, frequência e no momento correto.

Diversos estudos verificaram o efeito do estresse na reprodução de bovinos (ECHTERNKAMP, 1984; EDWARDS *et al.*, 1987; NANDA, DOBSON, WARD, 1990; MACEDO *et al.*, 2011; ROCHA *et al.*, 2012). Entretanto, até o presente momento, não foram realizados trabalhos evidenciando a relação direta entre os agentes estressores aos quais os animais são submetidos em um protocolo de IATF e as taxas de prenhez ao final deste protocolo.

Desta forma, os objetivos deste trabalho foram: a) correlacionar o horário de coleta do sangue com os níveis séricos de cortisol; b) determinar a presença de estresse nos animais por conta do manejo realizado no D10; c) verificar o efeito de agentes estressores presentes no manejo da IATF sobre a taxa de prenhez em fêmeas *Bos indicus* e; d) verificar o efeito do aumento nos níveis séricos de cortisol sobre a taxa de prenhez em fêmeas *Bos indicus*.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Esse experimento foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso Animal do Setor de Ciências Agrárias (CEUA-SCA) da Universidade Federal do Paraná, número do protocolo 018/2015.

### **LOCAL E PERÍODO DO EXPERIMENTO**

O experimento foi realizado em 3 fazendas que trabalhavam em sistema de cria comercial localizadas no Mato Grosso do Sul nos meses de dezembro, janeiro e fevereiro durante a estação de monta. O clima da região é classificado como Aw - tropical com estação seca, segundo a classificação de Köpper-Geiger. O bioma, a

altitude, a pluviosidade mensal, a temperatura média mínima e a temperatura média máxima estão descritos na TABELA 1.

TABELA 1. CARACTERÍSTICAS GEOGRÁFICAS E METEOROLÓGICAS DAS FAZENDAS ONDE FOI REALIZADO O EXPERIMENTO

FAZENDA		ODA	CL	SC
Município		Aquidauana-MS	Ribas do Rio Pardo-MS	Aquidauana-MS
Bioma		Pantanal	Cerrado	Cerrado
Altitude (m)		80-200	200-250	200-250
Pluviosidade mensal* (mm)		90-100	80-90	90-100
Temperatura média mínima (°C)	Dezembro	20-24	16-20	20-24
	Janeiro	20-24	20-24	20-24
	Fevereiro	20-24	16-20	20-24
Temperatura média máxima (°C)	Dezembro	32-36	32-36	32-36
	Janeiro	36-40	36-40	36-40
	Fevereiro	32-36	32-36	32-36

FONTE: ALTITUDE (ZAVATTINI, 2009); BIOMA (MARCUIZZO, 2012); PLUVIOSIDADE MENSAL, TEMPERATURA MÉDIA MÍNIMA E TEMPERATURA MÉDIA MÁXIMA (INMET, 2016)

NOTA: A PLUVIOSIDADE MENSAL FOI A MESMA PARA OS TRÊS MESES DO EXPERIMENTO

As fazendas trabalhavam com sistema de pastejo em *Brachiaria* sp. e ofertavam suplementação com sal mineral e água *ad libitum*. As instalações das proporcionavam boas condições de manejo e a equipe de capatazes oferecia um manejo racional. Os profissionais estavam habituados a trabalhar com aqueles animais especificamente e não houve mudança de profissionais no manejo dos três lotes de cada fazenda.

## ANIMAIS

Foram utilizadas 261 vacas *Bos indicus*, múltiparas, saudáveis, lactantes paridas (30 a 45 dias pós-parto). Todas as matrizes eram vacinadas contra brucelose e febre aftosa. Possuíam idade média de 6,6 ( $\pm$  1,45) anos e estavam na faixa de escore de condição corporal (ECC) entre 2,5 e 3 (na escala de 1 a 5, em que 1= muito magra e 5= muito gorda). A padronização por ECC visou garantir que todos os animais estivessem com a mesma condição corporal. As vacas estavam sendo submetidas pela primeira vez à IATF na estação de monta em questão. A distribuição dos animais nos lotes, fazendas e meses de inseminação está descrita na TABELA 2.

TABELA 2. DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS NOS LOTES, FAZENDAS E MESES DO EXPERIMENTO

MÊS / FAZENDA	CL*	SC*	ODA*
Dezembro	28	31	27
Janeiro	29	30	31
Fevereiro	25	30	30
Total de animais por fazenda	82	91	88

FONTE: A AUTORA (2016)

NOTA: \*CL, SC E ODA CORRESPONDEM ÀS ABREVIATURAS DOS NOMES DAS FAZENDAS ONDE O EXPERIMENTO FOI REALIZADO

## MANEJO EXPERIMENTAL

O mesmo manejo foi realizado em todos os lotes do experimento. No primeiro dia do protocolo de IATF (D0), foram administrados 2 mg de benzoato de estradiol (BE) e introduzido um dispositivo intravaginal de liberação de progesterona. Após oito dias (D8) o dispositivo foi retirado e os animais receberam 0,5 mg de cipionato de estradiol (CE), 225 µg de D-cloprostenol (análogo da prostaglandina F2α) e 300 UI de gonadotrofina coriônica equina (eCG). A inseminação foi realizada 48 horas depois (D10). O protocolo utilizado está esquematizado na FIGURA 11.

