

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DO SÊMEN E HORÁRIO DE
INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL A TEMPO FIXO
SOBRE A TAXA DE PREENHEZ EM FÊMEAS BOVINAS DE CORTE**

DIMAS CORRÊA ROCHA

PORTO ALEGRE

2007

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

**EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DO SÊMEN E HORÁRIO DE
INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL A TEMPO FIXO
SOBRE A TAXA DE PREENHEZ EM FÊMEAS BOVINAS DE CORTE**

Autor: Dimas Corrêa Rocha

Dissertação apresentada como requisito parcial
para a obtenção do Grau de Mestre em Ciências
Veterinárias na área de Reprodução Animal

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Macedo Gregory

PORTO ALEGRE

2007

Dimas Corrêa Rocha

**EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DO SÊMEN E HORÁRIO DE
INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL A TEMPO FIXO
SOBRE A TAXA DE PREENHEZ EM FÊMEAS BOVINAS DE CORTE**

Aprovada em

APROVADO POR:

Prof. Dr. Ricardo Macedo Gregory
Orientador e Presidente da Comissão

Prof^ª. Dra. Mari Lourdes Bernardi
Membro da Comissão

Prof. Dr. Pietro Sampaio Baruselli
Membro da Comissão

Prof. Dr. Rodrigo Costa Mattos
Membro da Comissão

AGRADECIMENTOS

Os agradecimentos iniciais são ao amigo e orientador Prof. Dr. Ricardo Macedo Gregory pelo apoio, confiança, incentivo, ensinamentos e pela oportunidade dada para a realização deste trabalho.

Agradeço aos meus pais, Rosangela e João Marcos Rocha, pelo apoio incondicional em todos os momentos de minha vida.

Às minhas irmãs, Deise, Joana e Joice, agradeço pelo carinho e incentivo.

À minha noiva, Bianca do Prado Lima Petrucci, muito obrigado pelo amor, carinho, parceria de trabalho e por tudo que hoje nos faz felizes.

Ao REPROLAB, em especial ao Prof. Rodrigo Costa Mattos, bolsistas e estagiários agradeço pelo apoio nos experimentos e pelos bons momentos nestes últimos anos.

Aos Médicos Veterinários: Dra. Susana Macedo Salvador, Neimar Severo, Diego Azeredo, Fábio Schuler Medeiros e Fábio Barreto, agradeço pelo apoio, confiança e amizade.

À família Macedo Cuervo, Estância do Cuentrilho, agradeço pela confiança, profissionalismo e amizade sempre presentes.

Aos grandes amigos e colegas, Fernando Furtado Velloso e Luiz Walter Leal Ribeiro, pela amizade, força, torcida e por muitos conhecimentos compartilhados.

Aos dois parceiros de ciência, lidas e gauchadas, Andrei Beskow e Luiz Diego Cardozo, agradeço pelo apoio, compreensão e grande amizade.

Aos meus amigos de sempre que, de longe ou de perto, torcem por mim e eu por eles.

Agradeço a em especial a UFRGS e CAPES por me darem o devido suporte para a realização deste sonho.

“A pratica da inseminação artificial requer um cabedal de conhecimentos e capacidade técnica que significam domínio da anatomia, fisiologia e patologia, particularmente com referência à esfera genital, bem como preceitos de higiene, de profilaxia das doenças infecciosas e de política sanitária”.

(Prof. Grassi)

RESUMO

EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DO SÊMEN E HORÁRIO DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL A TEMPO FIXO SOBRE A TAXA DE PREENHEZ EM FÊMEAS BOVINAS DE CORTE

Dissertação de Mestrado

Autor: Dimas Corrêa Rocha

Orientador: Ricardo Macedo Gregory

Em experimento conduzido com o objetivo de avaliar os efeitos da concentração da dose de sêmen e o horário da inseminação artificial a tempo pré-fixado, foram utilizadas 516 fêmeas bovinas. Os animais, das raças Aberdeen Angus (*Bos taurus*) e Braford (*Bos taurus* 5/8 x *Bos indicus* 3/8) eram constituídos de 270 novilhas e 246 vacas multíparas. Os animais foram submetidos a um protocolo de sincronização de estros e ovulação através de implante vaginal contendo 250 mg de Acetato de Medroxiprogesterona (MAP) associado a duas aplicações de Benzoato de Estradiol (BE), sendo a primeira de 2 mg IM por ocasião da inserção do implante e a segunda de 1 mg IM vinte e quatro horas após a retirada do mesmo. Quando da remoção do implante foram administrados 500 mcg de Cloprostenol Sódico. As inseminações foram efetuadas às 48, 54 ou 60 horas após a retirada do implante, utilizando para cada momento duas concentrações distintas de espermatozóides viáveis, 10 e 20 milhões por dose. Verificou-se que as fêmeas (em especial as novilhas) inseminadas às 48 horas com 20 milhões de sptz/dose apresentaram índice de prenhez significativamente maior do que as inseminadas no mesmo momento com 10 milhões sptz/dose. As vacas inseminadas com 10 milhões de sptz às 60h apresentaram melhor taxa de prenhez ($p < 0,05$) quando comparadas às inseminadas com 10 milhões de sptz às 48h. O percentual de prenhez encontrado nas vacas foi significativamente maior que o das novilhas, assim como o verificado nas fêmeas Aberdeen Angus, comparadas às Braford. A taxa de prenhez de novilhas inseminadas a tempo fixo pode ser incrementada utilizando-se maior número de espermatozóides viáveis por dose inseminante.

Palavras chave: fêmeas bovinas de corte, inseminação artificial a tempo fixo e concentração espermática.

ABSTRACT

EFFECT OF SEMEN CONCENTRATION AND MOMENT OF FIXED TIMED INSEMINATION ON PREGNANCY RESULTS IN BEEF CATTLE FEMALES

Master of Science Dissertation

Author: Dimas Corrêa Rocha

Adviser: Ricardo Macedo Gregory

*The objective of this study was to analyse the effects of semen concentration and moment of fixed timed insemination on pregnancy rates in 516 beef cattle females of the Aberdeen Angus (*Bos taurus*) and Braford (*Bos taurus* 5/8 x *Bos indicus* 3/8) breeds. The females were constituted of 270 heifers and 246 multiparous cows. The animals were all submitted to a synchronization program consisting of vaginal implants of 250mg of medroxiprogesterone acetate (MPA) associated to application of 2mg IM of estradiol benzoate (EB). After 7 days the implants were removed and 500 mg of cloprostenol were injected at the time. After 24hs of implant removal 1mg IM of EB was injected. The inseminations were done 48, 54 and 60 hours after the removal of the implants and semen with 10 and 20 million viable spermatozoa per dosis was used. The females (specially the heifers) of the group inseminated 48 hours after implant removal and using semen with 20 million viable sptz showed a significant higher percentage of pregnancy than the inseminated 48 hours using 10 million viable sptz. The cows inseminated at 60 hours with 10 million sptz showed higher pregnancy rates ($p < 0,05$) than cows inseminated at 48 hours with 10 million sptz. The total pregnancy rate achieved on the cows was significantly higher than on the heifers. The females of the A. Angus group had higher pregnancy rates than the females of the Braford breed. The pregnancy rate of heifers fixed-timed inseminated can be increased using a higher semen concentration.*

Key words: beef cattle females, fixed-time artificial insemination and semen concentration.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1: Protocolo de sincronização de estros para IATF.....	35
FIGURA 2: Percentual de prenhez de novilhas e vacas por grupo experimental horário de inseminação artificial.....	40
FIGURA 3: Percentual de prenhez de novilhas e vacas por raça.....	41

LISTA DE TABELAS

TABELA 1: Percentual de prenhez de fêmeas por grupo experimental horário de inseminação artificial e concentração da dose de sêmen.....	38
TABELA 2: Percentual de prenhez por grupo experimental horário de inseminação artificial.....	38
TABELA 3: Percentual de prenhez por grupo experimental concentração da dose de sêmen.....	39
TABELA 4: Percentual de prenhez de novilhas e vacas por grupo experimental horário de inseminação artificial e concentração da dose de sêmen.....	39
TABELA 5: Percentual de prenhez de novilhas e vacas por grupo experimental concentração da dose de sêmen.....	40
TABELA 6: Percentual de prenhez por categoria animal vacas e novilhas.....	41

LISTA DE ABREVIATURAS

BE	benzoato de estradiol
CC	condição corporal
CIDR	Controlled Intravaginal Drug Release
CL	corpo lúteo
E2	estradiol
E-17 β	estradiol natural
eCG	gonadotrofina coriônica eqüina
FSH	hormônio folículo-estimulante
GnRH	hormônio liberador de gonadotrofina
h	hora
IA	inseminação artificial
IM	intramuscular
IATF	inseminação artificial a tempo fixo
kg	quilograma
LH	hormônio luteinizante
MAP	Acetato de Medroxiprogesterona
mcg	microgramas
mg	miligramas
MHz	megahertz
mL	mililitro
mm	milímetro
MOV	momento ovulatório
P4	progesterona
RS	Rio Grande do Sul
sptz	espermatozóides
TE	transferência de embrião
VE	valerato de estradiol

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
2.1 Ciclo estral	15
2.2 Histórico da sincronização	16
2.3 Sincronização de estros e inseminação artificial a tempo fixo	18
2.4 Fatores que afetam os resultados da IATF	22
2.5 Fatores relacionados ao sêmen	26
3 ARTIGO: Efeito da concentração do sêmen e horário de inseminação artificial a tempo fixo sobre a taxa de prenhez em fêmeas bovinas de corte	29
4 CONCLUSÕES	48
REFERÊNCIAS	49

1 INTRODUÇÃO

As limitações territoriais para a expansão das fronteiras agrícolas, reduzindo as áreas para exploração com a bovinocultura de corte, exigem um incremento na produtividade da pecuária, especialmente através do aumento da eficiência dos animais do rebanho.

O Brasil tem o maior rebanho bovino comercial do mundo e se consolida como o maior exportador mundial de carne. Segundo dados do ANUALPEC (2003), o Rio Grande do Sul possui 13,1 milhões de bovinos, sendo 5,4 milhões de fêmeas em idade de reprodução. Destas, uma parcela reduzida é inseminada. Dados recentes mostram que apenas 1,2% das múltiparas e 9,4% das novilhas. A inseminação artificial (IA) é utilizada por cerca de 25% dos criadores, tanto em vacas múltiparas como na primeira cobertura das novilhas (UFRGS.IEPE, 2005).

Alguns fatores parecem colaborar para este quadro: o desconhecimento dos benefícios da IA, os relativos altos custos dos preparados hormonais, pouco conhecimento por boa parte dos técnicos dos mecanismos fisiológicos endócrinos que regem a função reprodutiva da vaca e nível nutricional do rebanho.

Na busca de ferramentas capazes de melhorar índices reprodutivos de animais de produção, uma série de técnicas vêm sendo testadas e aperfeiçoadas.

O processo de seleção genética na espécie bovina geralmente está baseado no desempenho produtivo dos animais. Assim, após a identificação dos indivíduos superiores, o ideal seria a sua multiplicação em larga escala.

A Inseminação Artificial (IA), desde a década de 1940 e posteriormente a Transferência de Embriões (TE), tiveram e tem um papel fundamental nos programas de seleção animal.

A inseminação artificial se consagrou mundialmente e provou ser uma técnica viável para acelerar o avanço genético e o retorno econômico da bovinocultura. Entretanto, a percentagem dos rebanhos bovinos incluída nestes esquemas mundialmente continua sendo baixa. Entre as principais limitações para o emprego da inseminação artificial podemos ressaltar fatores como falhas na detecção de cios, anestro pós-parto e puberdade tardia. Em todo o mundo existem relatos que indicam a baixa taxa de serviços em bovinos, principalmente devido a comprometimentos na eficiência da detecção de estros. Este problema é maior em rebanhos "*Bos indicus*" ou suas cruzas devido às particularidades no comportamento reprodutivo, como cio de

curta duração com elevada porcentagem de manifestação noturna (BARUSELLI & MARQUES, 2002; BÓ *et al.*, 2003a). A dificuldade na correta detecção de estros passou a ser contornada a partir da utilização de protocolos de inseminação artificial a tempo fixo sem detecção de cio.

