

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DA PARAÍBA –
CAMPUS SOUSA
BACHARELADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

JOSÉ VALDEVAN DE SOUSA SILVA

DIAGNÓSTICO PRECOCE DE GESTAÇÃO EM VACAS LEITEIRAS MISTIÇAS
SUBMETIDAS A DIFERENTES PROTOCOLOS DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM
TEMPO FIXO

SOUSA/PB
2017

José Valdevan de Sousa silva

DIAGNÓSTICO PRECOCE DE GESTAÇÃO EM VACAS LEITEIRAS MISTIÇAS
SUBMETIDAS A DIFERENTES PROTOCOLOS DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM
TEMPO FIXO

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado, como parte das exigências
para a conclusão do Curso de
Graduação de Bacharelado em
Medicina Veterinária do Instituto
Federal da Paraíba, Campus Sousa.

ORIENTADOR: Prof. MSc. Luis Eduardo Pereira de Andrade Ferreira.

SOUSA/PB
2017

José Valdevan de Sousa silva

DIAGNÓSTICO PRECOCE DE GESTAÇÃO EM VACAS LEITEIRAS MISTIÇAS
SUBMETIDAS A DIFERENTES PROTOCOLOS DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM
TEMPO FIXO

Trabalho de Conclusão de Curso defendido e aprovado em _____
pela Comissão Examinadora:

Orientador:

Prof. Msc. Luis Eduardo Pereira de Andrade Ferreira
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Paraíba, Campus Sousa

Avaliadores:

Prof^ª. Dr^ª. Ana Lucélia de Araújo
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Paraíba, Campus Sousa

Prof^ª. Dr^ª. Ana Valeria Souza Marques
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Paraíba, Campus Sousa

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a meu eterno avó José Alves de Sousa (Dezim) que onde o senhor estiver espero que esteja bem! E saiba que permanecerá eternamente no meu coração! Pois ninguém pode apagar as lembranças que carrego comigo, as quais tanto prezam. Te amo meu avohai.

AGRADECIMENTOS

Á Deus, por sempre estar presente em minha vida, por me guiar e nunca permitir desistir. Dando-me sempre força, coragem e determinação principalmente nos momentos mais difíceis, e mostrar-me que tudo é possível, basta nele crer obrigado, obrigado por tudo.

A meus pais, Creusimar de Sousa Silva e Francisco Valderi da Silva. Por sempre acreditarem, e me apoiarem nos meus sonhos! E dar as mãos sempre nos momentos mais difíceis, tenho muito orgulho em dizer que sou filho de vocês.

A minha avó Luzimar por me mostra sempre o amor pelos animais. Em memória de todos meus outros avôs que partiram, mas sempre torceram por mim! Jamais os esquecerei.

A minha família que não sabia como ajudar, mas sempre me incentivava com palavras o meu irmão por toda a ajuda, pois ambos somos amantes dos animais desde nossa infância.

Ao meu orientador, como não dizer um pai que a veterinária me concedeu que sempre me aconselhasse e ajudou a cada dia eu tanto como aluno com amigo para ser um bom profissional e acreditou no meu potencial onde sempre guardarei em meu coração.

A todos os professores que desde o início do curso contribuíram na obtenção de conhecimentos e pela paciência e compreensão durante o curso.

A meus amigos Edson Alves, Marcelo Moreira, Mara, Andresa, Winderson o que não é famoso, Babalu, Darla, Marcia Russo e todos da sua família, Valdir Victor todos vocês fizeram e fazem parte dessa trajetória, considero-os todos como irmãos e irmãs que DEUS colocou em meu caminho. Serei eternamente grato a vocês.

Amigos da VET que encontrei no transcórrer destes anos de busca pelo conhecimento. Gessyca Maria, Maria do Socorro, Ícaro Costa, Samira Batista, Aldcejan Martins, Flavia, João Silvestre, Amáira, Antonielson, Gabriel, Pablo, Luís Fernando para sempre lembrados.

A professora Thais Feitosa pela atenção e por acreditar! Por sempre acreditar na minha capacidade sem esmorecer, e mostrar que muitas portas se fecham, mas milhares se abrem.

A todos os funcionários que fazem parte da minha trajetória na veterinária Francimario, Eliane, Inácia, seu grande Neto vaqueiro.

A instituição e a toda sua equipe desde ao porteiro a direção pelo compromisso e dedicação com seus alunos. A todos os meus colegas e amigos que acreditaram e torceram por mim.

Á todos:

Obrigado!

RESUMO

A realização de diagnóstico gestacional precoce, possibilitada pelo modo ultrassonográfico Doppler, através da avaliação da vascularização luteínica, atrelado a Inseminação Artificial em Tempo Fixo é uma combinação pouco utilizada, que possibilitam resultados mais eficientes. O presente trabalho objetiva avaliar a eficácia de diferentes indutores da ovulação utilizando a técnica de diagnóstico gestacional por Doppler em bovinos. Foram utilizadas 18 vacas mestiças de gado holandês e gir, divididas em três grupos. Um dos grupos recebeu Gonadotrofina Coriônica Equina no momento da retirada do implante de progesterona, outro recebeu Benzoato de Estradiol 24 horas após a retirada e o outro foi tratado com Hormônio regulador de Gonatrofinas 36 horas após a retirada da progesterona. Todos os grupos foram submetidos a acompanhamento da dinâmica folicular a partir do 6 dia do início do tratamento hormonal até o dia da ovulação e a diagnóstico gestacional 20 dias após a inseminação, com ultrassom modo Doppler, e com mais 10 dias com ultrassom modo M. Os grupos apresentaram resultados de número e diâmetro foliculares semelhantes, assim como índice de ovulação e taxas de prenhes. Diferindo apenas no diagnóstico gestacional pelo modo B, que identificou duas prenhes a menos que o modo Doppler, fato esta atribuído em parte a perda embrionária precoce. Levando ao entendimento os tratamentos hormonais tem resultados semelhantes quando os animais se encontram em boas condições de manejo reprodutivo e nutricional, Além de reforçar que o diagnóstico gestacional precoce pela avaliação da vascularização luteínica é eficiente e preciso.

PALAVRAS-CHAVE: Biotécnicas, Doppler colorido, Tratamento Hormonal.

ABSTRACT

The achievement of early gestational diagnosis, made possible by ultrasonographic Doppler mode, through the evaluation of luteinic vascularization, together with Artificial Insemination at Fixed Time, is a not often used combination that allows more efficient results. The present study aims to evaluate the efficacy of different ovulation inducers using the doppler gestational diagnosis technique in cattle. Eighteen crossbred cows from european and Gir cattle were used, divided into three groups. One group received Equine Chorionic Gonadotrophin at the time of progesterone withdrawal, another received Estradiol Benzoate 24 hours after withdrawal and the other was treated with Gonatotrophin regulator hormone 36 hours after progesterone withdrawal. All groups underwent follow-up of the follicular dynamics from the 6th day of the beginning of the hormonal treatment until the day of ovulation and the gestational diagnosis 20 days after the insemination, with doppler ultrasound mode, and another 10 days with ultrasound mode M. The groups presented similar follicular number and diameter results, as well as ovulation index and pregnancy rates. Differing only in the gestational diagnosis by mode B, which identified two pregnancies less than the Doppler mode, fact is attributed in part to early embryonic loss. Leading to the understanding the hormonal treatments have similar results when the animals are in good conditions of reproductive and nutritional management. Besides reinforcing that the early gestational diagnosis by the evaluation of the luteal vascularization is efficient and precise.

KEY WORDS: Biotechniques, Color Doppler, Hormonal Treatment

LISTA DE SIGLAS

BE - Benzoato de Estradiol
BEN - Balanço Energético Negativo
CIDR– Releasing GrugInternal Controlled
CL - Corpo Lúteo
CLc – Corpo Lúteo Pós ovulatório
E2 - Estrógeno
eCC - Escore de Condição Corporal
F – Folículos maiores
f – Folículos menores
Fpo – Folículos pré ovulatório
eCG - Gonadotrofina Coriônica Equina
GH – Hormônio de Crescimento
GnRH - Hormônio Liberador de Gonadotrofinas
LEBRE – Laboratório de Ensino em Biotecnologia da Reprodução
IA - Inseminação Artificial
IATF - Inseminação Artificial em Tempo Fixo
IM – Intra Muscular
IFPB- Instituto Federal Ciência e tecnologia da Paraíba
P4 - Progesterona
PGF2 α - Prostaglandina F2Alfa
ST - Somatotrofina
UI - Unidade Internacional
mm – Milímetro
s – Segundo
% - Porcentagem