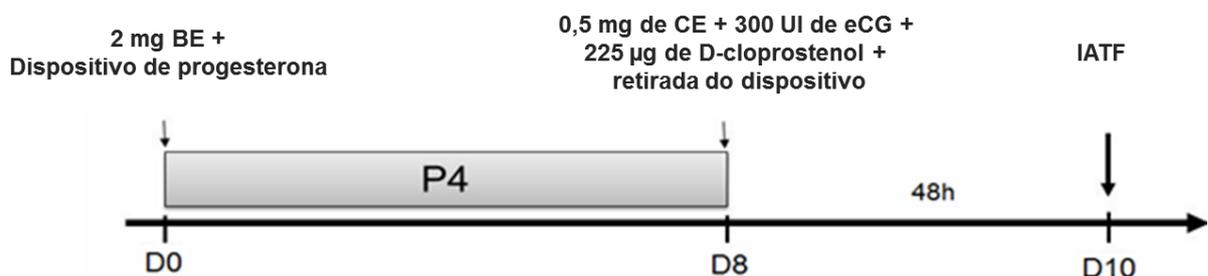


FIGURA 11. PROTOCOLO DE IATF UTILIZADO PARA A SINCRONIZAÇÃO DO CICLO ESTRAL DAS VACAS DURANTE O EXPERIMENTO

FONTE: A AUTORA (2016)

NOTAS: BE= BENZOATO DE ESTRADIOL (BENZOATO HC® - HERTAPE CALIER); P4= PROGESTERONA NA FORMA DE DISPOSITIVO INTRAVAGINAL MONODOSE (750 MG; PROCICLAR® - HERTAPE CALIER); CE= CIPIONATO DE ESTRADIOL (CIPIONATO HC® - HERTAPE CALIER); ECG - GONADROTOFINA CORIÔNICA EQUINA (NOVORMON® - ZOOETIS); D-CLOPROSTENOL (VETEGLAN® - HERTAPE CALIER).

No D10 as vacas foram retiradas de suas invernadas e levadas até o curral. Os bezerros foram apartados e as matrizes conduzidas para passar no brete e no tronco de contenção, onde foi realizada a inseminação artificial e a coleta de sangue. Ao final do manejo os bezerros retornaram para suas mães e todo o lote foi

encaminhado para a invernada em que estavam ou para outra, dependendo da organização de cada fazenda.

Foram utilizados 3 inseminadores, como mostra a Tabela 3, e sêmen de um único touro, proveniente de uma central de reprodução certificada, que garante a qualidade de seu produto. O sêmen estava devidamente armazenado em botijões com no mínimo 30 cm de nitrogênio líquido e foi descongelado com a utilização de um descongelador eletrônico, na temperatura de 36 °C a 37 °C por 30 segundos.

TABELA 3. ALOCAÇÃO DOS INSEMINADORES ENTRE OS LOTES DO EXPERIMENTO

MÊS / FAZENDA	CL*	SC*	ODA*
Dezembro	1	1	1
Janeiro	1	2	2
Fevereiro	1	2	3

FONTES: A AUTORA (2016)

NOTA: \*CL, SC E ODA CORRESPONDEM ÀS ABREVIATURAS DOS NOMES DAS FAZENDAS ONDE O EXPERIMENTO FOI REALIZADO. OS NÚMEROS "1", "2" E "3" CORRESPONDEM AOS INSEMINADORES UTILIZADOS

O diagnóstico de gestação foi realizado de 28 a 32 dias após a inseminação, com a utilização de ultrassom transretal. As vacas foram classificadas em gestante e não gestante.

O manejo experimental não diferiu do manejo realizado pelas fazendas em sua rotina (com exceção da coleta de sangue). Assim, os resultados obtidos serão compatíveis com a realidade de sistemas de cria comerciais.

## AGENTES ESTRESSORES

Os agentes estressores foram mensurados no D10 do protocolo de IATF. Foram considerados agentes estressores: Tempo no Brete, Tempo no Tronco, Tempo Total, Distância Invernada Curral, Distância Curral Invernada, Distância Total Percorrida, Tempo Sem Bezerro e Tempo no Curral. A forma de coleta (individual ou por lote), bem como a maneira de mensuração das variáveis consideradas agentes estressores estão descritas na TABELA 3.

TABELA 3. UNIDADE, FORMA DE COLETA E MENSURAÇÃO DAS VARIÁVEIS CONSIDERADAS AGENTES ESTRESSORES

Agente estressor	Unidade	Forma de coleta	Mensuração
Tempo no Brete	Segundos	individual	Diferença entre o horário de entrada e saída do brete
Tempo no Tronco	Segundos	individual	Diferença entre o horário de entrada e saída do tronco
Tempo Total	Segundos	individual	Soma do TB e TR
Distância Invernada Curral *	Km	por lote	Distância percorrida pelos animais da invernada ao curral
Distância Curral Invernada *	Km	por lote	Distância percorrida pelos animais do curral à invernada
Distância Total Percorrida	Km	por lote	Soma da DIC e DCI
Tempo Sem Bezerro	Minutos	por lote	Tempo permanecido sem o bezerro durante a realização do protocolo de IATF
Tempo no Curral	Minutos	por lote	Tempo permanecido no curral para o manejo do D10 do protocolo de IATF

Fonte: A AUTORA (2016)

Nota: \*AS MEDIDAS FORAM CALCULADAS COM O AUXÍLIO DOS SOFTWARES GOOGLE EARTH® OU NIKE RUNNING®. AS VARIÁVEIS MEDIDAS EM SEGUNDOS FORAM POSTERIORMENTE TRANSFORMADAS EM MINUTOS PARA A REALIZAÇÃO DAS ANÁLISES ESTATÍSTICAS.

## COLETA DE SANGUE E ANÁLISES LABORATORIAIS

A coleta foi realizada no momento em que os animais estavam contidos no tronco para a inseminação artificial, através da punção da veia coccígea caudal, com a utilização de tubos a vácuo contendo ativador de coágulo. Em seguida, o material foi centrifugado a 1000 rpm por 5 minutos. O soro foi separado em ependorfs devidamente identificados com auxílio de pipetas de Pasteur descartáveis. Os ependorfs foram congelados a -20°C até o momento das análises laboratoriais.