Durante os últimos anos foi produzido um grande avanço no desenvolvimento de programas de inseminação artificial a tempo fixo (IATF), o qual incrementou notavelmente a quantidade de animais incluídos nestes programas (BÓ *et al.*, 2005; BARUSELLI *et al.*, 2003a).

Dados de análises de resultados de programas de IATF indicam que é possível obter porcentagens de prenhez médias de 50% à primeira inseminação, tanto em vacas com cria ao pé como em novilhas “*Bos taurus*” de dois anos de idade (CUTAIA *et al.*, 2003a).

O aperfeiçoamento da técnica de IATF é de fundamental importância, uma vez que é uma das alternativas para aumentar o número de ventres inseminados, promovendo o melhoramento genético.

Além disso, o procedimento tem a grande vantagem de possibilitar a inseminação artificial de vacas com cria, categoria esta com maior representatividade na composição de um rebanho produtivo.

O objetivo deste experimento foi avaliar o efeito da concentração da dose inseminante e o horário da inseminação artificial sobre a taxa de prenhez em fêmeas bovinas de corte submetidas a um protocolo de inseminação artificial a tempo fixo.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Ciclo estral

O bom entendimento da fisiologia do ciclo estral da fêmea bovina é fundamental para o profissional que deseja trabalhar com reprodução assistida.

A vaca é um animal poliéstrico anual com ciclos estrais com duração de 17 a 23 dias (média de 21 dias). Pimentel (2002) cita que durante o ciclo estral em vacas, ocorrem modificações na morfologia do trato genital e nas concentrações hormonais (hormônio folículo estimulante-FSH, hormônio luteinizante-LH, estradiol-E2 e progesterona-P4).

O período entre dois estros consecutivos é denominado ciclo estral e pode ser dividido em duas fases principais: folicular e luteal. A fase folicular tem início após a luteólise promovida pela PGF2alfa, com conseqüente queda nos níveis sanguíneos de progesterona ($< 1\text{ng/ml}$) entre 12 e 36 horas após o início da regressão do corpo lúteo (CL), seja ela natural ou induzida (DIELEMAN *et al.*, 1986).

Com a aproximação do estro, o folículo pré-ovulatório cresce e aumenta a sua produção de estradiol. Quando atinge um tamanho máximo (15 a 20 mm de diâmetro) o E2 circulante aumenta, induzindo o estro e determinando a liberação de LH cíclico, que vai induzir a ovulação entre 24 e 36 horas. Após a ovulação, segundo Hunter (1971) o período de viabilidade do óvulo é de 10 a 12 hs na vaca.

Segundo Galina *et al.* (1996) e Pinheiro *et al.* (1998) os rebanhos “*Bos indicus*” apresentam estro com curta duração e com elevado percentual de manifestações estrais durante o período da noite, o que na prática dificulta a detecção de cio com conseqüente diminuição na taxa de ventres inseminados.

Utilizando o sistema denominado Heat-Watch para detectar o estro e a ultrasonografia para observar a ovulação, Misuta (2003) confirmou o intervalo entre início do estro e ovulação em vacas nelore ($27,1 \pm 3,3\text{h}$), Nelore x Angus ($25,7 \pm 7,6\text{h}$) e Angus ($26,1 \pm 6,3\text{h}$). Quanto à duração do estro, este mesmo trabalho demonstrou que o estro das vacas Nelore (*Bos indicus*) e Nelore x Angus (*Bos taurus* x *Bos indicus*) tem duração semelhante ($\pm 12\text{h}$), porém quando comparadas ao das vacas Angus (*Bos taurus*) tem cerca de 4 horas a menos.

Castellanos *et al.* (1997) com o objetivo de avaliar a manifestação estral de vacas (n=40) e novilhas (n=10) de leite (*Bos taurus*), controlaram seis ciclos

consecutivos induzidos a cada 11 dias através da aplicação de PGF2alfa. As vacas apresentaram um estro mais curto 17.6 ± 1.96 h vs. 20.6 ± 2.54 h nas novilhas. Salienta também que o comportamento reprodutivo é mais consistente nas vacas.

As quantidades crescentes de estradiol secretadas pelos folículos ovarianos induzem o estro e, através de retroalimentação positiva no eixo hipotálamo/hipófise, um pico de LH, o qual leva à ovulação e à formação do corpo lúteo (CL). A presença do CL caracteriza a fase lútea do ciclo estral. Nesta fase, o CL produz progesterona em quantidades crescentes do 4º ao 10º dia do ciclo estral, se mantendo estável até que ocorra a luteólise entre o 15º e o 20º dia (HAFEZ, 1993).

Os folículos terciários com diâmetro maior de 3 mm respondem ao estímulo gonadotrófico (FSH) e levam cerca de uma semana para atingir o tamanho ovulatório. Embora alguns folículos sofram atresia folicular durante esta fase de crescimento, a maior parte da atresia ocorre no final desse período, quando um folículo dominante é selecionado a partir de um grupo de uma onda folicular (PIMENTEL, 2002).

Segundo Driancourt (2001), a onda de crescimento folicular é caracterizada por três eventos importantes: o recrutamento, onde somente os folículos dependentes de gonadotrofina ingressam na onda de crescimento; seleção, quando os subordinados entrarão em atresia e, na dependência dos níveis de LH, o folículo dominante tornara-se-á atrésico ou seguirá crescendo até a ovulação.

Os tamanhos dos folículos, conforme Wiltbank *et al.* (2002), durante os estágios finais de cada fase de crescimento folicular são respectivamente: emergência (~4 mm), seleção (~9 mm) e ovulação (de 10 a 20mm).

O conceito clássico de uma única onda de crescimento folicular foi substituído, pela interpretação de Rajakoski (1961 *apud* MIES FILHO, 1987), que demonstrou a existência de duas ondas de maturação folicular. Na ocasião, esclareceu que além da onda que leva à ovulação e que determina o cio fértil, uma outra ocorre aproximadamente aos 10-12 dias depois do cio verdadeiro que, entretanto, resulta em atresia folicular.

O crescimento folicular em bovinos se dá segundo o padrão de ondas. Estas ondas foliculares acontecem a cada 10 dias (entre 6 e 15 dias). Os ciclos estrais podem ser de 2 ou 3 ondas foliculares que são dependentes de estímulos de FSH que precedem cada onda. Segundo Ginther *et al.* (1989), a duração do ciclo estral é variável conforme a dinâmica folicular: ciclos com duas ondas foliculares costumam apresentar duração ao redor de 20 dias e ciclos com três ondas ao redor de 23 dias.

Os animais “*Bos indicus*” apresentam freqüentemente quatro ondas foliculares por ciclo estral (BÓ *et al*, 2003a), e ainda apresentam folículo dominante e corpo lúteo menores quando comparados aos “*Bos taurus*”.

Com relação ao tamanho folicular, Pimentel (2002) dividiu o seu crescimento em 4 fases: 1 = folículo < 3 mm de diâmetro – independente de gonadotrofina, 2 = folículo de 3 a 10 mm dependente de FSH, 3 = folículo de 10 mm até o tamanho pré-ovulatório – dependente de secreção pulsátil de LH e 4 = folículo do tamanho pré-ovulatório até a ovulação – dependente do pico de LH.

2.2 Histórico da sincronização de estro

O desenvolvimento de métodos de sincronização de estros em bovinos com a manipulação do ciclo estral que permitam a utilização de forma eficiente da Inseminação Artificial, há tempo se constitui em um desafio para a Medicina Veterinária (GREGORY, 2002).

A primeira proposta referente a um método capaz de manipular o ciclo estral na vaca partiu de Christian & Casida em 1948 que sugeriram a utilização da progesterona com intuito de bloquear a função reprodutiva. A partir da suspensão da medicação boa parte dos animais apresentavam sintomas de estro. Mais tarde, em 1968, Wiltbank & Kasson verificaram que a adição de um estrógeno (Valerato de estradiol), no início do tratamento, através de seu efeito luteolítico, aumentava a incidência de estros nos animais tratados e que permitia a redução do período de bloqueio com progesterona.

Rowson *et al.* (1972) propuseram um protocolo para sincronização de estros em bovinos utilizando a Prostaglandina F2alfa como agente luteolítico. Em 1974, Macmillan *et al.* utilizando álcool benzil, via infusão uterina, em 399 vacas, produziram uma concentração de cio 8 a 13 dias após o tratamento, obtendo uma taxa de concepção nos animais tratados de 59,6% (118/198), semelhante à taxa dos animais não tratados, 59,2% (279/471). A utilização de um potente progestágeno (SC21009) combinado com PGF2alfa, em novilhas, induz uma acentuação na manifestação de cio, demonstrando ser um método prático de sincronização de cio (WISHART, 1974). Gordon *et al.* (1974), trabalhando com novilhas de leite, concluíram que o sistema de duas aplicações de PGF2alfa possui aplicação prática na regulação do ciclo ovulatório de bovinos.

As pesquisas com a sincronização de estros foram conduzidas em duas direções principais, porém ambas interferindo na duração do ciclo estral. O método que compreende a utilização de agentes luteolíticos e que leva a uma antecipação na regressão do corpo lúteo com conseqüente encurtamento do ciclo, e o processo de alongamento da fase lútea com uma simulação do diestro através da administração de progestágenos.

Independente da via de administração, Boyd *et al.* (1973) verificaram que tratamentos com progestágenos por períodos longos (16 dias) resultavam em melhor sincronização de estros, porém com índices de concepção piores à inseminação. Quando o período de tratamento é encurtado (9 dias), obtém-se pior sincronia, todavia com melhores índices de concepção.

Os métodos que preconizam a utilização de gestágenos para a sincronização de estros em bovinos deram lugar, no final da década de 70, segundo Macmillan *et al.* (1978), às prostaglandinas devido a sua eficácia aparentemente maior.

Entretanto, Pursley *et al.* (1997) demonstraram que o momento da manifestação de estros em ciclos induzidos com prostaglandinas apresenta grandes variações. Por este motivo, a detecção de estro faz-se imprescindível quando se pretende adotar a indução de ciclos com ovulação e inseminação artificial.

Em 1987, Mies Filho escreveu: “A possibilidade de controlar a ovulação e, por conseguinte, de conseguir a fecundação a prazo fixo, eis o grande escopo que o homem persegue, no afã de aproveitar de maneira mais intensiva, através do apuro da técnica, as chances oferecidas pela natureza”.

Para programas de inseminação artificial em momentos pré-determinados, deve ser dada a preferência às hormonioterapias que provocam ovulações com maior uniformidade de tempo. Segundo Savio *et al.* (1993), o desenvolvimento folicular normal após a administração de gestágenos só se dá quando for removido o folículo dominante persistente presente durante estes tratamentos.

Visando este objetivo, Bó *et al.* (1995) demonstraram que a administração de estradiol tem ação luteolítica e também estimulante do crescimento de folículos pré-ovulatórios, além de induzir a um pico de LH capaz de luteinizar ou induzir a regressão de folículos presente nos ovários.

2.3 Sincronização de estros e inseminação artificial a tempo fixo

Segundo Patterson *et al.* (2000) a evolução dos métodos para controle do ciclo estral na vaca pode ser ordenada em cinco fases distintas. A primeira compreende todas as investigações no sentido de prolongar a fase lútea através da administração de progesterona exógena. Mais adiante, estes métodos passaram a contar com a associação de estrógenos e gonadotrofinas. A terceira fase está caracterizada pela utilização de prostaglandinas com o intuito de encurtar a fase lútea, ao passo que se poderia caracterizar como quarta fase, aquela em que foram desenvolvidos os métodos com a associação de progestágenos e prostaglandinas. A denominada quinta fase, surgiu em decorrência de estudos recentes das ondas foliculares que mostram que o controle do ciclo estral na vaca requer a manipulação não apenas da duração da fase lútea, mas também do crescimento folicular.

Programas de sincronização utilizando somente PGF2alfa e seus análogos foram e são amplamente utilizados, objetivando o emprego da inseminação artificial em períodos de manejo mais reduzidos.

Em revisão realizada por Baruselli & Marques (2002), encontramos que a administração de PGF2alfa gera elevadas taxas de manifestação de estros em fêmeas européias (*Bos taurus*), ao redor de 70 a 90% (NEVES & OLIVEIRA, 1980). No entanto, em vacas Nelore com corpo lúteo funcional, utilizando duas aplicações de PGF2alfa com intervalo de 11 dias, foi observada baixa manifestação de estros, em geral, menor que 50% (PINHEIRO *et al.*, 1998).