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Imagem esquemática da localização do aparelho reprodutor feminino bovino. Fonte (PEGORARO & SAALFELD & PRADIEÉ, 2016) 16
- Figura 2:** Inter-relações do controle endócrino hormonal com a gônada reprodutiva da fêmea bovina. Fonte: (MACEDON, 2016) 18
- Figura 3:** Imagem esquemática da sequência de fases do ciclo estral da fêmea bovina, iniciando-se pelo proestro e terminando no diestro. Fonte: (MARTINS, 2016)..... 19
- Figura 4:** Imagens ultrassonográficas de ovário bovino apresentando corpo lúteo. Os painéis 0 a 4 indicam, respectivamente, os escores 0, 1, 2, 3 e 4 para perfusão sanguínea periférica e central no tecido luteal (limite de detecção: 0,05mm/s). Fonte (PUGLIESI et al., 2017).....24
- Figura 5:** Desenho esquemático do tratamento hormonal utilizado para realizar a IATF, em preto, com a demonstração da aplicação do eCG, BE e GnRH que ocorreram apenas no seu grupo, em vermelho. Além da demonstração do momento do diagnóstico gestacional com ultrassom modo Doppler e Modo B25
- Figura 6:** Demonstração de diferentes momentos da avaliação ultrassonográfica durante protocolo de IATF, como ovários contendo as estruturas avaliadas de folículo e corpo lúteo. Imagem 1 representar a imagem de folículo >5 mm (F) mais corpo lúteo (CL) e um folículo < 5 mm (f); imagem 2: mostra um folículo pré ovulatório (Fpo). Imagem 3: Corpo lúteo cavitário (CLc) pós ovulação.....26
- Figura 7.** Distribuição das médias (desvio padrão) dos números de folículos maiores que 5 mm na fase de dominância folicular de três diferentes protocolos de inseminação artificial em tempo fixo, utilizando como indutor da ovulação a Gonadotrofina Corionica equina (eCG), o Benzoato de Estradiol (BE) ou Hormônio regulador de Gonadotrofinas (GnRH), administrados no momento da retirada do implante de progesterona, ou após 24 e 36 horas de sua retirada, respectivamente.....28
- Figura 8.** Distribuição das médias (desvio padrão) dos diâmetros foliculares, em milímetros, na fase de dominância folicular de três diferentes protocolos de inseminação artificial em tempo fixo, utilizando como indutor da ovulação a Gonadotrofina Corionica equina (eCG), o Benzoato de Estradiol (BE) ou Hormônio regulador de Gonadotrofinas (GnRH), administrados no momento da retirada do implante de progesterona, ou após 24 e 36 horas de sua retirada, respectivamente.....29
- Figura 9.** Representação das médias (\pm desvio padrão) dos números de folículos maiores que 5 mm avaliados no dia da Inseminação Artificial (IA), do número de Corpos Lúteos

observados 24 horas após a IA e porcentagem das taxas de prenhes avaliadas com o ultrassom modo Doppler 20 dias após a IA e com ultrassom Modo B como mais 10 dias, das taxas de ovulações duplas e prenhes gemelar de três diferentes protocolos de IA em tempo fixo, utilizando como indutor da ovulação a Gonadotrofina Corionica equina (eCG), o Benzoato de Estradiol (BE) ou Hormônio regulador de Gonadotrofinas (GnRH), administrados no momento da retirada do implante de progesterona, ou após 24 e 36 horas de sua retirada, respectivamente.....31

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Médias \pm desvio padrão dos números de folículos maiores que 5 mm avaliados no dia da Inseminação Artificial (IA), do número de Corpos Lúteos observados 24 horas após a IA e porcentagem das taxas de ovulação simples e duplas, das de prenhes avaliadas com o ultrassom modo Doppler 20 dias após a IA e com ultrassom Modo B como mais 10 dias, das prenheses gemelar e da taxa de fertilização de três diferentes protocolos de IA em tempo fixo, utilizando como indutor da ovulação a Gonadotrofina Corionica equina (eCG), o Benzoato de Estradiol (BE) ou Hormônio regulador de Gonadotrofinas (GnRH), administrados no momento da retirada do implante de progesterona, ou após 24 e 36 horas de sua retirada, respectivamente.....30

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	15
2.1	Anatomia Reprodutiva da Fêmea Bovina	15
2.2	Fisiologia Reprodutiva da Fêmea Bovina.....	16
2.3	Ciclos Estrais Bovinos	18
2.4	Inseminação Artificial em Tempo Fixo	20
2.5	Ultrassonografia Doppler na reprodução animal.....	22
3	MATERIAL E MÉTODOS	24
3.1	Localização	24
3.2	Grupos experimentais	24
3.3	Diagnostico de Gestação.....	26
3.4	Análise estatística.....	27
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
5	CONCLUSÃO.....	33
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICA.....	34

1 INTRODUÇÃO

O baixo índice de fertilidade em bovinos leiteiro se apresenta como um dos problemas mais recorrentes enfrentados pelos criadores, comprometendo a produtividade e o mercado (SANTOS et al., 2014). Os principais fatores que influenciam nesse distúrbio são a ineficiência nutricional, o estresse térmico e os distúrbios hormonais (OLIVEIRA et al., 2012). No entanto, existe uma gama de biotecnologias, isolados ou em conjunto, que são capazes de minimizar tais efeitos (CÂMARA et al., 2006).

No Brasil estudos direcionados a minimização dessas falhas reprodutivas, e potencialização do seu rebanho são de extrema necessidade (MELLO et al., 2014), por possuir o segundo maior rebanho do mundo, com aproximadamente 218,23 milhões de cabeças (IBGE, 2016), sendo cerca de 23 milhões destes animais fêmeas, em estado de lactação, estimando sua produção em 34 bilhões de litros anual (ZOCCAL, 2016). Mesmo assim a maioria dos criadores brasileiros persiste na utilização de técnicas arcaicas de reprodução, responsáveis pelo baixo índice no número de parições ano (SIMÕES, 2010), tendo apenas 9% de fêmeas em idade reprodutiva, em média, sendo inseminadas (PEREIRA et al., 2013).

Dentre algumas destas ferramentas em destaque está a Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF), que juntamente com novas ferramentas tecnológicas como a ultrassonografia com Doppler, atua acelerando o processo de melhoramento genético dos rebanhos. Esta última torna possíveis estudos e análises mais detalhadas de todo o ciclo reprodutivo, a exemplo, da avaliação hemodinâmica do fluxo sanguíneo do útero e ovários, a qual pode antecipar o diagnóstico precoce da gestação, além de auxiliar na identificação das patologias reprodutivas (PUGLIESI et al., 2017).

A IATF é descrita, por alguns autores, como uma alternativa viável entre as biotécnicas, possibilitada através de tratamentos hormonal, que auxiliam na sincronização do momento da ovulação (SIMÕES, 2010). De maneira que as inseminações artificiais ocorrem em horário pré-determinado, apresentando grande vantagem sobre a Inseminação Artificial (IA) convencional, principalmente por não haver necessidade de observação do cio. Além disto, reduz gasto de tempo e favorece a organização do rebanho, com a programação das parições em períodos considerados ideais a cada região (ROCHA & RABELO, 2007).

Para a realização da IATF diversas estratégias reprodutivas, baseadas em protocolos hormonais, vêm sendo estudadas. Entre eles os de uso mais recorrentes são: protocolos de

utilização da Gonadotrofina Coriônica Equina (eCG), como promotor do crescimento folicular e indutor da ovulação em condições de deficiência nutricional (MELLO et al., 2014), o Hormônio Liberador de Gonadotrofinas (GnRH), e do Benzoato de estradiol (BE) como indutores da ovulação. A maioria desse protocolo está incorporada a tratamentos hormonais a base de progesterona, estrógenos e prostaglandina, utilizados rotineiramente para IATF, atingindo um público voltado tanto para a produção leiteira como a de corte (FURTADO; AVANZA & TOZZETTI, 2007).

Aliado a isto, temos na região de Sousa PB, particularidades atreladas ao alto potencial produtivo de leite influenciado economicamente pelo ascendente comércio de laticínios. Diante o exposto, verificou-se a necessidade da realização de estudos a respeito da precoce avaliação de eficácia de diferentes protocolos hormonais que possibilitem a IATF. Objetivando obter maior eficiência nas taxas de prenhez em rebanho com produção leiteira.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Aplicação de biotécnicas da reprodução animal requer o conhecimento específico e minucioso da anatomia e dos eventos fisiológicos das fêmeas bovinas, bem como as ações hormonais decorrentes dos ciclos reprodutivos. De maneira que possibilite saber interpretar o momento ideal de se realizar o eventual procedimento de inseminação, garantindo o sucesso do procedimento (GONÇALVES et al., 2008).

2.1 Anatomia Reprodutiva da Fêmea Bovina

A topografia do sistema reprodutivo da fêmea bovina é dividida em duas distintas áreas, sendo a primeira composta pela genitália interna, constituída por ovários, ovidutos, útero, cérvix, vagina e genitália externa constituída pela vulva (PANSANI & BELTRAN, 2009).

As gônadas comumente conhecidas como ovários, são encontrados em pares, com atuações distintas nos momentos pré e pós cio/ovulação, os mesmos desempenham as funções exócrina (momento em que ocorre a liberação do óvulo), e endócrina (produção dos hormônios esteróides, estradiol e progesterona, e dos hormônios protéicos, relaxina, inibina, activina e folistatina) (HAFEZ & HAFEZ, 2004). Os aspectos morfológicos dos ovários apresentam muita variabilidade, possuindo geralmente formato de amêndoas, peso ao redor de 15 a 20 gramas, 4 cm de comprimento e 2,5 cm de largura (PEGORARO et al., 2016).

As tubas uterinas são estruturas especializadas no transporte do oócito (do ovário até o útero), dos espermatozóides (em direção ao oócito) e do embrião (até o útero) por meio de movimentos ciliares e contração muscular (FEITOSA, 2015).

O útero é dividido em três partes, corpo, cornos e colo, tendo um septo que separa os dois cornos (septo intercornual). Dentro das fases do ciclo reprodutivo o útero apresenta variações e comportamentos diferentes, a principal função uterina é de abrigar o embrião e posteriormente o feto, fornecendo proteção e nutrição adequada para seu desenvolvimento (FEITOSA, 2014). Além do transporte de espermatozóide e participação na regulação da função do corpo lúteo (CL) (HAFEZ & HAFEZ, 2004).