As análises laboratoriais foram feitas no Laboratório de Fisiologia Endócrina e Reprodução Animal da Universidade Federal do Paraná. Os níveis de cortisol foram obtidos em ng/ml através do kit ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) validado para as amostras de soro bovino, de acordo com o método descrito por BROWN *et al.* (2004). As dosagens foram realizadas em duplicata. O coeficiente de variação inter-ensaio foi inferior a 10%.

## ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para constatar se houve correlação entre o horário de coleta e os níveis de cortisol foi realizada a correlação de Spearman. Para determinar a presença de estresse nos animais por conta do manejo realizado no D10, procurou-se verificar se os níveis de cortisol medidos no experimento são superiores aos resultados encontrados na literatura. Para aferir o efeito dos agentes estressores sobre a probabilidade de gestação, foi realizada a análise de regressão logística, utilizando o software R, versão 3.2.1 (R Core Team, 2015). Foram incluídas no modelo as variáveis: Tempo no Tronco, Tempo no Brete, Distância Invernada Curral, Distância Curral Invernada, Distância Total Percorrida, Tempo no Curral e Tempo Sem Bezerro. Como as variáveis inseminador, fazenda e mês tiveram efeito significativo sobre a taxa de prenhez através do teste qui-quadrado ( $p < 0,05$ ), estas foram também adicionadas ao modelo de regressão, consideradas como efeito do meio. Para estimar o efeito dos níveis de cortisol sobre a gestação foi realizado o teste Mann-Whitney. Para verificar se os dados seguiam uma distribuição normal foi feito o teste de Shapiro Wilk. Adotou-se o nível de significância de 5% para todas as análises

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A taxa de prenhez obtida nesse experimento foi de 55,64%. De acordo com Sales et al. (2012), este resultado é satisfatório e está próximo à média da taxa de gestação atingida em protocolos à base de estradiol, progesterona e prostaglandina  $F2\alpha$ , que é de aproximadamente 50%.

A análise descritiva dos agentes estressores e níveis séricos de cortisol para as vacas gestantes e não gestantes estão descritos na

TABELA 4 e na TABELA 5. Para a maioria das variáveis o desvio padrão foi alto ( $CV > 30\%$ ), mostrando que os dados apresentam alta dispersão (PIMENTEL-GOMES e GARCIA, 2002). Dessa forma, a média não é uma boa medida para representar esses dados. Então, para melhor compreensão da distribuição dos dados, foi realizada a análise descritiva por meio de quartis.

TABELA 4. ANÁLISE DESCRITIVA DAS VARIÁVEIS CONSIDERADAS AGENTES ESTRESSORES E DOS NÍVEIS SÉRICOS DE CORTISOL (NG/ML) PARA AS VACAS GESTANTES

VARIÁVEL	GESTANTE				
	Média±DP	CV (%)	1º Quartil	2º Quartil	3º Quartil
Tempo no Brete (min)	3,99±3,55	88,97	1,74	3,03	5,27
Tempo no Tronco (min)	1,48±0,5	33,78	1,13	1,34	1,74
Tempo Total (min)	5,47±3,64	66,54	3,13	4,48	6,95
Distância Invernada Curral (Km)	1,73±1,22	70,52	0,65	1,53	2,50
Distância Curral Invernada (Km)	1,9±1,17	61,58	0,70	1,88	2,50
Distância Total Percorrida (Km)	3,63±2,33	64,19	1,40	3,10	5,00
Tempo sem Bezerro (min)	180,7±33,82	18,72	162	183	190
Tempo no Curral (min)	205,91±45,05	21,88	171	190	264
Níveis séricos de cortisol (ng/ml)	50,76±31,31	61,68	32,50	45,16	62,83

FONTE: A AUTORA (2016)

NOTA: DP=DESVIO PADRÃO; CV= COEFICIENTE DE VARIAÇÃO

TABELA 5. ANÁLISE DESCRITIVA DAS VARIÁVEIS CONSIDERADAS AGENTES ESTRESSORES E DOS NÍVEIS SÉRICOS DE CORTISOL (NG/ML) PARA AS VACAS NÃO GESTANTES

VARIÁVEL	NÃO GESTANTE				
	Média±DP	CV (%)	1º Quartil	2º Quartil	3º Quartil
Tempo no Brete (min)	3,84±3,77	98,18	1,47	2,80	5,00
Tempo no Tronco (min)	1,62±0,81	50,00	1,12	1,40	1,78
Tempo Total (min)	5,46±3,94	72,16	2,92	4,25	6,32
Distância Invernada Curral (Km)	1,5±1,22	81,33	0,50	0,70	2,50
Distância Curral Invernada (Km)	1,61±1,25	77,64	0,65	1,18	2,50
Distância Total Percorrida (Km)	3,19±2,41	75,55	1,30	2,36	5,00
Tempo sem Bezerro (min)	173,48±36,63	21,11	150,00	167,00	190,00
Tempo no Curral (min)	189,5±44,45	23,46	171,00	190,00	200,00
Níveis séricos de cortisol (ng/ml)	51,32±41,03	79,95	27,53	40,69	58,91

FONTE: A AUTORA (2016)

NOTA: DP=DESVIO PADRÃO; CV= COEFICIENTE DE VARIAÇÃO

Alguns autores constataram que a liberação de cortisol nos bovinos ocorre na forma de ritmo circadiano (FULKERSON, SAWYER e GOW, 1980; LEFCOURT *et al.*, 1993). Outros autores afirmaram não haver ritmo circadiano em bovinos (ABEBE, SCOTT e ELEY, 1992). De toda forma, para garantir que os níveis séricos de cortisol não fossem influenciados por um possível ritmo em sua liberação, foi realizada a correlação entre o horário de coleta e os níveis de cortisol. Esta correlação foi praticamente nula ( $r_s = -0,02$ ). Dessa forma, podemos afirmar que os resultados deste estudo não foram afetados pelo horário de coleta.