Conhecendo o ciclo estral dos bovinos, teoricamente, duas aplicações de prostaglandina, com intervalos de 11 a 14 dias, provocam o estro em grande proporção das fêmeas cíclicas, enquanto que fêmeas em anestro ou ciclando irregularmente não respondem ao tratamento. A sincronização do estro provocado pela PGF2alfa (dose única) apresenta grande variação no aparecimento do cio e conseqüentemente da ovulação, podendo ser entre 42 a 102 horas (BARUSELLI *et al.*, 2000). Estes resultados indicam que o tratamento com PGF2alfa sincroniza eficientemente o momento da luteólise e não o desenvolvimento do folículo ovulatório. Assim, protocolos que procuram utilizar a inseminação artificial a tempo fixo, apenas com a utilização de prostaglandinas, muitas vezes não têm bons resultados (BARUSELLI & MARQUES, 2002).

O desenvolvimento da técnica de ultrassonografia permitiu a caracterização da dinâmica folicular no bovino (GINTHER *et al.* 1989). A partir da utilização de um análogo de GnRH para alterar a dinâmica folicular foram fornecidas as bases para o desenvolvimento de novos métodos de sincronização da ovulação (THATCHER *et al.* 1989; MACMILLAN & THATCHER, 1991).

A aplicação em estágios aleatórios do ciclo estral de GnRH causa ovulação do folículo dominante e induz a emergência de uma nova onda de crescimento folicular dentro de 2 a 3 dias após o tratamento (THATCHER *et al.*, 1989). Assim, 7 dias mais tarde, a maioria dos animais estará em estágio de desenvolvimento folicular similar no momento da administração de PGF2alfa e, com conseqüente melhora na sincronização do estro (PURSLEY *et al.*, 1995).

A administração de uma segunda dose de GnRH um a dois dias após a PGF2alfa sincroniza o momento da ovulação (PURSLEY *et al.*, 1995), permitindo a inseminação em horário pré-determinado. O GnRH injetado 24 - 48 horas concentra as ovulações dentro de um período de 8 - 12 horas o que permite a realização da IATF 16 a 24 horas após a segunda dose de GnRH. Este protocolo hormonal associando GnRH + PGF2alfa + GnRH que permite a inseminação artificial a tempo fixo, passou a ser conhecido como protocolo “*ovsynch*”.

Barros *et al.* (2000) sugeriu a substituição da segunda dose de GnRH por benzoato de estradiol (BE) como uma forma de reduzir custos. Neste caso, após a luteólise induzida pela PGF2alfa, o BE, por meio de retroalimentação positiva no hipotálamo/hipófise, induz um pico de LH cerca de 40 a 44 horas após sua administração, ou seja, 10 - 12 horas mais tarde do que quando utilizado GnRH. Portanto, os animais devem ser inseminados, sem observação de cio, 30 a 36 horas após aplicação de BE.

Em experimento conduzido por Pursley *et al.* (1998) foram sincronizadas 732 vacas de leite com o protocolo “*ovsynch*” com o objetivo de determinar o momento ótimo para realizar a IA em relação ao horário de aplicação da segunda dose de GnRH. As inseminações foram feitas em cinco horários diferentes, 0h, 8h, 16h, 24h e 32h após a aplicação do GnRH. Qualquer momento entre a 0h e às 24h depois do GnRH resultou em índices de fecundação semelhantes. Quando a IA foi realizada às 32h houve uma diminuição na taxa de prenhez.

A utilização de progestágenos na sincronização de cios de bovinos data dos anos 50, inicialmente sendo administrados por um período de 11 a 14 dias. Posteriormente,

em decorrência de baixos índices de fertilidade após o tratamento, o período de administração passou para 7 a 9 dias, com melhoria da fertilidade. Os principais métodos de administração utilizados para a suplementação com progestágenos são: esponjas intravaginais impregnadas com acetato de medroxiprogesterona (MAP) ou progesterona natural, administração de gestágenos no alimento, implantes subcutâneos com Norgestomet e dispositivos intravaginais de silicone com liberação lenta de progesterona (GREGORY, 2002; MORAES, 2002).

Dentro destes tratamentos, as esponjas intravaginais foram os primeiros dispositivos desenvolvidos. Os resultados, quando se utiliza o MAP ou mesmo progesterona natural, são satisfatórios em termos de sincronização de cio e prenhez ao primeiro serviço (MORAES, 2002).

Rocha *et al.* (2004), com o objetivo de avaliar a taxa de prenhez em vacas de corte com cria sincronizadas com dois tipos de progestágenos, obteve taxa de prenhez de 54,8% (17/31) no grupo CIDR-B® e de 58,4% (31/53) no grupo MAP, não diferindo estatisticamente.

De um modo geral é constatada a manifestação de cio entre 2 e 3 dias após a remoção dos implantes com gestágeno ou dos dispositivos impregnados com progesterona, e fertilidade normal ao primeiro serviço (GREGORY, 2002; MORAES, 2002).

Os protocolos de sincronização associando progestágenos, estradiol e prostaglandina têm possibilitado um avanço no uso da IATF (BÓ *et al.* 2003b).

A associação de estrógenos a dispositivos que liberam progesterona, promove atresia do folículo dominante e induz a emergência de uma nova onda de crescimento folicular cerca de quatro dias após a aplicação destes esteróides (BÓ *et al.* 1995).

A investigação conduzida por Martinez *et al.* (2005) que avaliou a administração de estradiol e progesterona (CIDR) em vacas ovariectomizadas verificou supressão na concentração plasmática das gonadotrofinas. A supressão da concentração de FSH persistiu durante o mesmo período em que os níveis de estradiol mantiveram-se elevados na circulação. Em vacas normais, o mesmo tratamento causou a regressão dos folículos FSH-dependentes (pelo estradiol) e dos folículos LH-dependentes (pela ação sinérgica do estradiol e progesterona), seguida da emergência de uma nova onda folicular logo após o aumento dos níveis de FSH. Neste trabalho, foram utilizados diferentes estrogénos em cada grupo experimental: benzoato de estradiol (BE), estradiol na forma natural (E-17 β) e valerato de estradiol (VE). Doses apropriadas de E-17 β e BE

foram eficientes na sincronização da emergência da onda folicular e da ovulação. A dose ótima para sincronizar a emergência da onda folicular neste experimento foi 5mg E-17 β (em vacas e novilhas) ou 1mg BE em novilhas. A administração de 1mg de E-17 β ou BE 24 horas depois da retirada do CIDR, induziu a ovulação aproximadamente 52 horas após.

O protocolo convencional da associação P4 com E2, segundo Cutaia *et al.* (2003a) e Colazo *et al.* (1999), pode ser descrito da seguinte forma: colocação, no dia 0, de um dispositivo de P4 + aplicação de 2mg BE (bloqueio e sincronização folicular); dia 7, retirada do dispositivo + aplicação de PGF2 α (retirada da fonte de P4 exógena e eventualmente endógena); dia 8, aplicação de 1mg BE (sincronização da ovulação); e dia 10, realização da IATF sem detecção de cio (aproximadamente 54hs após a retirada do dispositivo).

O controle da ovulação nos protocolos de IATF preconiza induzir a emergência de uma nova onda de crescimento folicular sincronizada com o controle da duração do crescimento folicular até o estágio pré-ovulatório, desde a inserção e a retirada da fonte de progesterona exógena e endógena eventualmente quando da presença de CL. O objetivo final consiste na indução da ovulação sincronizada em todos os animais simultaneamente (BARUSELLI *et al.*, 2004a).

Com intuito de contornar os problemas da detecção de estros em rebanhos de cria, desenvolveram-se protocolos de sincronização da ovulação que permitem inseminar um grande número de animais num período de tempo pré-estabelecido. Estes tratamentos são conhecidos pelo nome de protocolos de inseminação artificial a tempo fixo (IATF), e se dividem nos que utilizam combinações de hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) e prostaglandina F2 α (PGF), chamados protocolos “*ovsynch*”, e os que utilizam dispositivos com progesterona e estradiol (BARUSELLI & MARQUES, 2002; BÓ *et al.*, 2003b).

Em trabalho realizado por Baruselli *et al.* (2002a) que comparou a IA convencional com protocolos utilizando progesterona e Norgestomet, e protocolo “*ovsynch*”, foram utilizadas 397 vacas Brangus com cria, divididas aleatoriamente nos 4 grupos. Verificou-se que os tratamentos com progesterona e progestágenos possibilitaram a obtenção de cerca de 50% de gestações do rebanho por IA, no início da estação de monta. Reportam também a indução de ciclicidade no período de anestro pós-parto em vacas de corte lactantes. Nesse estudo, foi observada uma antecipação significativa da concepção em animais que receberam tratamentos para IATF à base de

progesterona e progestágenos. A taxa de prenhez em animais tratados com progesterona e progestágenos foi significativamente maior do que à inseminação artificial convencional. Entretanto, o protocolo “*ovsynch*” apresentou baixa eficiência, não sendo indicado para vacas lactantes nas condições de manejo do presente trabalho.

2.4 Fatores que afetam os resultados da IATF

Moraes (2002) descreve os fatores que influenciam na taxa de concepção nos bovinos. Por primeiro cita a manifestação de cio, que inclui todo um condicionamento fisiológico prévio indicando que a fêmea está apta a ovular. O segundo refere-se à taxa de fertilização dos oócitos ovulados. Este aspecto depende da qualidade biológica dos gametas e de condições propícias para sua fusão e formação do zigoto. Assim, a eficácia dos métodos de reprodução está na dependência do percentual de fêmeas em cio e da taxa de fertilização em sistemas de indução e sincronização da ovulação para inseminação em tempo fixo.

Também é conhecida a importância da relação existente entre o nível nutricional das fêmeas e sua fertilidade. A condição corporal (CC) de um animal se relaciona com a quantidade de tecido adiposo de que o animal dispõe. Este estado corporal influencia diretamente a fertilidade, já que a partição de nutrientes se orienta prioritariamente a sobrevivência da novilha ou vaca seguida da proliferação da espécie. Os ciclos estrais geralmente podem ser alcançados e mantidos se a condição corporal é de 2 ou mais, numa escala de 1 a 5, ainda que isto possa variar segundo outros fatores como a raça, e se o animal está em um plano nutricional que leve a um aumento ou diminuição de peso (BÓ *et al.*, 2003b; CUTAIA *et al.*, 2003a).

A correlação encontrada por Cutaia *et al.* (2003a) foi positiva entre a porcentagem de prenhez e a condição corporal. Neste trabalho observamos uma taxa de prenhez crescente entre as condições corporais de 1,5 a 3,0 (escala de 1- 5): CC 1,5 = 27,8% (n = 79), CC 2,0 = 46,5% (n = 626), CC 2,5 = 52,3% (n = 1.809) e CC 3,0 = 57,7% (n = 2.592). Seguindo a escala da CC 3,5 e 4,0, a taxa de prenhez não diferiu da CC 3,0, se mantendo estável: CC 3,5 = 57,7% (n = 1574) e CC 4,0 = 57,6 (n = 177). Rocha *et al.* (2002), trabalhando com novilhas (cruza A. Angus x Charolês), confirmou uma tendência de melhores taxas de prenhez conforme a melhora da condição corporal, e demonstrou uma diferença significativa quanto ao peso corporal: novilhas com peso

corporal entre 300-320kg obtiveram melhor taxa de prenhez quando comparadas com as com peso corporal menor que 300kg.

Avaliando o estado fisiológico dos animais, encontramos uma menor taxa de prenhez em vacas solteiras quando comparadas a novilhas e vacas com cria, todas submetidas a IATF. Esta diferença pode ser explicada pelo fato das vacas solteiras serem compostas por fêmeas que ficaram vazias na temporada de monta anterior, por falta de nutrição adequada ou até mesmo por baixa fertilidade (CUTAIA *et al.* 2003a).

Vacas com cria (lactantes) sofrem a ação inibitória da presença do terneiro e do estímulo da mamada sobre a esfera reprodutiva. Para avaliar este efeito em programas de IATF, Penteadó *et al.* (2004) tratou 459 vacas Nelore, no momento da retirada do implante a metade das vacas teve seus terneiros desmamados temporariamente até a IATF = 54 horas. O lote com desmame obteve um aumento significativo na taxa de prenhez 52,8% (121/229) vs. 44,8% (103/230).