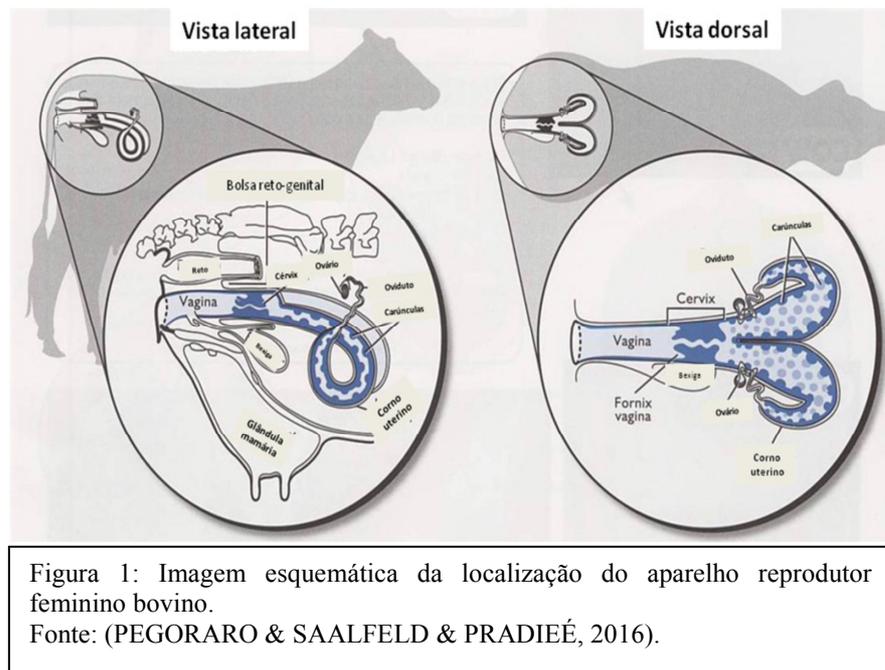
A Cervix, ou colo está localizado cranial a vagina. É um órgão fibroso composto por tecido conjuntivo e pequena quantidade de tecido muscular liso, apresentando estruturas anelares transversos onde só se encontra aberta em dois períodos, uma durante o cio e a outra no momento do parto (HAFEZ & HAFEZ, 2004). Tem como função a seleção e o

reservatório de espermatozoides viáveis, além de conferir proteção para o ambiente uterino durante a gestação contra entrada de patógenos em via acedente ao útero (PANSANI & BELTRAN, 2009).

A vagina constitui o órgão copulatório e o canal de parto. É o local de deposição do sêmen durante a monta natural. Na porção caudal da vagina, há uma região denominada vestibulo vaginal, que constitui um prolongamento da vagina, abre-se externamente na vulva e atua, também, como via urinária (FEITOSA, 2014)

A estrutura mais externa é a vulva, que constitui o fechamento externo do trato genital feminino onde sua função de proteção contra a entrada acedente de patógeno para útero, pós-dorsal a vulva se encontra o ânus como fonte de contaminação microrganismo (PANSANI & BELTRAN, 2009).

A figura 1 é uma representação esquemática da localização do aparelho reprodutivo da fêmea bovina e suas reconstituintes divisões.



2.2 Fisiologia Reprodutiva da Fêmea Bovina

O sistema endócrino é formado por uma série de glândulas produtoras de hormônio. Localizado em diferentes áreas do organismo animal, produzem um ou mais hormônios que são capazes de interagir e desempenhar mais de uma série de modificações no comportamento fisiológico reprodutivo (MACEDO, 2016)

O mecanismo reprodutivo tem início no hipotálamo, localizado na região do terceiro ventrículo, estende-se do quiasma óptico ao corpo mamilares, região onde desempenha a função de armazenamento e secreção de hormônios, dentre eles o GnRH, liberado em forma de pulsos e com frequência de amplitude variável nos vasos e artérias. O sistema porta hipotalâmico-hipofisário estimula diretamente adeno-hipófise, de maneira que atua nos receptores gonadotróficos hipofisários, que por sua vez estimulará a secretar os hormônios FSH (Hormônio folicúlos estimulante) e LH (hormônio luteinizante), atuando nas gônadas reprodutivas da fêmea (HAFEZ & HAFEZ, 2004).

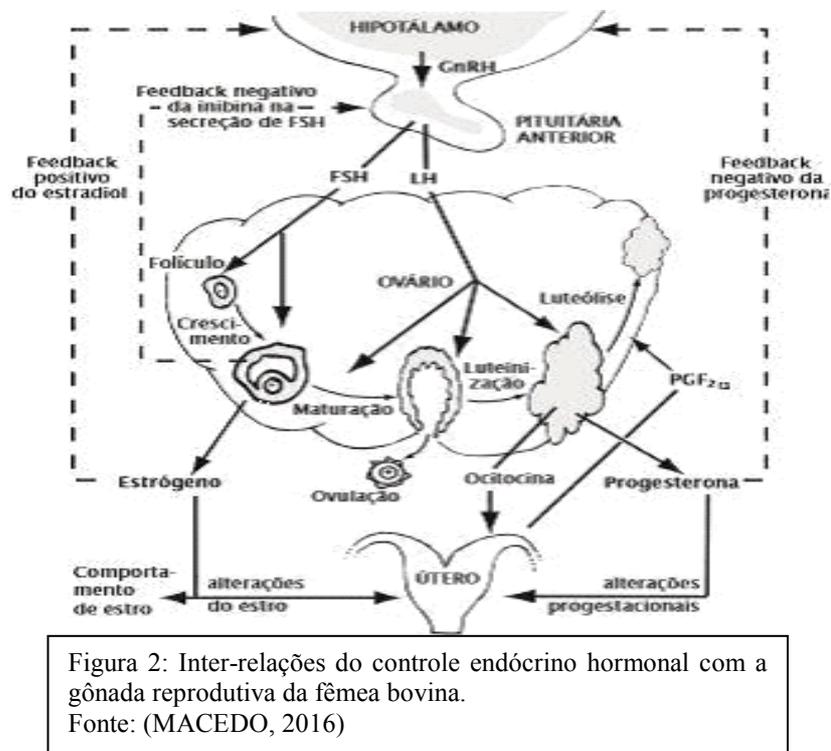
Os ovários também desempenham papel importante no ciclo da reprodução, por meio de estímulos hormonais do FSH e do LH, é induzido a gametogênese. Esse processo de desenvolvimento folicular ocorre em forma de padrão de ondas, determinadas ondas foliculares, as quais se dividem em quatro fases, sendo elas: recrutamento, seleção, dominância e ovulação ou atresia (OLIVEIRA et al., 2012).

Os folicúlos em crescimento, tanto os em dominância quanto os subordinados, em suas células granulosas da parede do folicúlo, produzem hormônio esteroide, o estrógeno (E₂) ou 17 β -estradiol, (responsável pelo comportamento do estro). Além disso, quando estrógeno atingir seu pico máximo na corrente sanguínea, passa a induzir um feed-back positivo ao hipotálamo, para aumentar o GnRH (OLIVEIRA et al., 2012). Este, por sua vez, passa a induzir ao pico de LH, refletindo na maturação do folicúlo. Assim induzindo a ovulação e formação do corpo lúteo e conseqüentemente estimulando a produção de progesterona (P₄). A qual irá levar a um feed-back negativo, diminuindo a liberação do LH (MARTINS, 2016).

Após a ovulação, com a formação do corpo lúteo, novas ondas foliculares serão formadas pelos picos de FSH, ocorrendo assim, o crescimento de folicúlos dominantes. Porém estas não chegarão a ovular até que o bloqueio da progesterona acabe. Outro fator inibidor do crescimento folicular, o qual leva as vacas a serem animais monovulatórios é a produção de inibina pelas células da granulosa folicular. Esta é responsável pela atuação da hipófise como feed-back negativo, evitando assim a continuação do hormônio FSH proporcionando atresia desses folicúlos e impedindo a competição e permanência de apenas o folicúlo dominante, que por ter maior quantidade de receptores de FSH consegue se manter em concentrações mais baixas (MACEDO, 2016).

O corpo lúteo ativo, produzindo P4, atinge seu pico máximo no 14º dia do ciclo. Porém caso não aconteça o reconhecimento materno da gestação, ou seja, caso a fêmea não esteja prenhe, é necessário que ocorra o declínio na produção de P4. Esse mecanismo é controlado pelo próprio corpo lúteo, que estimula, através da produção de ocitocina, o endométrio uterino a produzir e liberar prostaglandina $F_{2\alpha}$, levando a redução da vascularização luteínica e apoptose de suas celulares, proporcionando a luteólise. Assim possibilitando a ocorrência da ovulação do folículo dominante presente naquele momento (MARTINS, 2016).

A figura 2 é uma representação esquemática dos órgãos e hormônios mais importantes envolvidos na reprodução da fêmea, com algumas de suas funções e interações.



2.3 Ciclos Estrais Bovinos

O ciclo reprodutivo da espécie bovina está relacionado com vários fenômenos entre a puberdade e a maturidade sexual do animal, quando se torna capaz de liberar gametas e apresentar comportamento sexual completo, por ação de hormônios reprodutiva (HAFEZ, & HAFEZ, 2004). A espécie bovina apresenta vários ciclos estrais durante todo o ano, sendo chamados de poliétrico não estacionais, pois não depende de estação do ano. Didaticamente o ciclo estral pode ser dividido em 4 fase; decorrente de ações hormonais sendo o primeira Pró-

estro seguido estro (fase folicular e estrogênica), metaestro e diestro (progesterônica ou luteal) (GREGORY, 2009).