Na aplicação do protocolo de IATF, sabe-se que os animais sofrem um processo de sensibilização e demonstram pior temperamento no último dia, provavelmente devido aos manejos aversivos (aplicação de hormônios e colocação e retirada do implante intravaginal) realizados no protocolo (RUEDA, 2009, RUEDA 2012). Assim, é provável que o estresse identificado nesse experimento também tenha influência da sensibilização dos manejos ocorridos no D0 e no D8.

O somatório de todos esses fatores justifica claramente o porquê dos altos níveis de cortisol encontrados neste estudo, valores muito acima dos valores basais para o hormônio em fêmeas *Bos indicus*, apontando que o manejo realizado no D10 causou estresse aos animais.

Os altos níveis de cortisol aferidos neste trabalho indicam uma resposta do organismo à estímulos estressores, pois os valores encontrados estão consideravelmente acima dos valores basais, de 10 ng/ml, descritos na literatura (YOSHIDA e NAKAO, 2005). Fujita *et al.* (2013), aferiu as concentrações para cortisol em vacas Nelore (*Bos indicus*) nos três dias de manejo de um protocolo de IATF. Assim como neste estudo, os autores constaram que o manejo no curral causou estresse às matrizes, obtendo valores médios por vaca (considerando os três dias de protocolo) de 93 e 206 ng/ml. No trabalho realizado por Maziero *et al.* (2012), com vacas *Bos indicus* submetidas a um manejo semelhante, porém sem inseminação, também foram obtidas concentrações acima dos valores basais.

Como as concentrações de cortisol levam de 10 (NAKAO *et al*, 1994) a 20 minutos (SILANIKOVE, 2000) para atingir seu pico, não podemos atribuí-las ao manejo no brete ou no tronco, ou mesmo à inseminação artificial, uma vez que ocorreram muito próximos à coleta. Portanto, podemos concluir que os níveis de cortisol aferidos refletem o estresse decorrido do manejo anterior à entrada no brete contemplado pela retirada dos animais da internada, condução ao curral, separação dos bezerros e condução dos animais até a entrada do brete.

Estudos realizados, que serão discutidos na sequência, forneceram evidências que estão de acordo com esses resultados obtidos nesse trabalho. Chambers e Grandin (2001) afirmam que o simples manejo de forçar um animal a entrar no brete pode deixá-lo acuado e que os animais evitam entrar em instalações com a presença de urina e saliva de animais estressados, provavelmente porque são alertados através dos hormônios do estresse (presentes nas secreções) que aquele não é um local agradável. Ademais, segundo os mesmos autores, o ruído aumenta os níveis de estresse em bovinos. Todas essas situações estão presentes no manejo do curral, causando medo aos animais, e o medo é um forte agente estressor para os bovinos (GRANDIN, 1997).

Além do medo, tanto o manejo realizado para levar os animais ao curral, quanto o que ocorre dentro das instalações, promove uma desorganização das atividades sociais (quebra do equilíbrio da hierarquia e da dominância) e dificulta a manutenção do espaço individual, características comportamentais importantíssimas para os bovinos (PARANHOS DA COSTA e MORALES, 2011)

Ademais, os animais do estudo são criados extensivamente e conduzidos ao curral apenas algumas vezes ao ano. Dessa forma, o manejo necessário para a realização do protocolo de IATF é ainda mais estressante, pois estudos mostraram que os animais manejados com menor frequência são mais reativos ao manejo no curral (BETANCOURT, 2014).

Conforme as análises de regressão logística houve efeito do meio (inseminador, fazenda e mês) e do Tempo no Tronco sobre as chances de prenhez ( $p < 0,05$ ), de maneira que, quanto maior o Tempo no Tronco, menor a chance da prenhez (coeficiente estimado =  $-0,54$ ). Esse resultado é atribuído ao estresse pelo qual os animais passam no tronco de contenção.

O manejo no tronco causa medo e frustração aos animais, deixando-os ainda mais acuados do que o manejo no curral. Esta situação é tão estressante para as vacas não manejadas com frequência que os níveis de cortisol resultantes deste manejo são similares aos níveis encontrados na marcação a ferro quente (LAY *et al*, 1992). Além disso, foi mostrado que a presença e toque de humanos (GRIGNARD *et al*, 2001), a inseminação artificial (NAKAO *et al*, 1994), o isolamento e a contenção (TILBROOK *et al.*, 1999) elevam as respostas dos animais ao estresse e todas essas situações estão presentes durante a contenção no tronco no último dia da IATF. Esta reação do organismo frente a uma ameaça tem como consequência a inibição da reprodução.

Diversos estudos mostraram que o estresse interfere na pulsatilidade e nos horários precisos de liberação de LH (NANDA, DOBSON e WARD, 1990; DOBSON e SMITH, 2000; SMITH e DOBSON, 2002), afetando inclusive a maturação dos oócitos e, conseqüentemente, dos embriões. (DOBSON e SMITH, 2000). (ROCHA *et al.*, 2012). O estresse por contenção e isolamento, semelhante ao manejo de tronco deste estudo, foi capaz de suprimir a liberação de LH em ovelhas (TILBROOK *et al.*, 1999).

Macedo *et al.* (2011) e Cooke *et al.* (2012) também verificaram que o estresse afetou negativamente a reprodução. Os primeiros autores mostraram que vacas estressadas ao manejo de curral durante o protocolo de superovulação apresentaram menor taxa de viabilidade embrionária. Já os segundos verificaram que fêmeas com temperamento agressivo tiveram menor sucesso reprodutivo ao final da estação de monta.