O fator ciclicidade do rebanho é muito importante na hora da escolha do protocolo de sincronização e também influencia no resultado da IATF. Segundo Cutaia *et al.* (2003a) vacas que estavam ciclando (n = 5.873) apresentaram melhor taxa de prenhez 56,3% vs. 47,0%, apresentada por vacas em anestro (n = 984).

A adição de gonadotrofina coriônica equina (eCG) aos protocolos de sincronização de cio, no intuito de minimizar os baixos resultados obtidos em fêmeas com baixa CC e/ou em anestro, tem sido estudado por diversos pesquisadores. O eCG pode melhorar a taxa de concepção através do aumento da concentração plasmática de progesterona no diestro do ciclo subsequente à IATF (BARUSELLI *et al.* 2004a). Os resultados estudados apresentaram efeitos positivos do eCG sobre a taxa de prenhez (BARUSELLI *et al.* 2003b; CUTAIA *et al.*, 2003a), e controversos (GONÇALVES, 2001; CARDOZO *et al.* 2003). Baruselli *et al.* (2004b) realizando um estudo retrospectivo, analisando 1987 IATFs realizadas em vacas Nelore, verificou efeito positivo do tratamento com eCG somente nos animais com $CC \leq 3,0$. Em animais com satisfatória condição corporal (>3) não foi verificado efeito positivo do tratamento com eCG na taxa de concepção.

Quando avaliado o genótipo dos animais, foi evidenciado outro fator que influi na IATF, conforme Cutatia *et al.* (2003a). As fêmeas cruzas índicas (n = 941) submetidas à IATF apresentaram menor taxa de prenhez quando comparadas às britânicas (n = 4.999), 50,6% vs. 56,3% respectivamente. Esta menor taxa de prenhez das cruzas índicas, pode ser relacionada ao temperamento, fisiologia reprodutiva e às

condições ambientais em que são expostas (campos de menor qualidade e carência mineral).

A inseminação artificial deve ser feita em momento que possibilite a união de um óvulo viável com um espermatozóide viável, para que ocorra a fecundação.

O momento ideal para a realização da inseminação artificial é de 10-12 horas após o início do estro, segundo Henderson (1939 *apud* MIES FILHO, 1987) e Asdel (1955 *apud* MIES FILHO, 1987), considerando o estro com duração de 12 - 18 horas e ovulação 24 a 36 horas após início do mesmo. Sabemos que o sêmen devidamente capacitado leva de 8-12 horas para chegar ao sítio de fertilização (HUNTER & WILMUT, 1983).

Segundo Cutaia *et al.* (2003a) vacas tratadas com o protocolo convencional com dispositivo de P4 por 7 dias e BE ovulam em média às 66 horas após a retirada do implante, assim recomendam a IATF entre as 52 e 56 horas, obedecendo desta maneira o período necessário para o transporte espermático ao sítio de fecundação e ocorrência do processo de capacitação.

Na literatura, existem divergências quanto ao momento recomendado para a realização da IATF, variando de 48 h da retirada do dispositivo até 60 h. Estes horários devem estar relacionados diretamente ao momento da ovulação da maioria das vacas e novilhas sincronizadas para IATF.

O momento da ovulação (MOV) nos diferentes trabalhos é citado com diferentes horários de acordo com os autores. As fêmeas utilizadas nestes trabalhos foram sincronizadas com o protocolo convencional dispositivo de P4 + 2mg de BE, após 8 dias retirada do dispositivo e aplicação de PF2alfa e 24 horas seguida de aplicação de 1mg BE. Foi realizado o controle por ultrassonografia para determinar o momento da ovulação. Segundo Cutaia, *et al.* (2003b), trabalhando com vacas cíclicas (n=12), verificou o MOV em 68,2 horas após a retirada do implante (variando de 60-72h). Por outro lado Marques *et al.* (2003), utilizando vacas *Bos indicus* x *Bos taurus* com cria (n=26) determinou MOV em $69,4 \pm 2$ horas após a retirada do implante. Neste sentido, Reis *et al.* (2004), trabalhando com vacas *Bos indicus* com cria (n=11), determinou o MOV em $75,3 \pm 1,7$ horas. E ainda, Baruselli *et al.* (2004c), utilizando novilhas *Bos indicus* (n=21) e determinou o MOV em $72,0 \pm 3,1$ horas.

Em novilhas de corte Martinez, *et al.* (2004) observou o MOV de 77,3h com uma variação de 72 a 96 horas.

Roos *et al.* (2004) realizaram experimento onde foram utilizadas vacas com cria de corte sincronizadas com um implante intravaginal com 250mg de acetato de medroxiprogesterona (MAP) + 3mg de BE e a aplicação de 0,7mg de BE no momento da retirada (BE0) e 24h (BE24) após. O momento da ovulação não foi diferente entre os grupos (em média 72h após a remoção do implante).

A determinação do MOV em protocolos de sincronização visando a IATF, depende do tipo, dosagem e horário de aplicação do estrógeno. A administração no início do protocolo visa a manipulação da dinâmica folicular e a no final do tratamento objetiva a sincronização da ovulação (MARTINEZ *et al.*, 2005). Outro fator a afetar o MOV está relacionado ao período de permanência da fonte de P4 (CAVALIERI *et al.*, 2004), e também pelo momento da aplicação de PGF2alfa (MANTOVANI *et al.* 2004).

Com o objetivo de determinar o melhor momento para a realização da IATF, em vacas com cria (n = 421), Hereford e cruzas índicas, Cutaia *et al.* (2003a) realizaram dois experimentos utilizando um protocolo padrão com dispositivo de P4 + BE na colocação e retirada, variando somente o tempo de permanência do implante entre o experimento 1 (7 dias) e 2 (8 dias). Foram utilizados dois horários de inseminação, às 48 h e às 54 h após retirada do implante, em cada experimento. Não houve diferença significativa na taxa de prenhez entre os experimentos e nem entre os horários de inseminação. As diferenças numéricas sempre favoreceram o grupo IATF às 54 horas.

WHITTAKER *et al.* (2002), utilizando vacas com cria tratadas com um dispositivo de progesterona + BE ou um dispositivo de progesterona + BE + P4 injetável e uma segunda dose de BE 24 horas após retirada do dispositivo, realizaram as IATFs em dois momentos entre 47 – 50 horas e entre as 53,5 – 57,5 horas da retirada do dispositivo. Os resultados foram de 45% vs. 57% de prenhez, respectivamente sem diferença significativa.

2.5 Fatores relacionados ao sêmen

A incorporação de técnicas para controle da qualidade seminal e desenvolvimento de protocolos de preparação da dose inseminante podem gerar incremento nos índices de prenhez após IATF.

No momento da monta natural, o touro deposita bilhões de espermatozóides no fornix vaginal da fêmea. Na I.A., o sêmen é depositado diretamente no útero,

ultrapassando a cérvix o que possibilita o uso de um número reduzido de espermatozóides. Após a I.A., o sêmen é exposto a uma série de ambientes distintos que alteram significativamente o número e a função espermática. Muitos espermatozóides são perdidos no trato genital pelo movimento retrógrado. Espermatozóides depositados no trato genital da fêmea devem atravessar o útero, passar para o oviduto, pela junção útero-tubárica, interagir com o epitélio do oviduto e após o período de capacitação, fertilizar o oócito (SARTORI, 2004). Para que o espermatozóide seja considerado qualitativamente viável e potencialmente fértil é necessário que possua morfologia, atividade metabólica e membranas normais.

Quando biotécnicas como IATF são adotadas, em larga escala, há a necessidade do uso do sêmen congelado de diferentes reprodutores ou até de várias partidas de sêmen, este fato se deve a critérios zootécnicos. A não avaliação ou mesmo a falta de critérios na avaliação/escolha do sêmen pode afetar significativamente a fertilidade de todo o lote de fêmeas, com prejuízos econômicos (ARRUDA, *et al.* 2004).

O Colégio Brasileiro de Reprodução Animal – CBRA, em 1992, com a finalidade de esclarecer e orientar os profissionais médicos veterinários e indústrias, elaborou a publicação “PROCEDIMENTOS PARA EXAME ANDROLÓGICO E AVALIAÇÃO DE SÊMEN ANIMAL”. Nesta, foram discutidos os padrões para o julgamento do sêmen congelado bovino.

Alguns padrões estabelecidos para considerar uma amostra satisfatória após descongelamento são:

- a) volume maior que 0,25ml;
- b) percentagem de espermatozóides com movimento progressivo após descongelação a 37° mínimo de 30%;
- c) vigor mínimo 3 (escala de 0 a 5);
- d) número de espermatozóides viáveis na dose maior que 10 milhões;
- e) patologia espermática, defeitos totais menor que 30% (defeitos maiores e menores \leq 20%);
- f) Motilidade após diferentes testes de termo-resistência maior que 15%.

O número de espermatozóides é um fator de grande importância na fertilidade, portanto a redução quantitativa de espermatozóides acarreta menor índice de fecundação da fêmea. Mies Filho (1987) descreve trabalho realizado na Universidade de Cornell, em 1951, mostrando que, ao usar sêmen diluído, o aumento do título da diluição passa a

afetar a percentagem de fecundações quando o número de espermatozóides contidos na dose empregada é inferior a 10 milhões.

Brogliatti *et al.* (2001) verificaram somente uma diferença numérica quando comparou duas concentrações de sêmen sexado (20×10^6 vs. 3×10^6), em inseminações convencionais ($n = 111$). As taxas de prenhez foram de 65% e 49,3%, respectivamente.

Conforme Andersson *et al.* (2004), doses de sêmen com reduzida concentração (2×10^6 sptzs/dose) utilizada em rebanhos de leite comercial, sem sincronização de estros, geralmente resultam em uma redução nas taxas de prenhez comparadas com as doses com 15×10^6 sptzs/dose.

A criopreservação causa um decréscimo de aproximadamente 50% na viabilidade espermática decorrente, em especial, de efeitos de temperatura e osmolaridade, alterando a organização, fluidez, permeabilidade e composição lipídica das membranas (THOMAZ *et al.* 1998). Por outro lado, o sêmen refrigerado tem uma maior meia vida que o sêmen congelado no trato reprodutivo da fêmea, já que a integridade dos ácidos graxos polissaturados presentes na membrana do sptz resulta em um fator chave para a sua viabilidade (BAAS, *et al.* 1983).

Com o objetivo de incrementar a taxa de concepção e redução da concentração de sptz por dose de sêmen, Aviles *et al.* (2006) realizaram três experimentos. Em todos, as fêmeas foram inseminadas a tempo fixo. No experimento 1, foram utilizadas 179 novilhas, divididas em dois grupos conforme o tipo de dose inseminante. As doses de sêmen utilizadas foram: dose de sêmen congelado (60×10^6 sptzs/dose) e dose de sêmen refrigerado (30×10^6 sptzs/dose). A taxa de prenhez foi semelhante entre os grupos. No experimento 2, foram utilizadas 307 novilhas, divididas em dois grupos: sêmen congelado e refrigerado (doses de sêmen iguais 30×10^6 sptzs/dose). A taxa de prenhez foi semelhante entre os grupos. No experimento 3, foram utilizadas 37 vacas, divididas em dois grupos: sêmen refrigerado com duas diferentes concentrações (33×10^6 ou 66×10^6 sptzs/dose). A taxa de prenhez foi semelhante entre os grupos.

Boyd *et al.* (1973) trabalhando com 177 novilhas e 236 vacas (metade grupo controle e metade sincronizadas com MGA) inseminadas após detecção de cio, avaliaram o efeito do sêmen congelado com duas concentrações de sptz diferentes (15 e 60 milhões/dose). Avaliando o índice de não retorno à primeira IA não foi observada diferença entre os grupos inseminados com diferentes concentrações de sptz por dose inseminante.

O local de deposição intracervical do sêmen tem importância reduzida na vaca, na qual a concepção aumenta cerca de 10% quando é procedida de forma profunda contra a superficial (MIES FILHO, 1987).

Com o objetivo de avaliar o efeito de três locais de deposição de sêmen sobre a taxa de prenhez, foram sincronizadas 209 novilhas para serem inseminadas com sêmen sexado com concentração de 2,2 milhões de sptzs/dose. A taxa de prenhez geral foi de 43,1%, não houve diferenças entre os grupos inseminação no corpo do útero, no meio do corno uterino ou na junção útero tubárica (KURYKIN, 2007).