A duração do ciclo estral da fêmea bovina é em média 21 dias, variando de 17 a 23 dias (GREGORY, 2009). Esta duração está relacionada ao número de ondas foliculares durante o ciclo estral, que pode ser de duas ou três ondas. Sendo está influenciada por vários fatores, como raça, clima e idade (SILVEIRA, 2010).

A figura 3 é uma representação esquemática do ciclo estral da fêmea bovina divididas em quatro etapas decorrentes de ações hormonais.



Figura 3: Imagem esquemática da sequência de fases do ciclo estral da fêmea bovina, iniciando-se pelo proestro e terminando no diestro.

Fonte: (MARTINS, 2016).

O Pro estro é fase que anteceder o estro ou cio, tem uma duração de 3 a 4 dias. É o período compreendido entre a luteólise, com declínio nos níveis de progesterona, e pelo desenvolvimento folicular, com aumento dos níveis de estradiol. Assim desencadeando manifestações comportamentais como o ato montar nas outras vacas, mas não deixar ser montada (PEGORARO & SAALFELD & PRADIEÉ, 2016).

Estro ou cio, comumente referido também chamado como dia zero do ciclo estral dos bovinos, é o período em que a fêmeas mostram comportamento reprodutivo de receptividade de aceita a monta (seja por touro, rufião ou mesmo outra fêmea). Esta fase apresenta níveis elevados de estrógeno que ocasiona mudanças fisiológicas em outros órgãos reprodutivos (ANTONIOLLI, 2002). O estro tem uma duração de aproximadamente, 12 horas, e a ovulação ocorre de 12 a 16 horas após o término do cio, dependendo de alguns fatores como

raça e idade, sendo este período o ideal para ser realizada a monta natural ou inseminação artificial nestes animais (MARTINS, 2016).

Em sequência temos o Metaestro, que é a fase em que a fêmea não aceita mais ser montada, devido a diminuição de estrógeno. Nesta fase ocorre a ovulação e em seguida a formação do corpo lúteo (CL) induzindo a produção de progesterona. O tempo duração desta fase e de três a quatro dias (SILVEIRA, 2010).

Por último temos o Diestro, o qual tem uma duração média de 16 dias. No diestro, o corpo lúteo é ativo e existe a predominância hormonal da progesterona (fase luteínica) (ANTONIOLLI, 2002).

Nos casos da fêmea ser ficar prenhe ocorrera a gestação que tem duração média de 280 dias, mas pode variar de 271 a 293 dias. Em caso de estabelecimento de gestação, a produção de progesterona é mantida pelo corpo lúteo, e não haverá início de um novo ciclo estral (HAFEZ & HAFEZ, 2004).

2.4 Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF)

Na maioria dos manejos reprodutivos utilizados nas criações de bovinos brasileira, existe um longo período ocioso entre os partos de uma vaca na fazenda (ROCHA & RABELO, 2007). A crescente busca de produtividade almeja fazer com que uma vaca produza pelo menos um bezerro por ano e permaneça seca somente o período mínimo necessário entre as duas lactações (BARUSSELLI et al., 2008).

A IATF se fortalece, cada dia mais, como uma ferramenta auxiliadora no processo de melhoramento produtivo e reprodutivo destes animais. Sendo assim, uma das biotécnica desenvolvida para suprir as deficiências da inseminação artificial (IA) tradicional, que são as falhas de detecção de cios e a incapacidade de atingir fêmeas em anestro (ALMEIDA et al., 2016).

Esta técnica é aplicada no rebanho através do uso de fármacos capazes de controlar e sincronizar o ciclo estral e a ovulação das vacas, de modo que, se possam inseminar essas fêmeas em horários pré-determinados e com boas taxas de concepção. Sendo também capaz de trazer fêmeas em anestro à ciclicidade com a inclusão do hormônio nos protocolos de IATF (INFORZATO et al., 2008). Para Marcedo (2016) quando realizado, espera-se obter um índice próximo de 50% de taxa de prenhez, quando a técnica é realizada corretamente.

Vale ressaltar que a administração dos hormônios utilizados na IATF, não prejudica ou interferem na vida dessas fêmeas, pois são substâncias iguais ou similares às que participam do processo fisiológico dos seus aparelhos reprodutivos, não interferindo ou agindo sobre ciclos estrais posteriores (SILVEIRA, 2010).

A IATF deve ser utilizada em propriedades assistidas por Médicos veterinários capacitados, com adequado manejo nutricional, sanitário e reprodutivo, com fêmeas em boa condição corporal e acima de 45 dias de pós-parto. Em caso de novilhas, somente as que já tiveram um ou dois ciclos estrais e já atingiram o peso adequado, podem participar de protocolos de IATF (PEREIRA et al., 2013).

Existem vários protocolos desenvolvidos para IATF, a decisão de qual deles utilizar é técnica, levando em conta a avaliação dos animais. Contudo, dentre eles, os que demonstram melhor resultados são os que utilizam dispositivos de progesterona e eCG, pois aliam maior taxa de prenhez com o fato de atingir fêmeas em anestro (BARUSELLI et al., 2008).

Porém, sempre deve-se realizar primeiramente a seleção dos lotes de animais a serem sincronizados, tratando primeiramente de certificar-se que estes animais não possuem nenhum problema de ordem clínica no aparelho reprodutor (FURTADO, 2011).

Com o uso da IATF conseguimos que as vacas do rebanho emprenhem mais rapidamente no período pós-parto, conseguindo reduzir a média de Intervalo entre Partos (IEP), resultando disso uma maior produção/ano de leite e bezerros. Podendo levar num rebanho leiteiro a uma redução de um mês na média de IEP, resultado no acréscimo de 5 a 6% da produção leiteira e de bezerros (FURTADO, 2011).

Outro benefício possível, é a concentração de partos nas épocas de entressafra leiteira, onde os produtores recebem valores maiores pelo leite. A racionalização da mão de obra e a melhor qualidade de vida proporcionada aos inseminadores, que podem dispensar a observação de cios e diminuição de problemas trabalhistas decorrentes disso, também são vantagens importantes. Dentre eles é possível listar significativas vantagens sobre a aplicação desta técnica (CREMA 2012).

1. Controle total da reprodução
2. Eliminação da detecção de cios
3. Inseminação de vacas com cria ao pé
4. Induz a ciclicidade de vacas em anestro
5. Alta taxa de prenhez no início da estação

6. Aumenta a taxa de prenhez
7. Concentração e adiantamentos da parição
8. Padronização e maior peso ao desmame
9. Inseminação em grande escala
10. Otimização da mão-de-obra
11. Programar a inseminação e o nascimento dos bezerros
12. Melhoramento genético (número de bezerros nascidos de IA).

Com a dinâmica da IATF, é possível promover: um melhor controle zootécnico nas propriedades, como melhorias no manejo reprodutivo; além de poder realizar vários tipos de cruzamento para obtenção de melhorias na produção de carne ou leite, organização do rebanho, por meio da programação das partições em período ideal para cada região (MELLHO et al., 2014), proporcionar uniformidade do rebanho e realização de controle de animais como vacas com bezerro ao pé prenes e vazias, diminuição na compra de reprodutores além de evitar transmissão de doença pelo alto do coito, que pode descartar animais infértis diminuindo custo e tempo (MARCEDO et al., 2016).

Essa técnica oferece uma excelente oportunidade no aumento da lucratividade na propriedade, porque possibilita além da utilização do sêmen de touros aprovados para o melhoramento genético dos bezerros, a melhoria dos índices reprodutivos, a redução do intervalo entre partos e aumento do número de bezerros nascidos. Com isso, é possível realizar todo o processo de inseminação rápida e organizadamente, também melhorando o manejo das pastagens e racionalizando o uso da mão de obra e das instalações (PEREIRA, 2009).

2.5 Ultrassonografia Doppler na reprodução animal

A ultrassonografia em modo Doppler tem seus primeiros registros datados de meados da década de 80, tecnologia essa que surge como ferramenta de auxílio na investigação a função cardíaca de humanos, desde então passou a ser aprimorada e melhorada no estudo de diversos órgãos tais como sistema reprodutor feminino durante a gestação (MEDEIRO, 2016).

A ultrassonografia de modo Doppler é uma ferramenta de auxílio ao diagnóstico, permitindo a precoce avaliação dos fluxos sanguíneos em veias e artérias em tempo real (MEDEIRO, 2016). Apenas no início do século XXI a medicina veterinária iniciou a utilizar

essa tecnologia em suas atividades, desde então a ultrassonografia modo vascular tem possibilitado e auxiliado no melhoramento genético e dos índices de crescimento da pecuária Brasileira (SANTOS, 2013).

Assim como para a medicina veterinária, esta ferramenta vem sendo aprimorada, e possibilitando novos estudos e pesquisas. Destas muitas têm suas atenções direcionadas ao auxílio da reprodução, aliadas as biotécnicas como IATF, FIV, TE na realização de estudo da topográfica reprodutiva de animais de grande porte, como bovino e equino, na avaliação hemodinâmica do fluxo sanguíneo do útero e ovário ou alterações fisiológicas como ciclo estral, gestação e puerpério (PUGLIESI et al., 2017).