Estudos realizados em vacas *Bos indicus* submetidas a um protocolo de IATF, similar ao aplicado neste estudo, amparam o resultado do presente experimento. Nestes trabalhos foi demonstrado que o temperamento excitado das vacas, aferido no manejo do tronco de contenção, afetou negativamente a taxa de prenhez (COOKE *et al*, 2011; RUEDA, 2012).

Não houve efeito de Tempo no Brete, Distância Invernada Curral, Distância Curral Invernada, Distância Total Percorrida, Tempo no Mangueiro e Tempo sem Bezerro sobre as chances de prenhez ( $p>0,05$ ). Mostrando que estes agentes estressores não foram estímulos suficientemente fortes para inibir a reprodução. Isto provavelmente ocorreu porque os animais não estavam isolados, contidos ou sofrendo procedimentos invasivos, como ocorre no manejo do tronco. Além disso, como os bovinos são animais gregários, eles se sentem mais seguros quando estão acompanhados por membros do seu grupo (PARANHOS DA COSTA e COSTA E SILVA, 2007).

A taxa de prenhez também não foi afetada pelos níveis séricos de cortisol ( $p>0,05$ ), apesar evidências mostrarem que o cortisol está relacionado negativamente à reprodução de ruminantes (ECHTERNKAMP, 1984; KAWATE, INABA e MORI, 1993; MACFARLANE *et al.*, 2000; BREEN *et al.*, 2005). O aumento da secreção de glicocorticoides nem sempre está associado à diminuição da secreção de LH, particularmente em casos de estresse agudo.

Muitos estudos indicam que esses hormônios não são os mediadores predominantes da supressão induzida pelo estresse sobre a secreção de LH, mas atuam amplificando o efeito inibitório do estressor (FERIN, 2006; TILBROOK, TURNER e CLARKE, 2000). Outros hormônios liberados na resposta ao estresse, não dosados no experimento, podem ter agido na inibição do estresse sobre a reprodução, como o CRH, a  $\beta$ -endorfina (ROCHA *et al.*, 2012), a AVP (BATTAGLIA *et al.*, 1998), o ACTH (PHOGAT, SMITH e DOBSON, 1999), a progesterona (KASA-VUBU *et al.*, 1992) e as catecolaminas (TILBROOK, TURNER e CLARKE, 2000).

Ademais, o cortisol medido neste trabalho não refletiu o estresse que os animais sofreram durante o manejo no tronco, realizado concomitantemente à coleta de sangue. O cortisol demora de 10 (NAKAO *et al.*, 1994) a 20 minutos (SILANIKOVE, 2000) para atingir seu pico após uma situação de ameaça. Assim, como o manejo no tronco foi considerado o agente estressor mais forte e o único que afetou a taxa de prenhez, é plausível que, nas condições deste trabalho, o efeito do cortisol sobre a taxa de prenhez não tenha sido significativo, pois o cortisol resultante do estresse do manejo de tronco não foi dosado.

Esses resultados são amparados pelos encontrados no experimento de Fujita (2013), no qual novilhas *Bos indicus* submetidas à IATF não apresentaram diferença nos níveis de cortisol entre as gestantes ou não gestantes. Maziero *et al.* (2011) também obtiveram resultados condizentes aos nossos. Esses autores sincronizaram a ovulação de vacas zebuínas utilizando um protocolo a base de GnRH, D-cloprostenol e progesterona. Em seguida às submeteram a um procedimento já conhecido como estressante, o transporte. Foi verificado que o transporte causou estresse aos animais, que atingiram níveis altos de cortisol (56 ng/ml), no entanto a ovulação não foi afetada.

## CONCLUSÕES

No presente estudo, pode-se verificar que as concentrações de cortisol não foram afetadas pelo horário da coleta de sangue. Também se constatou que o manejo realizado no D10 do protocolo de IATF, composto pela retirada dos animais da internada, condução ao curral, separação dos bezerros e manejo no curral até a entrada do brete causou estresse aos animais. Houve efeito do meio (inseminador, fazenda e mês) e do Tempo no Tronco sobre as chances de prenhez. Tal resultado apontou para uma relação inversa entre estes dois fatores, ou seja, quanto maior o Tempo no Tronco, menor a chance de prenhez. Isso mostra que o Tempo no Tronco foi um agente estressor capaz de inibir a reprodução, afetando a eficiência reprodutiva em vacas *Bos indicus* submetidas a protocolo de IATF. Por fim, observou-se que os níveis séricos de cortisol não afetaram a taxa de prenhez.