3 ARTIGO

EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DO SÊMEN E HORÁRIO DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL A TEMPO FIXO SOBRE A TAXA DE PRENHEZ EM FÊMEAS BOVINAS DE CORTE

Dimas Corrêa Rocha¹, Andrei Beskow², Rodrigo Costa Mattos³, Ricardo Macedo
Gregory³

RESUMO

Em experimento conduzido com o objetivo de avaliar os efeitos da concentração da dose de sêmen e o horário da inseminação artificial a tempo pré-fixado, foram utilizadas 516 fêmeas bovinas. Os animais, das raças Aberdeen Angus (*Bos taurus*) e Braford (*Bos taurus* 5/8 x *Bos indicus* 3/8) eram constituídos de 270 novilhas e 246 vacas multíparas. Os animais foram submetidos a um protocolo de sincronização de estros e ovulação através de implante vaginal contendo 250 mg de Acetato de Medroxiprogesterona (MAP) associado a duas aplicações de Benzoato de Estradiol (BE), sendo a primeira de 2 mg IM por ocasião da inserção do implante e a segunda de 1 mg IM vinte e quatro horas após a retirada do mesmo. Quando da remoção do implante foram administrados 500 mcg de Cloprostenol Sódico. As inseminações foram efetuadas às 48, 54 ou 60 horas após a retirada do implante, utilizando para cada momento duas concentrações distintas de espermatozóides viáveis, 10 e 20 milhões por dose. Verificou-se que as fêmeas (em especial as novilhas) inseminadas às 48 horas com 20 milhões de sptz/dose apresentaram índice de prenhez significativamente maior do que as inseminadas no mesmo momento com 10 milhões sptz/dose. As vacas inseminadas com 10 milhões de sptz às 60h apresentaram melhor taxa de prenhez ($p < 0,05$) quando comparadas às inseminadas com 10 milhões de sptz às 48h. O percentual de prenhez encontrado nas vacas foi significativamente maior que o das novilhas, assim como o verificado nas fêmeas Aberdeen Angus, comparadas às Braford. A taxa de prenhez de novilhas inseminadas a tempo fixo pode ser incrementada utilizando-se maior número de espermatozóides viáveis por dose inseminante.

Palavras chave: fêmeas bovinas de corte, inseminação artificial a tempo fixo, horário da inseminação, concentração espermática.

¹ Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias-UFRGS

² Estudante de Graduação - Bolsista CNPq

³ PhD Professor Titular Departamento de Medicina Animal –FAVET-UFRGS- Pesquisador CNPq

ABSTRACT***EFFECT OF SEMEN CONCENTRATION AND MOMENT OF FIXED TIMED INSEMINATION ON PREGNANCY RESULTS IN BEEF CATTLE FEMALES***

*The objective of this study was to analyse the effects of semen concentration and moment of fixed timed insemination on pregnancy rates in 516 beef cattle females of the Aberdeen Angus (*Bos taurus*) and Braford (*Bos taurus* 5/8 x *Bos indicus* 3/8) breeds. The females were constituted of 270 heifers and 246 multiparous cows. The animals were all submitted to a synchronization program consisting of vaginal implants of 250mg of medroxyprogesterone acetate (MPA) associated to application of 2mg IM of estradiol benzoate (EB). After 7 days the implants were removed and 500 mg of cloprostenol were injected at the time. After 24hs of implant removal 1mg IM of EB was injected. The inseminations were done 48, 54 and 60 hours after the removal of the implants and semen with 10 and 20 million viable spermatozoa per dosis was used. The females (specially the heifers) of the group inseminated 48 hours after implant removal and using semen with 20 million viable sptz showed a significant higher percentage of pregnancy than the inseminated 48 hours using 10 million viable sptz. The cows inseminated at 60 hours with 10 million sptz showed higher pregnancy rates ($p < 0,05$) than cows inseminated at 48 hours with 10 million sptz. The total pregnancy rate achieved on the cows was significantly higher than on the heifers. The females of the A. Angus group had higher pregnancy rates than the females of the Braford breed. The pregnancy rate of heifers fixed-timed inseminated can be increased using a higher semen concentration.*

Key words: *beef cattle females, fixed-time artificial insemination and semen concentration.*

INTRODUÇÃO

A moderna pecuária bovina de corte exige aumento da produtividade e produção com sustentabilidade, garantindo a continuidade da exploração animal num dado espaço geográfico (BARCELLOS *et al.*, 2003). A eficiência reprodutiva é um dos principais fatores que contribuem para melhorar os resultados das empresas pecuárias. (BÓ *et al.*, 2003a; CUTAIA *et al.*, 2003a).

A inseminação artificial provou ser uma técnica viável para acelerar o avanço genético e o retorno econômico da bovinocultura. Entretanto, a porcentagem dos rebanhos incluídos nestes programas continua sendo baixa. A dificuldade na correta detecção de estros passou a ser contornada a partir da utilização de protocolos de inseminação artificial a tempo fixo (BARUSELLI & MARQUES, 2002; BÓ *et al.*, 2003b).

A utilização de progestágenos na sincronização deaios de bovinos data dos anos 50. Os principais métodos de administração utilizados para a suplementação com progestágenos são: esponjas intravaginais impregnadas com acetato de medroxiprogesterona (MAP) ou progesterona natural, administração de gestágenos no alimento, implantes subcutâneos com Norgestomet e dispositivos intravaginais de silicone com liberação lenta de progesterona (GREGORY, 2002; MORAES, 2002).

A variabilidade dos resultados obtidos após a IATF constitui um entrave para a sua maior expansão. A incorporação de técnicas para adequar o momento da IA à ovulação e as características quantitativas e qualitativas do sêmen, pode ser de grande utilidade.

O momento da ovulação (MOV) nos trabalhos revisados difere quanto aos horários de sua ocorrência. As fêmeas utilizadas nestes trabalhos foram sincronizadas com o protocolo convencional dispositivo de P4 + 2mg de BE, após 8, dias retirada do dispositivo e aplicação de PF2alfa e 24 horas após aplicação de 1mg BE. Foi realizado o controle por ultrassonografia para determinar o momento da ovulação. Segundo Cutaia, *et al.* (2003b), trabalhando com vacas cíclicas (n=12), o MOV ocorre em 68,2 horas após a retirada do implante (variando de 60-72h). Por outro lado Marques *et al.* (2003), utilizando vacas *Bos indicus x Bos taurus* com cria (n =26) determinou MOV em 69,4 ± 2 horas após a retirada do implante. Neste sentido, Reis *et al.* (2004), trabalhando com vacas *Bos indicus* com cria (n=11), determinou o MOV em 75,3 ± 1,7 horas. E ainda,

Baruselli *et al.* (2004), utilizando novilhas *Bos indicus* (n=21) e determinou o MOV em $72,0 \pm 3,1$ horas.

Em novilhas de corte Martinez, *et al.* (2004) observou o MOV, de 77,3h com uma variação de 72 a 96 horas.

A determinação do MOV em protocolos de sincronização visando a IATF, depende do tipo, dosagem e horário de aplicação do estrógeno. A administração no início do protocolo visa à manipulação da dinâmica folicular e a no final do tratamento objetiva a sincronização da ovulação (MARTINEZ *et al.*, 2005). Outro fator a afetar o MOV está relacionado ao período de permanência da fonte de P4 (CAVALIERI *et al.*, 2004), e também pelo momento da aplicação de PGF2alfa (MANTOVANI *et al.* 2004).

Castellanos *et al.* (1997) com o objetivo de avaliar a manifestação estral de vacas (n=40) e novilhas (n=10) de leite (*Bos taurus*), controlou seis ciclos consecutivos induzidos a cada 11 dias através da aplicação de PGF2alfa. As vacas apresentaram um estro mais curto 17.6 ± 1.96 h vs. 20.6 ± 2.54 h nas novilhas. Salienta também que o comportamento reprodutivo é mais consistente nas vacas.

Com o objetivo de determinar o melhor momento para a realização da IATF, em vacas com cria (n = 421), Hereford e cruzas índicas, Cutaia *et al.* (2003a) realizou dois experimentos utilizando um protocolo padrão com dispositivo de P4 + BE na colocação e retirada, variando somente o tempo de permanência do implante entre o experimento 1 (7 dias) e 2 (8 dias). Foram utilizados dois horários de inseminação, às 48 h e às 54 h após a retirada do implante, em cada experimento. Não houve diferença significativa na taxa de prenhez entre os experimentos e nem entre os horários de inseminação. As diferenças numéricas sempre favoreceram o grupo IATF às 54 horas.

Quando avaliado o genótipo dos animais, fica evidenciado outro fator que pode influir nos resultados de IATF, conforme Cutatia *et al.* (2003a). As fêmeas cruzas índicas (n = 941) submetidas à IATF apresentaram menor taxa de prenhez quando comparadas às britânicas (n = 4.999), 50,6% vs. 56,3% respectivamente.

As doses de sêmen a serem utilizadas em programas de IA deve ser analisadas quanto à qualidade do gameta masculino e a quantidade de espermatozóides viáveis nelas contidas.

Brogliatti *et al.* (2001) verificaram somente uma diferença numérica quando comparou duas concentrações de sêmen sexado (20×10^6 vs. 3×10^6), em inseminações convencionais (n = 111). As taxas de prenhez foram de 65% e 49,3%, respectivamente.

Conforme, Andersson *et al.* (2004), doses de sêmen com reduzida concentração (2×10^6 sptzs/dose) utilizada em rebanhos de leite comercial, sem sincronização de estros, geralmente resultam em uma redução nas taxas de prenhez comparadas com as doses com 15×10^6 sptzs/dose.

Com o objetivo de incrementar a taxa de concepção e redução da concentração de sptz por dose de sêmen, Aviles *et al.* (2006) realizaram experimentos. Em todos, as fêmeas foram inseminadas a tempo fixo. No experimento 1, foram utilizadas 179 novilhas, divididas em dois grupos conforme o tipo de dose inseminante. As doses de sêmen utilizadas foram: dose de sêmen congelado (60×10^6 sptzs/dose) e dose de sêmen refrigerado (30×10^6 sptzs/dose). A taxa de prenhez foi semelhante entre os grupos. Em outro experimento, foram utilizadas 37 vacas, divididas em dois grupos inseminadas com sêmen refrigerado com duas diferentes concentrações (33×10^6 ou 66×10^6 sptzs/dose). A taxa de prenhez foi semelhante entre os grupos.

Boyd *et al.* (1973) trabalhando com 177 novilhas e 236 vacas (metade grupo controle e metade sincronizadas com MGA) inseminadas após detecção de cio, avaliaram o efeito do sêmen congelado com duas concentrações de sptz diferentes (15 e 60 milhões/dose). Avaliando o índice de não retorno à primeira IA não foi observada diferença entre os grupos inseminados com diferentes concentrações de sptz por dose inseminante.

O objetivo deste experimento foi avaliar o efeito da concentração da dose inseminante e o horário da inseminação artificial sobre a taxa de prenhez em fêmeas bovinas de corte submetidas a um protocolo de inseminação artificial a tempo fixo.

MATERIAL E MÉTODOS

Local do experimento

O experimento foi conduzido em uma propriedade de gado de corte na região da Campanha do Rio Grande do Sul, no município de Santa Margarida do Sul, durante o período de outubro de 2005 a março de 2006. Os animais foram mantidos em pastagens nativas, que apresentavam predominância de espécies como *Paspalum notatum* (grama forquilha) e *Desmodion adscendens* (pega-pega). O mês de dezembro daquele ano foi caracterizado por um período de déficit pluviométrico na região.

Animais experimentais

Foram utilizadas 516 fêmeas bovinas de corte, das raças Aberdeen Angus (*Bos taurus*) e Braford (*Bos taurus*-5/8 x *Bos indicus*-3/8). Destas, 270 eram novilhas com idade de 24-30 meses e 246 eram vacas com cria múltíparas, com idade superior a 48 meses. Cada categoria animal foi manejada em invernadas em separado, ocupadas durante todo o experimento.

Os ventres selecionados apresentavam condição corporal igual ou superior a 2,5, em escala de 1 a 5 (onde 1=magra e 5=gorda). As vacas com cria utilizadas apresentavam período pós-parto maior que 50 dias.

Os animais foram identificados individualmente através de brincos plásticos numerados.