Complementando o melhoramento do índice de prenhez no rebanho, com diagnóstico precoce de gestação através da avaliação da microciculação sanguínea do corpo lúteo CL, no ovário. Promovendo a realização do controle zootécnico de animais, segregando os animais em grupos de prenhes e vazias, esta sendo submetidas a novos tratamentos hormonais diminuídos o intervalo entre parto e aumentado o período de produção de leite. (OLIVEIRA, 2012).

Para (Pugliesi et al., 2017), o diagnóstico de gestação precoce assistido pela ultrassonografia Doppler, pode ser realizado a partir dos 20^o-22^o dia após inseminação, ou monta natural, momento esse que apresenta uma alta acurácia (90-100%). Já quando realizando antes do dia 18 propiciam baixa acurácia (<75%). Sendo um método de avaliação baixa possibilidade de diagnosticar erroneamente.

A ultrassonografia Doppler colorido permite a caracterização de forma quantitativa, semiquantitativa e qualitativa do fluxo sanguíneo nos órgãos reprodutivo de fêmeas bovinas. De tal modo que, o conhecimento paralelo da técnica, da anatomia e fisiologia reprodutiva, se faz fundamental o conhecimento dos princípios físicos e técnicos que influenciam o sinal Doppler. Levando assim a um melhor entendimento das imagens, e possibilitando identificação de modificações anatômicas e vasculares fisiológicas e patológicas, além de segregação de imagens errôneas, os artefatos de imagem (MEDEIRO, 2016).

Para Medeiro (2016) as cores são explicadas pelo movimento das células sanguíneas em função do sentido do transdutor. Sendo a cor azul quando direcionada para o transdutor e quando em sentido contrário apresenta-se vermelha. Já os fluxos de maior velocidade são demonstrados por cores mais claras como amarelos e laranja.

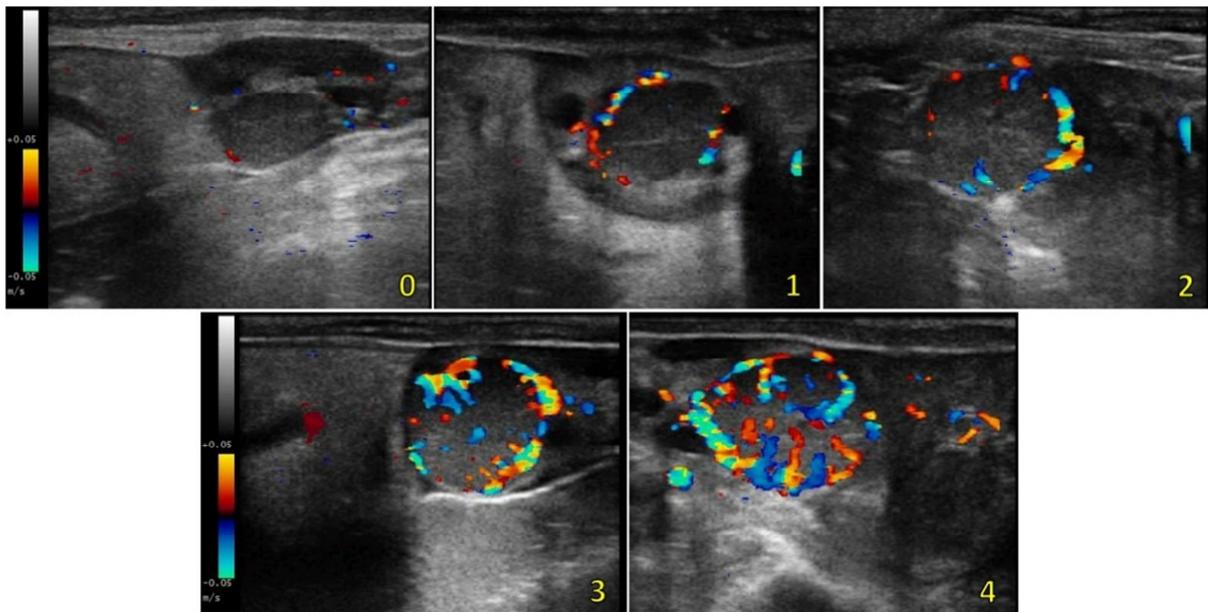


Figura 4: Imagens ultrassonográficas de ovário bovino apresentando corpo lúteo. Os painéis 0 a 4 indicam, respectivamente, os escores 0, 1, 2, 3 e 4 para perfusão sanguínea periférica e central no tecido luteal (limite de detecção: 0,05mm/s).
Fonte: (PUGLIESI et al., 2017)

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Localização

O experimento foi realizado no setor Bovinocultura do Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia da Paraíba (IFPB), Campus de Sousa. Realizado em parceria com o Laboratório de Ensino em Biotecnologia da Reprodução (LEBRE), localizado dentro das instalações do Hospital Veterinário no referido campus.

O campus está localizado no município de Sousa, baixo sertão da Paraíba, no perímetro irrigado de São Gonçalo. A região apresenta clima tropical com bioma de caatinga, com precipitação média anual de 894 mm, e evaporação média anual de 3.056,6 mm. O clima da região é do tipo Bsh da classificação de Köppen, com dois períodos bem definidos, seco e chuvoso. No período chuvoso, que acontece em meados dos meses de janeiro e maio. Latitude sul de 6°50'14,69" e 38°17,43'43,39 de longitude Oeste, altitude de 234m (DNOCS, 2015).

3.2 Grupos experimentais

Para a realização do estudo, foram selecionadas 18 fêmeas pluríparas mestiças, advindas de cruzamentos entre *Bos taurus taurus* e *Bos taurus indicus*, de compatibilidade genética, com idades que variam entre cinco e dez anos. A média de produtividade leiteira

registra uma produção diária de 10L/vaca, e período pós-parto acima de 45 dias. Animais com escore e condição corporal (ECC) $\geq 2,5$, escala de 1 a 5, sendo 1 muito magra e 5 muito gorda (EMBRAPA, 2010). Todas foram previamente examinadas clinicamente, fisicamente e ginecológico, segundo recomendações de Hafez & Hafez, (2004), caso algum desses animais apresente qualquer alteração seja qual for patologia ou prenhez que leve algum comprometendo em fins de pesquisa serão imediatamente desacetado.

Os animais foram separados em três grupos aleatórios através de sorteio. Cada grupo contém seis animais, tendo grupo 1 (eCG), grupo 2 (BE) e grupo 3 (GnRH) submetidos aos mesmos tratamentos hormonais básicos para realização da IATF,

A figura 5 é um desenho esquemático do tratamento hormonal utilizado na IATF, Além da demonstração do momento do diagnóstico da gestação com ultrasson Doppler e modo B.

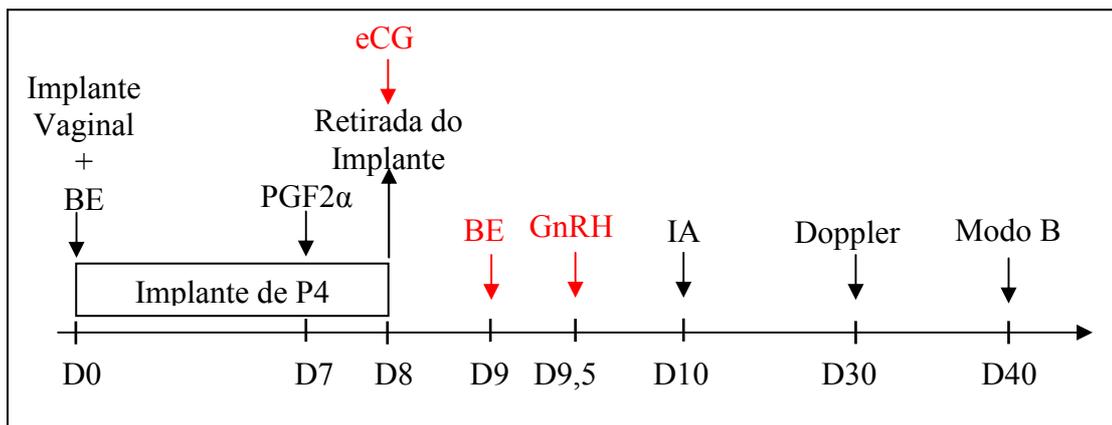


Figura 5: Desenho esquemático do tratamento hormonal utilizado para realizar a IATF, em preto, com a demonstração da aplicação do eCG, BE e GnRH que ocorreram apenas no seu grupo, em vermelho. Além da demonstração do momento do diagnóstico gestacional com ultrasson modo Doppler e Modo B. Fonte: (LEBRE-IFPB campus Sousa, 2017).

O tratamento para IATF básico para todos os grupos se iniciou com a introdução do implante Progesterona (dispositivo intravaginal bovino-DIB, Coopers Saúde animal, São Paulo, Brasil), associado a 2,0 mg de Benzoato de Estradiol (BE) (Gonadiol, Coopers Saúde animal, São Paulo, Brasil) em qualquer dia do ciclo estral, correspondendo ao D0 do protocolo. No D7 foi realizada a administração de 0,5 mg de Cloprostenol (Ciosin®, Coopers Saúde animal, São Paulo, Brasil), sendo o dispositivo de Progesterona retirado no D8. Foi realizada uma inseminações artificiais, transcervical, com sêmen da mesma partida de um reprodutor da raça Girolando proveniente de central de sêmen comercial, que ocorreram 48 horas após o retirado implante de progesterona.