## REFERÊNCIAS

- ABEBE, G.; SCOTT, J.; ELEY, R. Absence of diurnal rhythm of plasma cortisol in *Bos indicus* (Boran) cattle. **Tropical Agriculture (Trinidad)**. v. 69, n. 1, p. 39-42, 1992.
- BARUSELLI, P. S.; SALES, J. N. S.; SALA, R. V.; VIEIRA, L. M.; SÁ FILHO, M. F. History, evolution and perspectives of timed artificial insemination programs in Brazil. **Animal Reproduction**. v. 9, p. 139-152, 2012.
- BATTAGLIA, D. F.; BROWN, M. E.; KRASA, H. B.; THRUN, L. A.; VIGUIÉ, C.; KARSCH, F. J. Systemic challenge with endotoxin stimulates corticotropin-releasing hormone and arginine vasopressin secretion into hypophyseal portal blood: coincidence with gonadotropin-releasing hormone suppression. **Endocrinology**. v. 139, p. 4175-4181, 1998.
- BETANCOURT, M. C. C. **Efeito de diferentes frequências de manejos no temperamento de bovinos de corte**. 70 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, 2014.
- BREEN, K. M.; BILLINGS, H. J., WAGENMAKER, E. R.; WESSINGER, E. W.; KARSCH, F. J. Endocrine basis for disruptive effects of cortisol on preovulatory events. **Endocrinology**. v. 146, n. 4, p. 2107–2115, 2005.
- BROWN, J.; WALKER, S.; STEINMAIN, K. Endocrine manual for the reproductive assessment of domestic and non-domestic species. **Endocrine Research Laboratory, Department of Reproductive Sciences, Conservation and Research Center, National Zoological Park, Smithsonian Institution, Handbook**, p. 1-93, 2004.
- CHAMBERS, P. G.; GRANDIN, T.; HEINZ, G.; SRISUVAN, T. **Guidelines for humane handling, transport and slaughter of livestock**. Bangkok: FAO, 2001.
- COOKE, R. F.; BOHNERT, D. W.; MENEGHETTI, M.; LOSI, T. C.; VASCONCELOS, J. L. M. Effects of temperament on pregnancy rates to fixed-timed AI in *Bos indicus* beef cows. **Livestock Science**. v. 142, p. 108–113, 2011.
- COOKE, R. F.; BOHNERT, D. W.; CAPPELLOZZA, B. I.; MUELLER, C. J.; DELCURTO, T. Effects of temperament and acclimation to handling on reproductive performance of *Bos taurus* beef females. **Journal of Animal Science**. v. 90, p. 3547-3555, 2012.
- COSTA E SILVA, E. V.; RUEDA, P. M.; CARNEIRO, R. C. P. B.; MACEDO, G. G.; ZÚCCARI, C. E. S. N. Estratégias para avaliar bem-estar animal em animais em reprodução. II CONGRESSO BRASILEIRO DE BIOÉTICA E BEM ESTAR ANIMAL, 2., 2010, Belo Horizonte. **Revista Ciência Veterinária nos Trópicos**, Recife-PE, v. 13, suplemento 1, p. 20-28, 2010.

DOBSON, H.; SMITH, R. F. What is stress, and how does it affect reproduction? **Animal Reproduction Science**, v. 60, p. 743–752, 2000.

ECHTERNKAMP, S. E. Relationship between LH and cortisol in acutely stressed beef cows. **Theriogenology**, v. 22, p. 305-311, 1984.

EDWARDS, L. M.; RAHE, C. H.; GRIFFIN, J. L.; WOLFE, D. F.; MARPLE, D. N.; CUMMINS, K. A.; PITCHETT, J. F. Effect of transportation stress on ovarian function in superovulated hereford heifers. **Theriogenology**, v. 28, p. 291-299, 1987.

FERIN, M. Stress and the reproductive system. In: NEILL, J. D. **Knobil and Neill's Physiology of Reproduction**. 3.ed. v. 1. Pittsburgh: Elsevier, 2006.

FUJITA, A. S.; WEISS, R. R.; ROSSI JUNIOR, P.; KOZICKI, L. E.; GRESELLE, F. V. N.; BERTOL, M. A. F. Taxa de gestação em novilhas nelore sincronizadas para IATF e inseminadas com sêmen resfriado e congelado. **Archives of Veterinary Science**, v. 18, n. 3, p. 13-21, 2013.

FULKERSON, W. J.; SAWYER, G. J.; GOW, C. B. Investigations of ultradian and circadian rhythms in the concentration of cortisol and prolactin in the plasma of dairy cattle. **Australian Journal of Biological Sciences**, v. 33, p. 557-567, 1980.

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

GRIGNARD, L.; BOIVIN, X.; BOISSY, A.; LE NEINDRE, P. Do beef cattle react consistently to different handling situations? **Applied Animal Behaviour Science**, v. 71, p. 263-276, 2001.

INSITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA. **Mapas do Boletim Agroclimatológico**. Disponível em: <<http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=agrometeorologia/boletimAgroclimatologico>> Acesso em: 24/03/2016.

KASA-VUBU, J. Z.; DAHL, G. E.; EVANS, N. P.; THRUN, L. A.; MOENTER, S. M.; PADMANABHAN, V.; KARSCH, F. J. Progesterone blocks the estradiol-induced gonadotropin discharge in the ewe by inhibiting the surge of gonadotropin-releasing hormone. **Endocrinology**, v. 131, n. 1, p. 208–212, 1992.

KAWATE, N.; INABA, T.; MORI, J. Effects of cortisol on the amounts of estradiol-17 $\beta$  and progesterone secreted and the number of luteinizing hormone receptors in cultured bovine granulosa cells. **Animal Reproduction Science**, v. 32, p. 15-25, 1993.

LAY, D. C.; FRIEND JR., T. H.; RANDEL, R. D.; BOWERS, C. L.; GRISSOM, K. K.; JENKINS, O. C. Behavioral and physiological effects of freeze or hot-iron branding on crossbred cattle. **Journal of Animal Science**, v. 70, n. 2, p. 330-336, 1992.

LEFCOURT, A. M.; BITMAN J.; S. KAHL; WOOD, D. L. Circadian and Ultradian Rhythms of Peripheral Cortisol Concentrations in Lactating Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**. v. 76, n. 9, p. 2607-2612, 1993.

MACEDO, G.G.; ZÚCCARI, C. E. S. N.; ABREU, U. G. P.; NEGRÃO, J. A.; COSTA E SILVA, E. V. Human–animal interaction, stress, and embryo production in *Bos indicus* embryo donors under tropical conditions. **Tropical Animal Health and Production**. v. 43, p. 1175-1182, 2011.