Sincronização de Ciclo Estral

Todos os ventres receberam o mesmo tratamento hormonal no intuito de sincronizar o estro e a ovulação em um período pré-determinado. Os animais foram tratados no dia 0 (dia aleatório do ciclo estral) com um implante intravaginal impregnado com 250mg de Acetato de Medroxiprogesterona (MAP) e uma injeção com

2mg, IM, de benzoato de estradiol (Estrogin^{®4}). No dia 7 foi retirado o implante e aplicado uma injeção de 500 mcg, IM, de cloprostenol sódico (Sincrocio^{®5}). Após 24 h da retirada do dispositivo foi administrado 1mg IM de benzoato de estradiol (Estrogin[®]). Neste momento, foram divididos os lotes para serem inseminados conforme os horários. As inseminações foram realizadas em horários pré-determinados 48, 54 e 60 horas após a retirada do implante. As vacas com cria, no momento da retirada do implante, tiveram seus terneiros desmamados temporariamente por 62 horas (desmama de mangueira). A figura 1 ilustra o protocolo.

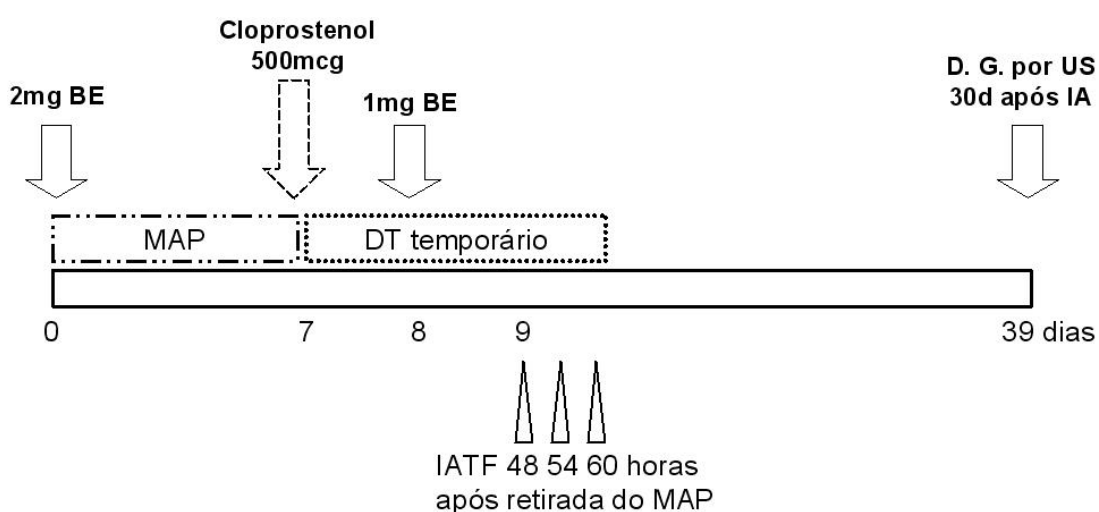


Figura 1: Protocolo de sincronização de estros para IATF

Coleta e Preparação do Sêmen

O sêmen utilizado nas inseminações foi coletado de dois touros com fertilidade comprovada das raças Aberdeen Angus e Braford. As doses de sêmen foram congeladas, a partir de um ejaculado de cada touro, com duas concentrações diferentes, uma utilizando o padrão mínimo do CBRA (10×10^6 espermatozóides viáveis por dose pós-descongelamento) e outra com duas (2) vezes a concentração do padrão mínimo.

Os ejaculados foram coletados e avaliados laboratorialmente. Quando aprovados conforme padrões do CBRA (1992), realizaram-se os cálculos da concentração por palheta da seguinte forma:

⁴ Farmavet

⁵ Ourofino S/A

- a. Cálculo do número de espermatozóides totais viáveis;
- b. Número de espermatozóides totais viáveis / 3 = X;
- c. $X / 20 \times 10^6$ espermatozóides viáveis = Número de doses (com no mínimo 10×10^6 espermatozóides viáveis por dose pós-descongelamento *);
- d. $2X / 40 \times 10^6$ espermatozóides viáveis = Número de doses (com no mínimo 20×10^6 espermatozóides viáveis por dose pós-descongelamento *);
- e. O cálculo das doses e diluentes utilizados foi ajustado conforme o volume coletado e a concentração desejada.

Obs.: * Estimando que a criopreservação cause um decréscimo de aproximadamente 50% na viabilidade espermática decorrente de efeitos de temperatura e osmolaridade, alterando a organização, fluidez, permeabilidade e composição lipídica das membranas (THOMAZ *et al.* 1998).

O diluidor utilizado foi citrato-gema-glicerol (2,94%-20%-7%) acrescido de Gentamicina-Tilosina e Linco-Spectin[®] na diluição de 20 milhões de sptz e 40 milhões de sptz por dose (0,5ml), conforme descrito anteriormente. Tempo de resfriamento e equilíbrio de 5 h. O sêmen foi congelado em um equipamento automático da marca IMV Digitcool[®], com curva padrão de +5°C a -120°C em 7 minutos, no vapor de nitrogênio. Após estabilização por 3 minutos no vapor de nitrogênio, as palhetas foram retiradas das rampas e mergulhadas direto no nitrogênio líquido. O processo de congelamento foi realizado no laboratório da Central de Inseminação Artificial - ABS Pecplan em Rosário do Sul, RS.

O sêmen foi avaliado após descongelamento a 37°C quanto à motilidade, vigor e patologia espermática, sendo ainda realizado o teste de termo-resistência rápida.

Inseminação Artificial a Tempo Fixo

Foram formados seis grupos experimentais, distribuídos homogeneamente conforme condição corporal e de acordo com o horário de inseminação e a dose de sêmen a ser utilizada (fatorial 3 x 2):

Grupo 1 – inseminação artificial 48hs após a retirada do implante e dose de sêmen de 10 milhões de espermatozóides viáveis (n = 88);

Grupo 2 - inseminação artificial 48hs após a retirada do implante e dose de sêmen de 20 milhões de espermatozóides viáveis (n = 76);

Grupo 3 - inseminação artificial 54hs após a retirada do implante e dose de sêmen de 10 milhões de espermatozóides viáveis (n = 95);

Grupo 4 - inseminação artificial 54hs após a retirada do implante e dose de sêmen de 20 milhões de espermatozóides viáveis (n = 94);

Grupo 5 - inseminação artificial 60hs após a retirada do implante e dose de sêmen de 10 milhões de espermatozóides viáveis (n = 84);

Grupo 6 - inseminação artificial 60hs após a retirada do implante e dose de sêmen de 20 milhões de espermatozóides viáveis (n = 79);

O sêmen utilizado foi descongelado a 37°C por 35 segundos. Todas as inseminações foram realizadas pelo mesmo inseminador. As fêmeas foram inseminadas aleatoriamente com as diferentes concentrações de sêmen.

Diagnóstico de Gestação

O diagnóstico de gestação foi realizado 30 dias após a inseminação artificial a tempo fixo, através de ultra-sonografia transretal, Scanner 450^{®6} com transdutor linear de 5Mhz.

Análise estatística

As taxas de prenhez á primeira inseminação foram comparadas mediante o teste Qui-quadrado. Onde serão consideradas diferenças estatisticamente significativas quando $p < 0,05$.

⁶ Pie Medical

RESULTADOS

Analizando a Tabela 1, verifica-se que o horário de inseminação associado ao número de espermatozóides viáveis na dose de sêmen demonstrou diferenças significativas nas fêmeas bovinas.

As fêmeas inseminadas às 48 horas depois de retirado o dispositivo com 20×10^6 sptz viáveis apresentaram uma taxa de prenhez significativamente maior do que as fêmeas inseminadas no mesmo horário com a dose reduzida. Esta diferença não foi constatada quando comparamos os demais grupos.

Tabela 1: Percentual de prenhez de fêmeas por grupo experimental horário de inseminação artificial e concentração da dose de sêmen.

Grupo	N*	N**(%)
48h – 10×10^6 sptzs viáveis	88	17 (19,32) ^a
48h – 20×10^6 sptzs viáveis	76	26 (34,21) ^b
54h – 10×10^6 sptzs viáveis	95	28 (29,47) ^{a,b}
54h – 20×10^6 sptzs viáveis	94	29 (30,85) ^{a,b}
60h – 10×10^6 sptzs viáveis	84	26 (32,14) ^{a,b}
60h – 20×10^6 sptzs viáveis	79	24 (30,38) ^{a,b}

N*: número de fêmeas por grupo

N**: número de fêmeas prenhes

Letras diferentes na mesma coluna $p < 0,05$.

A tabela 2 demonstra que a percentagem de prenhez à inseminação em diferentes horários, após a retirada do implante, independente da concentração de sptz utilizada não apresentou diferença significativa entre os grupos.

Tabela 2: Percentual de prenhez por grupo experimental e horário de inseminação artificial.

Grupo	N*	N**(%)
48h	164	43 (26,21)
54h	189	57 (30,15)
60h	163	51 (31,28)

N*: número de fêmeas por grupo

N**: número de fêmeas prenhes

A Tabela 3 que demonstra a avaliação do efeito da concentração de sptz sobre o índice de prenhez em fêmeas bovinas após inseminação artificial a tempo fixo não levando em conta o horário da IA, indica não haver diferença significativa quanto às doses inseminantes.

Tabela 3: Percentual de prenhez por grupo experimental concentração da dose de sêmen.

Grupo	N*	N**(%)
10 x 10 ⁶ sptzs viáveis	249	79 (31,79)
20 x 10 ⁶ sptzs viáveis	267	72 (26,96)

N*: número de fêmeas por grupo

N***: número de fêmeas prenhes

Avaliando a tabela 4 podemos identificar que as novilhas inseminadas às 48 horas com 20 x 10⁶ sptzs viáveis apresentaram uma taxa de prenhez à primeira IA maior ($p < 0,05$) do que quando inseminadas às 48h ou 60h com 10 x 10⁶ sptzs viáveis. Nesta categoria nos demais grupos não houve diferenças significativas.

Quando avaliamos a taxa de prenhez à primeira IA nas vacas, podemos identificar uma diferença significativa entre os grupos inseminados às 48h ou 60h utilizando a mesma concentração de 10 x 10⁶ sptzs viáveis (26,8% vs. 50%, respectivamente). Nos demais grupos não houve diferenças significativas.

Tabela 4: Percentual de prenhez de novilhas e vacas por grupo experimental horário de inseminação artificial e concentração da dose de sêmen.

Grupo	Novilhas - N*(%)	Vacas - N**(%)
48h - 10 x 10 ⁶ sptzs viáveis	6/47 (12,76) ^a	11/41 (26,82) ^a
48h - 20 x 10 ⁶ sptzs viáveis	15/40 (37,50) ^b	11/36 (30,55) ^{a,b}
54h - 10 x 10 ⁶ sptzs viáveis	11/49 (22,44) ^{a,b}	17/46 (36,95) ^{a,b}
54h - 20 x 10 ⁶ sptzs viáveis	13/47 (27,65) ^{a,b}	16/47 (34,04) ^{a,b}
60h - 10 x 10 ⁶ sptzs viáveis	7/44 (15,90) ^a	20/40 (50,00) ^b
60h - 20 x 10 ⁶ sptzs viáveis	11/43 (25,58) ^{a,b}	13/36 (36,11) ^{a,b}

N*: número de novilhas prenhes

N***: número de vacas prenhes

Letras diferentes na mesma coluna $p < 0,05$.

Analisando a Figura 2 podemos observar o efeito do horário de inseminação sem levar em conta a concentração de espermatozóides por dose separadamente em cada categoria animal.

Não houve diferenças significativas entre os grupos horários da IA. Podemos observar nas vacas uma tendência de maior prenhez quando as vacas foram inseminadas às 60 horas após a retirada do dispositivo de progestágeno.