Para induzir a ovulação, ao final do tratamento hormonal, um grupo recebeu Gonadotrofina Coriônica Equina (G1:ECG) no momento de retirada do implante de progesterona (D8), outro grupo recebeu Benzoato de Estradiol (G2; BE) 24 horas após a retirada do implante (D9) e o ultimo grupo Hormônio Liberador de Gonadotrofinas (G3: GnRH) 36 horas após a retirada do implante (D9,5). Conforme figura 1.

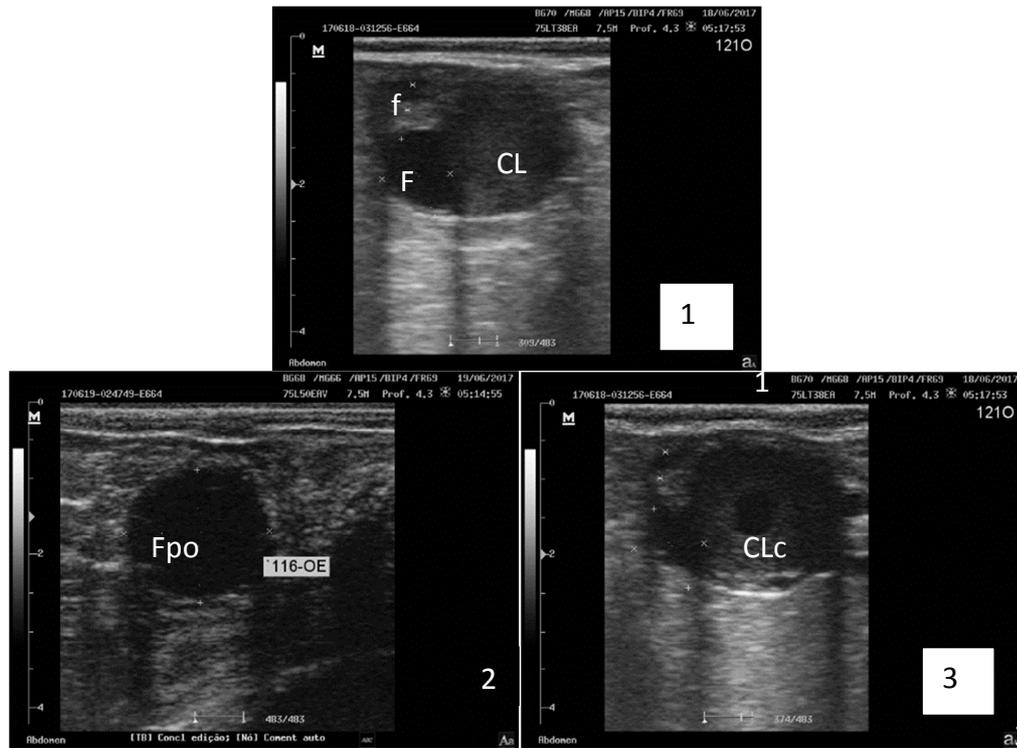


Figura 6: Demonstração de diferentes momentos da avaliação ultrassonográfica durante protocolo de IATF, como ovários contendo as estruturas avaliadas de folículo e corpo lúteo. Imagem 1 representar a imagem de folículo >5 mm (F) mais corpo lúteo (CL) e um folículo < 5 mm (f); imagem 2: mostra um folículo pré ovulatório (Fpo). Imagem 3: Corpo lúteo cavitário (CLc) pós ovulação.
Fonte: (LEBRE-IFPB campus Sousa, 2017).

As vacas foram submetidas a avaliação ultrassonográfica dos ovários do D6 até o D11, com intuito de acompanhar a fase de dominância folicular. Foi acompanhado a dinâmica folicular avaliando-se o número de folículos (com diâmetro a partir de 5mm) e dimensionado o maior eixo do maior folículo. Foi utilizado ultrassom modo B, com transdutor de 5mHZ (Mindray dp10)

3.3 Diagnostico de Gestação

Após 20 dias da IA (D30) foi realizado diagnóstico precoce de gestação das vacas através do método de ultrassonografia com Doppler vascular, de forma a realizar uma

avaliação subjetiva. Esta consiste em pontuar em uma escala de 0 a 4, de forma subjetiva, a vascularização periférica e central do corpo lúteo. Sendo 0 a ausência de vascularização e 4 a completa vascularização de tal região. De maneira que quanto o corpo lúteo atingem pontuação mínima de 1 na região central e 1 na região periférica o animal é considerada como prenha, sendo esses considerados como corpo lúteo funcional, e caso tenha uma pontuação 0-1 ou 0-0 o corpo lúteo é considerado afuncional estando assim a vaca vazia. Desta forma e estimando as vacas gestantes e não-gestantes como método de diagnóstico de prenhez (PUGLIESI et al., 2017).

Como mais 10 dias após avaliação de diagnóstico precoce de gestação com ultrassom Doppler (D40), foi realizada uma nova avaliação pelo ultrassom convencional. Nesta buscou-se avaliar se a técnica é eficiente e confiável para o diagnóstico precoce de gestação em rebanho de gado leiteiro. Pois, nesse momento, foi possível avaliar a presença ou ausência de vesícula embrionária.

3.4 Análise estatística

Os dados obtidos das variáveis estudadas, são apresentados como média e seus respectivos desvios padrão, como medidas de tendência central. Para análise, foi empregando a análise de variância (ANOVA). Nos casos em que houve significância no teste F ($P \leq 0,05$), as médias foram comparadas pelo Teste de Tukey. O programa computacional Sigma Stat 3.1, foi empregado em todas as análises.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A figura 7 mostra a distribuição das médias relacionadas aos números de folículos maiores que 5 mm, em cada grupo. De maneira que não foi observada diferença estatística entre os grupos, mantendo-se todos sempre com menos de três a mais de um folículo. Este fato é esperado devido os bovinos serem animais monovulatórios, ou seja, apresentarem naturalmente o crescimento de apenas um folículo dominante, conforme descrito por Hafez & Hafez (2004).

Além disto, nesta pesquisa os animais não foram submetidos à super ovulação. Mesmo tendo sido utilizado o eCG, hormônios este que poder ser empregado na estimulação de mais de um folículo, Porém, para isto ocorrer, seria necessário seu emprego antes da divergência folicular (CABODEVILA, J. & TORQUATRI, S, 2001), pois quando utilizado após o início da atresia dos folículos subordinados, tais fatos não podem mais ser interrompidos, assim não sendo possível recuperar os folículos atrésicos (MACEDO, 2016).

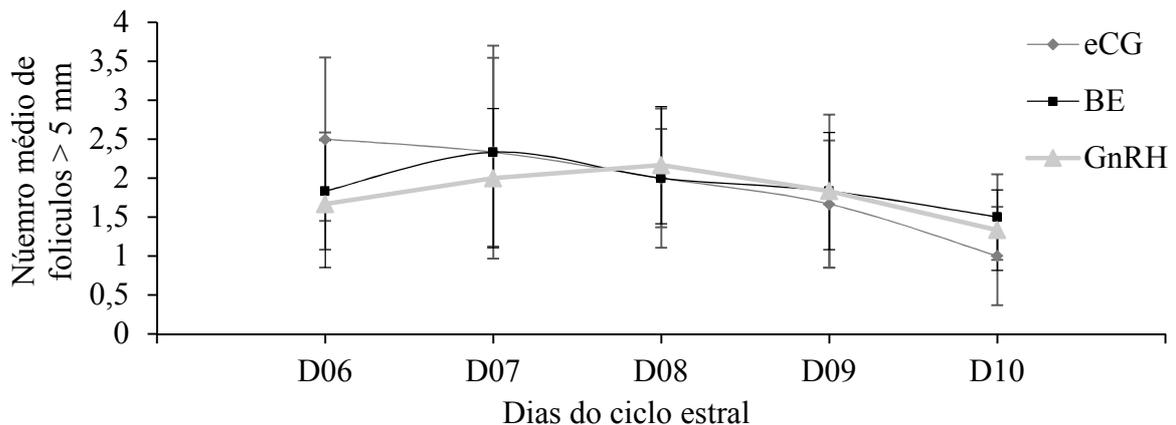


Figura 7. Distribuição das médias (desvio padrão) dos número de folículos maiores que 5 mm na fase de dominancia folicular de três diferentes protocolos de inseminação artificial em tempo fixo, utilizando como indutor da ovulação a Gonadotrofina Corionica equina (eCG), o Benzoato de Estradiol (BE) ou Hormonio regulador de Gonadotrofinas (GnRH), administrados no momento da retirada do implante de progesterona, ou apos 24 e 36 horas de sua retirada, respectivamente.

Este mecanismo de controle do crescimento folicular é intrínseco do próprio folículo dominante, pois ao atingir um maior tamanho, ou seja, divergir dos demais com relação a sua taxa de crescimento, passa a produzir inibina, hormônio este que interfere na liberação de FSH, levando a falta de estímulo para os menores folículos. Porém, por ter uma maior quantidade de receptores o dominante continua a crescer, mesmo com pequenas taxas de FSH (MACEDO, 2016).