MACEDO, G.G.; ZÚCCARI, C. E. S. N.; COSTA E SILVA, E. V. Efeito do estresse na eficiência reprodutiva de fêmeas bovinas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 36, n. 1, p. 10-17, 2012.

MACFARLANE, M. S.; BREEN, K. M.; SAKURAI, H.; ADAMS B.M.; ADAMS, T. E. Effect of duration of infusion of stress-like concentrations of cortisol on follicular development and the preovulatory surge of LH in sheep. **Animal Reproduction Science**. v. 63, p. 167-175, 2000.

MACHADO, R.; CARNEIRO, M. A.; BARBOSA, R. T.; MADUREIRA, E. H.; ALENCAR, M. M.; BINELLI, M. Taxas de serviço, concepção e prenhez de vacas nelore tratadas com gonadotrofina coriônica humana e 17 $\beta$ -estradiol após a inseminação artificial em tempo fixo. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 45, n. 3, p. 221-230, 2008.

MARCUZZO, F. F. N.; COSTA, H. C. Estudo da sazonalidade das chuvas no estado do Mato Grosso do Sul e sua distribuição espaço-temporal. **Revista Brasileira de Geografia Física**. v. 01, p. 73-86, 2012.

MAZIERO, R. R. D; MARTINS, A. C.; MOLLO, M. R.; MARTIN, I; BASTOS, M. R.; FERREIRA, J. C. P.; RUMPF, R.; SARTORI, R. Ovarian function in cows submitted to acute stress during proestrus. *Livestock Science*, v. 138, p. 105–108, 2011.

MAZIERO, R. R. D; MARTIN, I.; MATTOS, M. C. C.; FERREIRA, J. C. P. Avaliação das concentrações plasmáticas de cortisol e progesterona em vacas Nelore (*Bos taurus indicus*) submetidas a manejo diário ou manejo semanal. **Revista Veterinária e Zootecnia**, v. 19, n. 3, p. 366-372, 2012.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIAE ABASTECIMENTO (MAPA). Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/animal..>>. Acesso em: 17 nov. 2015.

NANDA, A. S.; DOBSON, H.; WARD, W. R. Relationship between an increase in plasma cortisol during transport-induced stress and failure of oestradiol to induce a luteinising hormone surge in dairy cows. **Research in Veterinary Science**. v. 49, 1990, 25p.

NAKAO, T.; SATO, T.; MORIYOSHI, M.; KAWATA, K. Plasma cortisol response in dairy cows to vaginoscopy, genital palpation per rectum and artificial insemination. **Journal of Veterinary Medicine Series A**. v. 41, p. 16-21, 1994

OLIVEIRA, F. A.; LOPES, A. C.; TORRES, C. A. A.; PENITENTE FILHO, J. M. P.; BOLZAN, R. P.; RANGEL, O. J. P.; MORAES, R. M. Principais protocolos de IATF e particularidades de cada categoria animal. In: MOREIRA, G. R.;

PARANHOS DA COSTA, M. J. R.; COSTA E SILVA, E. V. Aspectos básicos do comportamento social de bovinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 31, n. 2, p. 172-176, 2007.

PARANHOS DA COSTA, M. J. R.; MORALES, A. M. T. Practical approach on how to improve the welfare in cattle. **Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias**, Medellín, v. 24, n. 3, p. 347-359, 2011.

PHOGAT, J.B.; SMITH, R.F.; DOBSON, H. Effect of adrenocorticotrophic hormone (ACTH<sup>1-24</sup>) on ovine pituitary gland responsiveness to exogenous pulsatile GnRH and oestradiol-induced LH release in vivo. **Animal Reproduction Science**. v. 55, p. 193-203, 1999.

PIMENTEL-GOMES, F.; GARCIA, C. H. **Estatística aplicada a experimentos agrônômicos e florestais: exposição com exemplos e orientações para uso de aplicativos**. v. 11. Piracicaba: FEALQ, 2002.

R Core Team. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2015. Disponível em: <<http://www.r-project.org/>>.

ROCHA, D. R.; SALLES, M. G. F.; MOURA, A. A. A. N.; ARAÚJO, A. Impacto do estresse térmico na reprodução da fêmea bovina. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 36, n. 1, p. 18-24, 2012.

RUEDA, P. M. **Alterações comportamentais e hematológicas em vacas Nelore submetidas à protocolo de inseminação artificial em tempo fixo**. 55 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2009.

RUEDA, P. M. **Qualidade de manejo e temperamento de bovinos: efeitos na eficiência reprodutiva de fêmeas submetidas a um protocolo de inseminação artificial em tempo fixo**. 87 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2012.

RUSSI, L. S.; ROSA, M. S.; BARBALHO, P. C.; COSTA-E-SILVA, E. V.; ZÚCCARI, C. E. S. N. Etologia aplicada em bovinos. **Revista de Etologia**, v. 10, n. 1, p. 45-53, 2011.

SALES, J. N. S.; CARVALHO, J. B. P.; CREPALDI, G. A.; CIPRIANO, R. S.; JACOMINI, J. O.; MAIO, J. R. G.; SOUZA, J. C.; NOGUEIRA, G. P.; BARUSELLI, P. S. Effects of two estradiol esters (benzoate and cypionate) on the induction of synchronized ovulations in *Bos indicus* cows submitted to a timed artificial insemination protocol. **Theriogenology**. v. 78, p. 510-516, 2012.

SAPOLSKY, R. M.; ROMERO, L. M.; MUNCK, A. U. How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. **Endocrine Reviews**. v. 21, n. 1, p. 55-89, 2000.

SILANIKOVE, N. Effects of heat stress on the welfare of extensively managed domestic ruminants. **Livestock Production Science**. v. 67, p. 1–18, 2000.