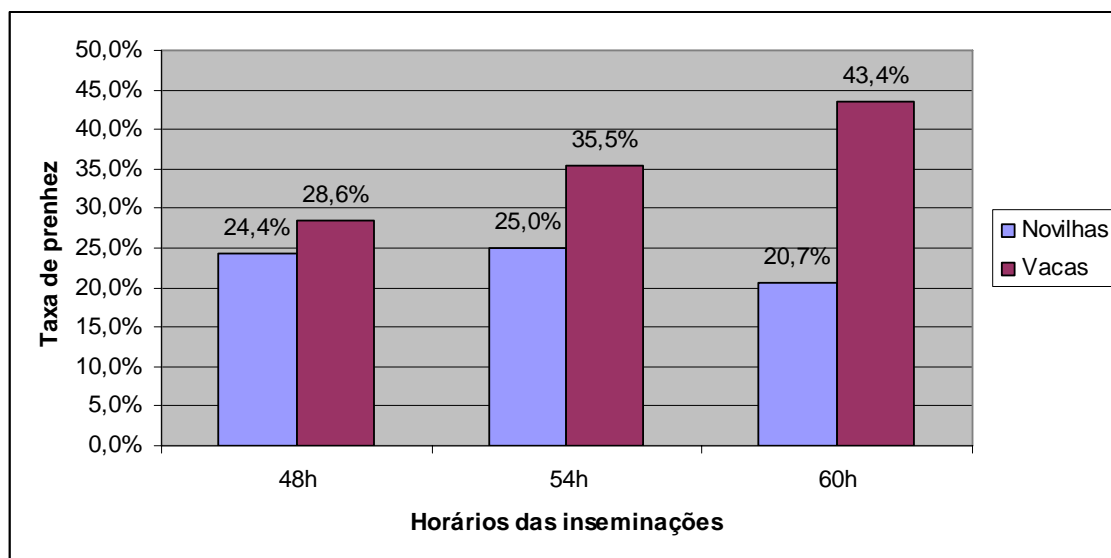


Figura 2: Percentual de prenhez de novilhas e vacas por grupo experimental horário de inseminação artificial.

A Tabela 5 que avalia o efeito da concentração da dose inseminante sobre o índice de prenhez de novilhas e vacas após inseminação artificial a tempo fixo não levando em conta o horário da IA indica não haver diferença significativa quanto às doses inseminantes no grupo de vacas. Já nas novilhas, podemos verificar uma maior taxa de prenhez no grupo 20×10^6 sptzs viáveis ($p < 0,05$) do que no grupo onde se utilizou a dose de 10×10^6 sptzs viáveis.

Tabela 5: Percentual de prenhez de novilhas e vacas por grupo experimental concentração da dose de sêmen.

Grupo	Novilhas - N*(%)	Vacas - N**(%)
10×10^6 sptzs viáveis	24/140 (17,14) ^a	48/127 (37,79)
20×10^6 sptzs viáveis	39/130 (30,00) ^b	40/119 (33,61)

N*: número de novilhas prenhes

N**: número de vacas prenhes

Letras diferentes na mesma coluna $p < 0,05$.

A tabela 6 demonstra a percentagem de prenhez na inseminação de novilhas e vacas desconsiderando os diferentes horários das inseminações e as concentrações de sêmen utilizadas. A taxa de prenhez a primeira IA foi maior significativamente ($p < 0,05$) nas vacas do que nas novilhas.

Tabela 6: Percentual de prenhez por categoria animal vacas e novilhas.

Grupo	N*	N**(%)
Novilhas	270	63 (23,33) ^a
Vacas	246	88 (35,77) ^b

N*: número de fêmeas por grupo

N**: número de fêmeas prenhes

Letras diferentes na mesma coluna $p < 0,05$.

Na Figura 3 podemos analisar a taxa de prenhez nos grupos raciais A. Angus (*Bos taurus*) e Braford (*Bos taurus*5/8 x *Bos indicus*3/8). As taxas de prenhez à inseminação artificial em tempo fixo de novilhas e vacas A. Angus foram superiores significativamente ($p < 0,05$) do que as de novilhas e vacas Braford.

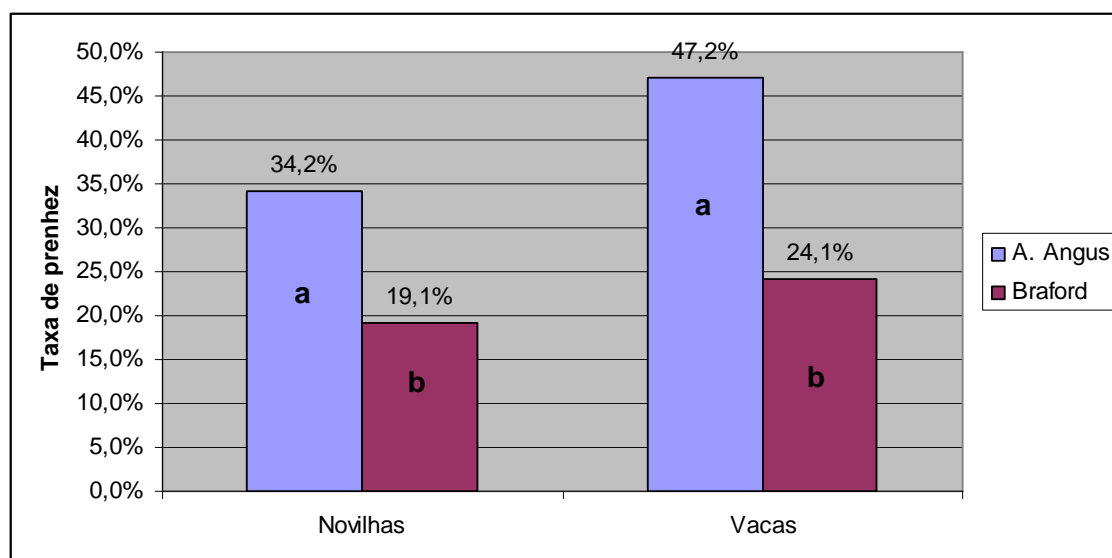


Figura 3: Percentual de prenhez de novilhas e vacas por raça.

DISCUSSÃO

Neste experimento avaliou-se o efeito da concentração da dose inseminante e o horário da inseminação artificial sobre a taxa de prenhez em fêmeas bovinas de corte submetidas a um protocolo de inseminação artificial a tempo fixo.

O animais utilizados, das raças Aberdeen Angus (*Bos taurus*) e Braford (*Bos taurus*-5/8 x *Bos indicus*-3/8), eram constituídos de novilhas e vacas com cria múltiparas.

A hipótese a ser estudada levava em conta que diferentes horários pré-fixados para inseminação artificial poderiam apresentar uma relação positiva ou negativa com a fertilidade em dependência do número de espermatozóides viáveis utilizados nas doses inseminantes.

Os resultados de fecundação obtidos após IATF de vacas e novilhas, analisadas em conjunto quanto ao efeito do horário da inseminação associado à concentração de 10 ou 20 milhões de espermatozóides viáveis na dose, mostraram uma redução significativa apenas nos animais inseminados às 48 horas com menor número de gametas viáveis comparado ao mesmo horário de IA com dose inseminante duas vezes o padrão. A IA realizada às 48 horas com 10×10^6 de sptz, de acordo com o MOV estudado por diversos autores pode ter sido muito precoce, porque segundo Cutaia *et al.* (2003a) o momento ideal se dá entre 52 a 56 horas. O fato de os índices de fecundação obtidos às 48 horas com a dose inseminante dobrada serem significativamente maiores que os índices da IA às 48h com 10×10^6 de sptz e se assemelharem aos verificados nos outros horários, pode ser explicado, provavelmente, devido a uma maior sobrevivência espermiática com possibilidade de adequação do momento da fecundação. Estas observações podem ser respaldadas no descrito por Andersson *et al.* (2004), que verificaram, utilizando doses de sêmen com reduzida concentração, que essas geralmente resultam em uma queda nas taxas de prenhez.

Quando são avaliados os índices de prenhez obtidos nos diferentes horários, não considerando as diferentes concentrações espermiáticas, em todas as fêmeas, os índices de gestação à primeira IA não diferem entre si. Estas observações coincidem com o verificado por Whittaker *et al.* (2002) que refere índices similares de fecundação quando se insemina em tempo fixo entre 47 a 57,5 horas após a remoção de implantes.

Independentemente do horário em que foi realizada a IATF em todas as fêmeas bovinas com diferentes concentrações espermiáticas, não se verificaram diferenças entre

os grupos. Estes achados concordam com Boyd *et al.* (1973) que não encontraram variações na prenhez de vacas inseminadas doze horas após a observação de cio com 15 ou 60 milhões de espermatozóides. Neste mesmo sentido, Avilez *et al.* (2006), trabalhando, porém, com sêmen resfriado e com duas concentrações distintas de 33 e 66 milhões de espermatozóides, não verificaram diferentes taxas de prenhez à IATF.

Em novilhas inseminadas às 48 horas com 20 milhões de espermatozóides viáveis, observa-se uma taxa de prenhez significativamente maior do que naquelas inseminadas no mesmo momento, porém com a metade da concentração. Este efeito não é verificado nos outros momentos. As novilhas inseminadas às 48 com 20×10^6 de spz apresentaram uma maior taxa de prenhez do que as inseminadas às 60 com 10×10^6 de spz. Conforme Martinez *et al.* (2004) o MOV em novilhas ocorre aproximadamente às 77 horas, com variações de até 24 horas. Provavelmente a utilização de doses de sêmen com maior número de espermatozóides em uma inseminação com horário antecipado à ovulação possa compensar um maior período de espera para uma fecundação eficaz.

Nas vacas, a inseminação às 48 horas com a dose padrão, produziu resultados inferiores às inseminadas às 60 horas com a mesma dose. As vacas segundo Cutaia *et al.* (2003a) e Marques *et al.* (2003) possuem um padrão de ovulação mais concentrado em torno de 68 horas com variações de 12 a 18 horas. Estas informações justificam o verificado neste experimento para as taxas de prenhez obtidas nas IA de 54 e 60 horas. A prenhez às 48 horas com o dobro da dose padrão também foi similar. Este fato pode ser explicado, provavelmente por uma compensação a ser atribuída ao maior número de espermatozóides utilizados na dose inseminante.

Os resultados de fecundação para novilhas e vacas inseminadas em diferentes momentos, desconsiderando a concentração utilizada na IA, revela nas vacas uma tendência a melhores índices quando esta se dá às 60 horas. Whittaker *et al.* (2002) também observaram tendência a melhores índices em vacas inseminadas em momento pré-determinado, no intervalo entre 53,5 a 57,5 horas em confronto com intervalo de 47 a 50 horas após a remoção do implante de P4.

O percentual de novilhas que resultam gestantes quando a IA é realizada com a dose padrão, independentemente de seu horário é menor do que o observado com o dobro de espermatozóides viáveis. A maior variabilidade na fisiologia reprodutiva encontrada em novilhas por Castellanos *et al.* (1997), assim como na variação alta de 24 horas no MOV relatada por Martinez *et al.* (2004) pode justificar este fato. Quando a dose inseminante é duplicada estas variações podem ser contornadas.

A taxa de prenhez significativamente menor observada à IATF de novilhas, independente do momento da inseminação e da dose utilizada, concorda com os achados de Baruselli *et al.* (2005) quando da utilização de fêmeas “*Bos indicus*”. Contrapondo-se, porém ao descrito por Cutaia *et al.* (2003a) que reportam resultados similares nas duas categorias utilizando fêmeas “*Bos taurus*”. Uma das possíveis causas dos resultados obtidos em novilhas poderia estar relacionado ao fato de que altos níveis de P4 circulante durante o tratamento suprimem a frequência e magnitude dos pulsos de LH, que afetam o crescimento do folículo dominante, a ovulação e a formação de um corpo lúteo competente (BURKE, *et al.* 1994). Segundo Cutaia *et al.* (2006) esta situação seria agravada em animais de menor peso metabólico como é o caso das novilhas, as quais, em geral, se encontram cíclicas.

As diferenças encontradas neste experimento com relação a maiores índices de prenhez em fêmeas bovinas com genótipo “*Bos taurus*” (Aberdeen Angus) em confronto com as cruzadas com zebuínos (Braford) coincidem com o reportado por Cutaia *et al.* (2003a) que justifica estes achados através de aspectos comportamentais e de ambiente de criação deste tipo de gado. Por outro lado, Baruselli *et al.* (2005) descreve que animais com sangue zebuíno tem menor capacidade de metabolizar a progesterona, o que poderia resultar em menores índices de ovulação e fertilização. Neste trabalho, novilhas de genótipo europeu apresentam maior eficiência à IATF o que concorda com os achados de Cutaia *et al.* (2003a) que citam resultados satisfatórios nesta categoria.