Com relação ao tamanho folicular não foi observado diferença entre os grupos nas fases previas a ovulação ($p>0,05$). Alteração essa que poderia ocorrer no grupo eCG, nos últimos dias dinâmica, visto que este tem ação tanto de FSH quanto de LH, levando assim a uma estimulação do crescimento e da ovulação (MELLHO et al., 2014). Porém, até o momento do D8, essa alteração não poderia ocorrer, pela mesma explicação descrita para o número de folículos, demonstrando assim uma padronização dos grupos (figura 8)

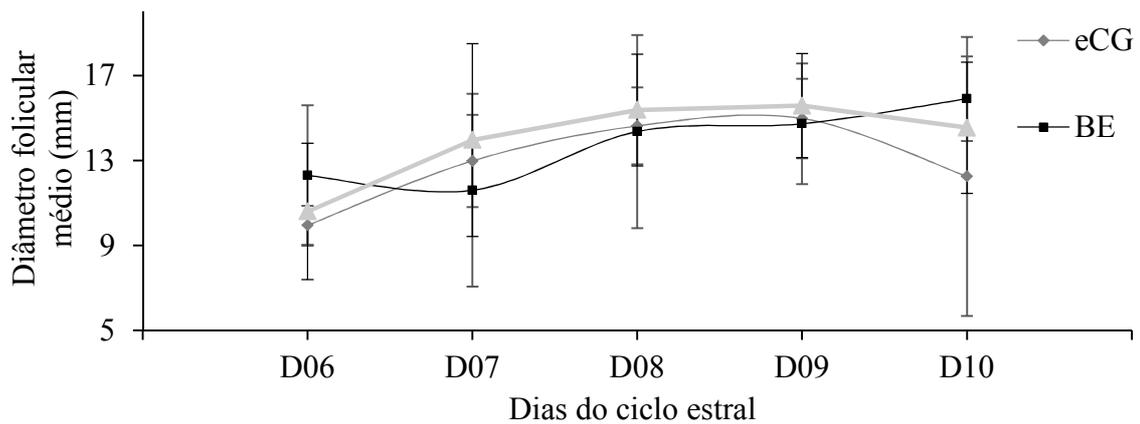


Figura 8. Distribuição das médias (desvio padrão) dos diâmetros foliculares, em milímetros, na fase de dominância folicular de três diferentes protocolos de inseminação artificial em tempo fixo, utilizando como indutor da ovulação a Gonadotrofina Corionica equina (eCG), o Benzoato de Estradiol (BE) ou Hormonio regulador de Gonadotrofinas (GnRH), administrados no momento da retirada do implante de progesterona, ou após 24 e 36 horas de sua retirada, respectivamente.

Observando a curva de crescimento folicular podemos ainda verificar um padrão em seus desenvolvimentos, fato esperado para tal fase da onda folicular, visto que os folículos dominantes necessitam manter seu crescimento até atingirem a ovulação, sobre estímulo do FSH e do LH. A descrição desta dinâmica é mencionada da mesma forma por Hafez & Hafez (2004).

Sabendo da atuação potencializadora do eCG é que se utilizada este em casos de animais com deficiências hormonais, devido a falhas nutricionais, alta produção ou em período pós parto (MELLO et al., 2014), e como não observamos diferenças pode inferir que os animais tratados estavam em boas condições e sendo assim não foram observadas diferenças estatísticas entre os grupos, mesmo com diferença numérica. Outra hipótese seria o pouco tempo entre a administração e o momento da ovulação, não sendo suficiente para atingir um crescimento divergente dos demais grupos.

Seguindo para as avaliações após a indução da ovulação, observamos resultados semelhantes entre os grupos, descritos na tabela 1. Dentre estes podemos destacar a porcentagem de animais prenhes 30 dias após a inseminação, visto que o grupo GnRH se apresentou com nenhuma gestação, sendo estatisticamente diferente do grupo eCG no modo B. Porém ao ser feito o diagnóstico gestacional com o Doppler, não foi vista diferença entre os grupos. Tendo este diagnosticado dois animais a mais como gestantes, ambos no grupo GnRH. Destes um foi observado eliminando conteúdo gestacional pela vulva, entre os dois exames, levando assim a apenas um animal com diagnóstico diferente de prenhez quando realizado o Doppler.

Tabela 1: Médias (\pm desvio padrão) dos números de folículos maiores que 5 mm avaliados no dia da Inseminação Artificial (IA), do número de Corpos Lúteos observados 24 horas após a IA e porcentagem das taxas de ovulação simples e duplas, prenhes avaliadas com o ultrassom modo Doppler 20 dias após a IA e com ultrassom Modo B como mais 10 dias, das prenhes gemelar e da taxa de fertilização de três diferentes protocolos de IA em tempo fixo, utilizando como indutor da ovulação a Gonadotrofina Coriônica equina (eCG), o Benzoato de Estradiol (BE) ou Hormônio regulador de Gonadotrofinas (GnRH), administrados no momento da retirada do implante de progesterona, ou após 24 e 36 horas de sua retirada, respectivamente.

	Grupo		
	G1 (Ecg)	G2 (BE)	G3 (GnRH)
Número de folículos > 5 mm no dia da IA	1,00 (\pm 0,63) ^a	1,50 (\pm 0,55) ^a	1,33 (\pm 0,52) ^a
Número de Corpos Lúteos 24 horas após IA	1,17 (\pm 0,41) ^a	1,33 (\pm 0,52) ^a	1,17 (\pm 0,41) ^a
Taxa de Ovulação (%)	100(\pm 00,0) ^a	91,7(\pm 20,4) ^a	100(\pm 0,55) ^a
Taxa de Duplas Ovulações (%)	16,7 (\pm 40,8) ^a	33,3 (\pm 51,6) ^a	16,7 (\pm 40,8) ^a
Prenhes observadas ao D30 – Doppler(%)	83,3 (\pm 40,8) ^a	50,0 (\pm 54,8) ^a	33,3 (\pm 51,6) ^a
Prenhes observadas ao D40 – Modo B (%)	83,3 (\pm 40,8) ^a	50,0 (\pm 54,8) ^{ab}	0,0 (\pm 0,0) ^b
Taxa de Prenhes Gemelar (%)	16,7 (\pm 40,8) ^a	16,7 (\pm 40,8) ^a	0,0 (\pm 0,0) ^a
Taxa de Fertilização estimada	75,0(\pm 41,8) ^a	33,3(\pm 40,8) ^a	33,3(\pm 51,6) ^a

^{ab}Letras diferentes nas linhas representam diferença estatística entre os grupos.

Diante disto podemos afirmar a precisão do diagnóstico gestacional precoce realizado pelo método de avaliação da vascularização periférica e central do corpo lúteo CL de maneira que não podemos afirmar ou negar que o outro animal tenha vindo a perder sua gestação entre os dois diagnósticos, concordando assim com o descrito por Pugliesi et al. (2017), que descreve a técnica como sendo de alta acurácia quando sendo realizada entre 20 a 22 dias após a inseminação, descrevendo com tendo 90 a 95% de confiança, quando comparado com outros métodos, mesmo sendo uma análise subjetiva.

Esta técnica é vantajosa por antecipar em 10 dias o diagnóstico gestacional, o que leva a uma redução de 24 dias para uma nova inseminação, visto que pode ser realizada uma aplicação de prostaglandina e com 48 horas realizada uma nova indução folicular, conforme descrito por Pugliesi et al., (2017).

Observando ainda a presença de corpos lúteos e de duplas ovulações notamos não haver relação com o indutor da ovulação utilizado e sim com o comportamento da dinâmica folicular das vacas. Pois é descrito que para gado de corte o diâmetro folicular pré ovulatorio e de 8 mm e para gado de leite 12 mm, em média (PEREIRA, 2013), e que quando na presença de um folículo maior que 12 mm, no momento da indução, os animais chegam a ovular.

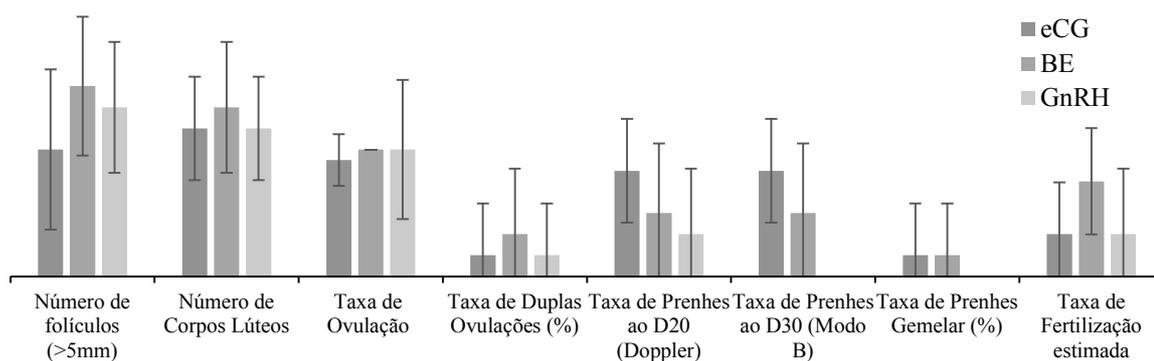


Figura 9. Representação das médias (\pm desvio padrão) dos números de folículos maiores que 5 mm avaliados no dia da Inseminação Artificial (IA), do número de Corpos Lúteos observados 24 horas após a IA e porcentagem das taxas de prenhes avaliadas com o ultrassom modo Doppler 20 dias após a IA e com ultrassom Modo B como mais 10 dias, das taxas de ovulações duplas e prenhes gemelar de três diferentes protocolos de IA em tempo fixo, utilizando como indutor da ovulação a Gonadotrofina Corionica equina (eCG), o Benzoato de Estradiol (BE) ou Hormônio regulador de Gonadotrofinas (GnRH), administrados no momento da retirada do implante de progesterona, ou após 24 e 36 horas de sua retirada, respectivamente.