SMITH, R. F.; DOBSON, H. Hormonal interactions within the hypothalamus and pituitary with respect to stress and reproduction in sheep. *Domestic Animal Endocrinology*, v. 23, p. 75–85, 2002.

TILBROOK, A. J.; CANNY, B. J.; SERAPIGLIA, M. D.; AMBROSE, T. J.; CLARKE, I. J. Suppression of the secretion of luteinizing hormone due to isolation/restraint stress in gonadectomised rams and ewes is influenced by sex steroids. **Journal of Endocrinology**. v. 160, p. 469-481, 1999.

TILBROOK, A. J.; TURNER, A. I.; CLARKE, I. J. Effects of stress on reproduction in non-rodent mammals: the role of glucocorticoids and sex differences. **Reviews of Reproduction**. v. 5, p. 105-113, 2000.

TRENKLE, A.; WILLHAM, R. L. Beef production efficiency: The efficiency of beef production can be improved by applying knowledge of nutrition and breeding. **Science**. v. 198, p. 1009-1015, 1977.

YOSHIDA, C. NAKAO, T. Response of plasma cortisol and progesterone after acth challenge in ovariectomized lactating dairy cows. **Journal of Reproduction and Development**. v. 51, n. 1, p. 99-107, 2005.

WAYNERT, D. F.; STOOKEY, J. M.; SCHWARTZKOPF-GENSWEIN, K. S.; WATTS, J. M.; WALTZ, C. S. The response of beef cattle to noise during handling. **Applied Animal Behaviour Science**. v. 62, n. 1, p. 27-42, 1999.

ZAVATTINI, J A. **As chuvas e as massas de ar no estado de Mato Grosso do Sul: estudo geográfico com vista à regionalização climática**. São Paulo: Cultura Acadêmica, 2009.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A revisão de literatura contida nesse trabalho e os resultados obtidos no experimento revelaram que o estresse atinge a reprodução em diversos níveis. Assim, melhorias no manejo e nas instalações podem colaborar para o bem-estar dos animais e trazer ganhos econômicos ao produtor, beneficiando ambas as partes. Sabe-se que na maior parte das propriedades do Brasil não há o conceito de manejo racional e preocupação com questões de bem-estar. Os pecuaristas acreditam que a capacitação de seus funcionários são custos dispensáveis e que não é necessário se preocupar com a manutenção das instalações ou com a troca destas para versões mais modernas (com menos ruído, que facilitem o manejo dos animais e que sejam adaptadas para atender as particularidades do comportamento dos bovinos). A partir do momento que esses custos forem entendidos como investimentos, a atividade melhorará como um todo.

Outra questão preocupante é o reconhecimento dos trabalhadores do campo. É evidente que se não valorizados, se não for dada a devida importância ao seu trabalho, não o farão com satisfação e a última coisa em que se preocuparão será tratar bem os animais. Os capatazes são a base de toda a cadeia e a valorização de sua atividade não deve ser só financeira, mas também deve vir como um reconhecimento profissional, trazendo satisfação pessoal. Nas fazendas onde foi realizado esse estudo os trabalhadores eram valorizados e isso era refletido em seus serviços.

Como já abordado no trabalho, a IATF é uma biotécnica promissora que traz inúmeros benefícios aos produtores. Assim, mais trabalhos deveriam ser feitos nesta área, buscando estabelecer maneiras de realizá-la com o menor estresse possível e mostrando quais práticas são mais ou menos estressantes aos animais durante a aplicação do protocolo. Dessa forma, os produtores saberiam exatamente como devem proceder. Neste estudo descobriu-se que o maior tempo no tronco afetou negativamente a gestação dos animais. Portanto, os produtores devem providenciar maneiras de diminuí-lo. O mesmo poderia ser feito em outros aspectos, como por exemplo a distância que os animais caminham antes e depois do manejo no curral no dia da inseminação artificial. O conhecimento empírico afirma que não é recomendado que os animais caminhassem muito neste dia. Mas quanto? Qual é a

máxima distância que pode ser percorrida sem prejudicar a reprodução? Varia conforme climas ou terrenos diferentes? Quando perguntas como essas começarem a ser respondidas, medidas para melhor aplicação dos protocolos poderão ser tomadas, trazendo benefícios aos produtores e também aos animais.

Como dificuldades para a realização deste estudo podemos citar a obtenção de ajuda financeira e as análises laboratoriais. A empresa patrocinadora Beckhauser demonstrou interesse desde o início em incentivar o projeto. No entanto, o processo para que o patrocínio chegasse ao projeto, através da Universidade e trazendo benefícios fiscais à empresa, seria muito demorado. Portanto, providenciamos outras vias para o recebimento do patrocínio, por meio da compra de materiais. Contudo, a empresa não obteve benefícios fiscais. Assim, formas mais rápidas e menos burocráticas de transferências de recursos poderiam ser oferecidas pela Universidade futuramente. Dessa forma, acredito que haveria maior parceria entre projetos e empresas privadas, trazendo ganhos para a pesquisa e educação.

Em relação às análises laboratoriais, houve uma dificuldade em obter as concentrações de progesterona, estradiol e testosterona através do ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay). Mesmo tentando bloquear a placa utilizando leite desnatado (5%) ou fazendo o "coating" da placa com proteína A (com o anticorpo e os dois antígenos livres em solução), ocorreu reação cruzada do anticorpo com outros elementos do soro. Dessa maneira, para obter as concentrações dos hormônios seria necessário realizar a extração dos esteroides do soro. Isto não foi realizado por falta de tempo e recursos. Por esses motivos, não pudemos aproveitar os resultados das análises desses hormônios. Dessa forma, pesquisas poderiam ser feitas nessa área visando o aprimoramento de ensaios para dosagens de esteroides sexuais no soro bovino.