Os demais resultados, observados também na figura 10, demonstram não haver diferença quando da utilização dos três tratamentos, mostrando-se todos viáveis para realização da IATF, nestas condições de manejo. Sendo assim recomendado utilizar o mais econômico, quando os animais se encontram em bom escore de condição corporal, concordando com Martins (2016). Pois nesta situação a utilização do eCG é contra indicada por ampliar os custos.

Porém caso encontrássemos animais com baixo escore corporal o ideal seria a utilização de GnRH, que depende do animal em apenas um eixo, ou seja na estimulação da hipófise para liberação de LH MACEDO (2016). E ainda em casos mais graves seria necessário a utilização do eCG, que atua diretamente no folículo ovulatorio, não dependendo de hormônios endógenos para levar a ovulação MELLO (2017). Visto que o BE atua estimulando o hipotálamo a liberar GnRH o qual irar atuar na hipófise, sendo assim

necessitando mais bruscamente da produção e liberação hormonal endógena BISCARDE (2010)

Diante disto reforça-se a importância de uma minuciosa avaliação reprodutiva e nutricional para a escolha correta do tratamento hormonal, minimizando, os custos e potencializando resultados que quando somados as técnicas que reduzam o tempo gasta na detecção dos objetivos, levam a amplificação dos índices reprodutivos.

5 CONCLUSÃO

A implementação de tratamentos hormonais mais específicos, para induzir a ovulação, se mostram desnecessários quando os animais se encontram em boas condições de manejo reprodutivo e nutricional. Sendo o diagnóstico gestacional precoce pela avaliação da vascularização luteínica eficiente e preciso de maneira que quando vier a ser aplicada na rotina reprodutiva irá levar a redução do período de intervalos entre partos.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, I. C. et al. Taxa de prenhes em vacas de leite após uso de protocolos hormonais de inseminação artificial em tempo fixo. Universidade Federal do Espírito Santo; Alegre - ES. **Revista Brasileira Clínica Veterinária**. v. 23, n. 1-2, p. 99-103,. 2016.

ANTONIOLLI, C.B. Desenvolvimento folicular, ondas foliculares e manipulação. **Seminário de Endocrinologia da Reprodução**. Universidade Federal Rio Grande do Sul - RS., 2002.

BALDE BRANCO- **Alguns números do leite**. [Internet]. Acessado em: 20 de Maio de 2017. Disponível em: <http://www.baldebranco.com.br/alguns-numeros-do-leite/>.

BARUSELLI, P. S. Importância do emprego da eCG em protocolos de sincronização para IA, TE e SOV em tempo fixo. **Biociência da Reprodução em Bovinos (3 Simpósio internacional de Reprodução Animal Aplicada)**. Departamento de Reprodução Animal, FMVZ-USP, São Paulo-SP, 2008.

BEEFPOINT: **IBGE: rebanho de bovinos tinha 218,23 milhões de cabeça em 2016**. [Internet]. Acessado em: 01 de outubro de 2017. Disponível em: <<http://www.beefpoint.com.br/ibge-rebanho-de-bovinos-tinha-21823-milhoes-de-cabecas-em-2016/>>

BISCARDE. C. E. A. **Efeito do benzoato de estradiol e/ ou GnRh na função ovariana**. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) Universidade Estadual de São Paulo. São Paulo- SP. 2010

CÂMARA, D. R; FIGUEIRA, R. F; PORTELA, O. C. et al. Efeito de diferentes protocolos hormonais sobre a taxa de prenhez de vacas nelore inseminadas em tempo fixo. **Ciência veterinária trópicos**., Recife-PE, v. 9, p. 74 - 78, 2006.

CREMA, B. **IATF – Inseminação Artificial em Tempo Fixo**. Universidade Tuiuti do Paraná Núcleo de Ciências biológicas e da saúde. Curitiba- PR, 2012.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema Brasileiro de Classificação de 23 Solos**. Brasília: EMBRAPA, 2010, 412p.

FEITOSA, F. L. F. **Semiologia Veterinária: a arte do diagnóstico**. 3. ed – São Paulo: Roca, p., 2014.

FURTADO, D. A; TOZZETTI, D.S; AVANZA, M. F. B et al. Inseminação artificial em tempo fixo em bovino de corte. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**. Ano IX – Número 16 – Janeiro de 2011.

INFORZATO, G. R; SANTOS, W. R. M; CLIMENI, B. S. O; DELLALIBERA, F. L; FILADELPHO, A. L. Emprego de IATF (Inseminação Artificial em Tempo Fixo) como alternativa na reprodução da pecuária. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, Ano VI – Número 11 – Julho de 2008.

GREGORY, W.J. **Fisiopatologia do anestro pós- parto em bovinos de corte**. Trabalho de Conclusão de Curso para Graduação do curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Sul. Porto Alegre - RS, 2009.

GONSALVÉS, P. B. D.G; FIGUEIREDO, J. R; FREITAS, V.J.F. **Biotécnicas aplicada á reprodução animal**. São Paulo. 2 edição, 395p, 2008.

HAFEZ & HAFEZ. **Reprodução animal**. Barueri- SP. 7 edição, 2004.

GREGORY, W. J. **Fisiopatologia do anestro pós- parto em bovinos de corte**. Trabalho de Conclusão de Curso para Graduação do curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Sul. Porto Alegre - RS, 2009.

MADILLA-OLIVEIRA, A.F., QUIRINO, C.R; PACHECO, A et al. Principais hormônios que controlam o comportamento reprodutivo e social das fêmeas ruminantes – Revisão. **PUBVET**, Londrina, V.8, N. 3, Ed. 252, Art. 1668, Fevereiro, 2014.

MACEDO, P.M. **Relação entre taxa de prenhez, categoria e escore corporal de bovinos submetidos á inseminação artificial em tempo fixo (IATF)**. Trabalho de Conclusão de Curso para Graduação do curso de Medicina Veterinária, da Faculdade de Ciências Biológicas e da Saúde. Universidade Tuiuti do Paraná, Curitiba, 2016.

MARTINS, L. L. **Inseminação Artificial em Tempo Fixo em Gado Leiteiro**: Revisão de Literatura. Trabalho de Conclusão de Curso para Graduação do curso de Medicina Veterinária, da Faculdade de Ciências Biológicas e da Saúde. Universidade Tuiuti do Paraná, Curitiba, - PA, 2016.

MELLHO, R. R. C; FERREIRA, M. R. B; PALHANO, H.P et al. Utilização da gonatrofina coriônica eqüina (eCG) em protocolo de sincronização da ovulação para IATF em bovino. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.38, n.3, p.129-134, 2014.

MEDEIRO, A. C. R. L. Aplicação da ultrassonografia Doppler na reprodução de bovinos. Revisão Literária apresentada para a conclusão do curso de graduação em Medicina Veterinária da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília. 2016.

OLIVEIRA, M. S; TIBURCIO, M; FERREIRA, S. G.C. Influencia do estresse térmico sobre a reprodução de bovinos de corte. **VI Mostra Interna de Trabalhos de Iniciação Científica**. 2008.

OLIVEIRA, B. M. M. **Hemodinâmica uterina avaliação por ultrassom Doppler colorido e taxa de fertilidade de vacas submetida á IATF com sêmen analisado por sonda fluorescentes**. Dissertação apresentada para a obtenção do título de mestrado. Faculdade de Medicina Veterinária e zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

PANSANI, M. A; BELTRAN, M.P. Anatomia e fisiologia do aparelho reprodutivo de fêmeas bovinas. **Revista científica eletrônica de medicina veterinária**, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Garça – FAMED/FAEF., Número 12 – Janeiro de 2009.

PEREIRA, M. A et al. Parâmetro da fisiologia reprodutiva e utilização de hormônio na sincronização do estro em vacas leiteiras. **Revista Ve Z em Minas - Abr./Mai./Jun.** 2013.

PEREIRA, V.C. **Inseminação artificial e sincronização do cio em bovinos**. Trabalho de Conclusão de Curso para Graduação do curso de Medicina Veterinária. Faculdade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegri –RS., 2009.

PEGORARO, L. M; SAALFELD, M.H; PRADIEÉ, J. Inseminação Artificial em Bovino. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**. Documento 412, setembro de 2016.

PUGLIESI, G; REZENDE, R.G; SILVA, J. C. B et al., Uso da ultrassonografia Doppler em programas de IATF e TETF em bovinos. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.41, n.1, p.140-150. 2017.

ROCHA, J.M; RABELO. M.C et al. 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, 2007.

SANTOS, M.D; TOMAS C. D. M; FREITAS, S.H., et al. Taxa de gestação e formação de corpos lúteo acessório em novilhas nelore tratada com hCG após a inseminação artificial em tempo fixo. **Acta Veterinária Brasília**, v.8, n.4, p.231-235, 2014.

SANTOS, E.S. **Efeito das características morfológicas e da dinâmica vascular dos folículos e corpo lúteo sobre a fertilidade de vacas de corte submetida á protocolo de sincronização do estro e ovulação**. Universidade de são Paulo – SP, 2013.

SILVEIRA, A. P. **Uso de protocolo de IATF para aumentar a eficiência reprodutiva de gado de corte**. Dissertação apresentada para a obtenção do titulo de mestrado. Universidade do Oeste Paulista. Presidente Prudente - SP, 2010.

SIMÕES, R. A. **Eficiência reprodutiva em vacas mestiças leiteiras em município do nordeste paraense**. Dissertação apresentada para a obtenção do titulo de mestrado. Universidade Federal do Pará; Núcleo de Ciência Agrária e Desenvolvimento Rural, Bélen – PA, P, 10., 2010.