REFERÊNCIAS

- ANDERSSON, M. *et al.* Effect of insemination with doses of 2 or 15 million frozen-thawed spermatozoa and semen deposition site on pregnancy rate in dairy cows. **Theriogenology**, v. 61, p. 1583-1588, 2004.
- AVILÉS, M. *et al.* Sêmen refrigerado o congelado en programas de sincronización de la ovulación para inseminación artificial a tiempo fijo. In: Jornadas de Actualización em Biotecnologías de la Reproducción Bovina – IRAC – 2006, **Anais**, 5p., 2006.
- BARCELLOS, J.O.J. *et al.* Manejo nutricional da novilha de corte até o primeiro acasalamento. In: Simpósio de Reprodução de Bovinos, II, Porto Alegre, RS, 2003. **Anais**. Porto Alegre, v. 1 p.4-27, 2003.
- BARUSELLI, P. S. *et al.* eCG increase ovulation rate and plasmatic progesterona concentration in Nelore (*Bos indicus*) heifers treated with progesterone releasing device. In: 15° Internacional Congress on Animal Reproduction, Porto Seguro, 8-12 de agosto de 2004, **Anais**, v. 1, p. 117, 2004.
- BARUSELLI, P. S. *et al.* Introdução da IATF no manejo reprodutivo de rebanhos bovinos de corte no Brasil. In: VI Simposio Internacional de Reproducción Animal, Córdoba, 24 a 26 de junho de 2005, **Anais**, p. 151-176, 2005.
- BARUSELLI, P. S.; MARQUES, M.O. Programas de sincronização da ovulação em gado de corte. In: I Simpósio de Reprodução Bovina – Sincronização de Estros em Bovinos, Porto Alegre, RS, 2002, **Anais**, p. 41-60, 2002.
- BÓ, G.A.; CUTAIA, L.; VENERANDA, G. Aplicación de programas de inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) en rodeos de cría manejados en condociones pastoriles. In: XXXI Jornadas Uruguayas de Buiatría, Paysandú, Uruguay, 2003. **Anais**, p. 31-40, 2003a.
- BÓ, G.A.; BARUSELLI, P. S.; MARTINEZ, M. F.. Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 78, p. 307-326, 2003b.
- BOYD, L. G. *et al.* Fertility of inseminations with two sperm concentrations in oestrus-synchronized cattle. **Animal Production**, v. 17, p. 163-168, 1973.
- BROGLIATTI, G. *et al.* Primeras aplicaciones del semen sexado en Argentina. In: IV Simpósio Internacional de Reproducción Animal. Huerta Grande, Córdoba, 22 a 24 de junho de 2001, **Anais**, p. 31-38, 2001.
- BURKE, C. R. *et al.* Some effects of prematurely elevated concentrations of progesterone on luteal and follicular characteristics during the oestrous cycle in heifers. **Animal Reproduction Science**, v. 35, p. 27-39, 1994.

- CASTELLANOS, F. *et al.* Estrous expression in dairy cows and heifers (*Bos taurus*) following repeated PGF_{2α} injection and choice of selecting a mounting partner. **Applied Animal Behaviour Science**, v.51, p.29-37, 1997.
- CAVALIERI, J.; HEPWORTH, G.; MACMILLAN, K. L. Ovarian follicular development in Holstein cows following synchronisation of oestrus with oestradiol benzoate and an intravaginal progesterone releasing insert for 5–9 days and duration of the oestrous cycle and concentrations of progesterone following ovulation. **Animal Reproduction Science**, v. 81, p.177-193, 2004.
- COLAZO, M. G. *et al.* Fixed-Time artificial insemination beef cattle using CIDR-B devices, progesterone and estradiol benzoato. **Theriogenology**, v. 51, nº 1, p. 404, 1999.
- CUTAIA, L. *et al.* Programas de Inseminación Artificial a Tiempo Fijo em Rodeos de Cria: Factores que lo Afectan y Resultados Productivos. In: V Simpósio Internacional de Reproducción Animal. Huerta Grande, Córdoba, 27 a 29 de junho de 2003, **Anais**, p. 119-132, 2003a.
- CUTAIA, L. *et al.* Efecto del momento de aplicación de benzoato de estradiol sobre la sincronía, tiempo de ovulación y los porcentajes de preñez em vacas tratadas com dispositivos DIB y PGF2alfa. In: V Simpósio Internacional de Reproducción Animal. Huerta Grande, Córdoba, 27 a 29 de junho de 2003, **Anais**, p. 386, 2003b.
- CUTAIA, L. *et al.* Nuevos avances en programas de sincronizacion de celos en vaquillonas inseminadas a tiempo fijo. In: Jornadas de Actualización em Biotecnologías de la Reproducción Bovina – IRAC – 2006, **Anais**, 7p., 2006.
- FONSECA, V. O. *et al.* Procedimentos para exame andrológico e avaliação de sêmen animal. **Colégio Brasileiro de Reprodução Animal – CBRA**, 79p., 1992.
- GREGORY, R.M. Métodos de sincronização de estros em bovinos. In: I Simpósio de Reprodução Bovina – Sincronização de Estros em Bovinos, Porto Alegre, RS, 2002. **Anais**, p. 18-24, 2002.
- MANTOVANI, A. P. *et al.* Efeito da concentração plasmática de progesterona na dinâmica folicular de novilhas *Bos indicus* x *Bos taurus*. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 32 (suplemento), p. 232, 2004.
- MARQUES, M. O. *et al.* Efeitos da administração de eCG e de benzoato de estradiol para sincronização da ovulação em vacas *Bos taurus taurus* X *Bos taurus indicus* no período pós-parto. In: V Simpósio Internacional de Reproducción Animal. Huerta Grande, Córdoba, 27 a 29 de junho de 2003, **Anais**, p. 392, 2003.
- MARTINEZ, M. F. *et al.* Synchronization of follicular wave emergence and ovulation for reproductive biotechnologies. In: 1º Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada, Londrina, PR, 2004. **Anais**, p. 26-55, 2004.
- MARTINEZ, M. F. *et al.* Effects of oestradiol and some of its esters on gonadotrophin release and ovarian follicular dynamics in CIDR-treated beef cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 86, p. 37-52, 2005.

MORAES, J. C. F. Controle da reprodução em bovinos de corte. In: I Simpósio de Reprodução Bovina – Sincronização de Estros em Bovinos, Porto Alegre, RS, 2002. **Anais**, p. 32-40, 2002.

REIS, E. L. *et al.* Efeitos do cipionato e do benzoato de estradiol na dinâmica folicular e luteínica de vacas nelore. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 32, p. 236, 2004.

ROSS, J. P. *et al.* Estradiol benzoate given 0 or 24 h after the end of a progestagen treatment in postpartum suckled beef cows. **Theriogenology**, v.62, p. 265-273, 2004.

THOMAS, C. A. *et al.* E. Effect of cryopreservation of bovine sperm organelle function and viability as determined by flow cytometry. **Biology of Reproduction**, v. 31, p. 149-164, 1998.

WHITTAKER, P. R. *et al.* New or used CIDR-B devices and estradiol benzoate, with or without progesterone, for fixed-time AI in beef cattle. **Theriogenology**, v. 57, p. 391. 2002. Abstract.

4 CONCLUSÕES

Os resultados do presente trabalho, nas condições em que foi realizado, permitem as seguintes conclusões:

- 1- Fêmeas bovinas submetidas à IATF devem ser inseminadas preferencialmente entre as 54 e 60 horas da retirada do dispositivo de P4. No caso de uma eventual antecipação (IA às 48h), recomenda-se o uso de doses com maior concentração espermática, propiciando um aumento no intervalo, com incremento da taxa de prenhez às 48 horas.
- 2- A taxa de prenhez de novilhas inseminadas a tempo fixo pode ser incrementada utilizando-se maior número de espermatozóides viáveis por dose inseminante.
- 3- Quando se realizam programas de IATF, com protocolos convencionais de sincronização, utilizando animais de genótipo zebuino, resultados menos eficientes podem ser esperados em especial em novilhas.

REFERÊNCIAS

- ANDERSSON, M. *et al.* Effect of insemination with doses of 2 or 15 million frozen-thawed spermatozoa and semen deposition site on pregnancy rate in dairy cows. **Theriogenology**, v. 61, p. 1583-1588, 2004.
- ANUALPEC. **Anuário da Pecuária Brasileira** – FNP, FNP Consultoria & Comércio. São Paulo. 400p., 2003.
- ARRUDA, R. P. *et al.* Importância da qualidade do sêmen em programas de IATF e TETF. In: 1º Simpósio Internacional De Reprodução Animal Aplicada, Londrina, PR, 2004. **Anais**, p. 166-179, 2004.
- AVILÉS, M. *et al.* Sêmen refrigerado o congelado en programas de sincronización de la ovulación para inseminación artificial a tiempo fijo. In: Jornadas de Actualización em Biotecnologías de la Reproducción Bovina – IRAC – 2006, **Anais**, 2006.
- BARCELLOS, J.O.J. *et al.* Manejo nutricional da novilha de corte até o primeiro acasalamento. In: Simpósio de Reprodução de Bovinos, II, Porto Alegre, RS, 2003. **Anais**. Porto Alegre, v. 1 p.4-27, 2003.
- BARROS, C.M. *et al.* Synchronization of ovulation in beef cows (bos indicus) using gnrh, pgf2 α and estradiol benzoate. **Theriogenology**, v. 53, p. 1121-1134, 2000.
- BARUSELLI, P. S. *et al.* Dinâmica folicular em novilhas receptoras de embrião bovino submetidas à sincronização da ovulação para inovulação em tempo fixo. **Arquivos da Faculdade de Veterinária UFRGS**, v. 28, p. 217, 2000.
- BARUSELLI, P. S. *et al.* Efeito de diferentes protocolos de inseminação artificial em tempo fixo na eficiência reprodutiva de vacas de corte lactantes. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v. 26, n. 3, p. 218-221, 2002.
- BARUSELLI, P. S. *et al.* Tratamentos hormonais para melhorar a performance reprodutiva de vacas de cria em anestro em condições tropicais. In: V Simpósio Internacional de Reproducción Animal. Huerta Grande, Córdoba, 27 a 29 de junho de 2003, **Anais**, p. 103-116, 2003a
- BARUSELLI, P. S. *et al.* Effect of eCG on pregnancy rates of lactating zebu beef cow treated with cidr-b devices for timed artificial insemination. **Theriogenology**, v. 59, n° 1, p. 214, 2003b.
- BARUSELLI, P. S. *et al.* Inseminação artificial em tempo fixo em bovinos de corte. In: 1º SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUÇÃO ANIMAL APLICADA, LONDRINA, PR, 2004. **Anais**, p. 155-165, 2004a.
- BARUSELLI, P. S. *et al.* Efeito do tratamento com eCG na taxa de concepção de vacas Nelore com diferentes escores de condição corporal inseminadas em tempo fixo (Análise Retrospectiva). **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 32, p. 228, 2004b.

BARUSELLI, P. S. *et al.* eCG increase ovulation rate and plasmatic progesterone concentration in Nelore (*Bos indicus*) heifers treated with progesterone releasing device. In: 15º Internacional Congress on Animal Reproduction, Porto Seguro, 8-12 de agosto de 2004, **Anais**, v. 1, p. 117, 2004c.

BARUSELLI, P. S. *et al.* Introdução da IATF no manejo reprodutivo de rebanhos bovinos de corte no Brasil. In: VI Simpósio Internacional de Reproducción Animal, Córdoba, 24 a 26 de junho de 2005, **Anais**, p. 151-176, 2005.

BARUSELLI, P. S.; MARQUES, M.O. Programas de sincronização da ovulação em gado de corte. In: I Simpósio de Reprodução Bovina – Sincronização de Estros em Bovinos, Porto Alegre, RS, 2002, **Anais**, p. 41-60, 2002.

BASS, J. F.; MOLAN, P. C.; SHANNON, P. Factors in seminal plasma of bulls that affect the viability and motility of spermatozoa. **J. Reprod. Fertil.**, v. 68, p. 275-280, 1983.

BÓ, G. A. *et al.* Exogenous control of follicular wave emergence in cattle. **Theriogenology**, v. 43, p.31-40, 1995.

BÓ, G. A. *et al.* Implementación de Programas de Inseminación Artificial a Tiempo Fijo en Rodeos de Cria de Argentina. In: VI Simpósio Internacional de Reproducción Animal. Córdoba, 24 ao 26 de junho de 2005, **Anais**, p. 97-128, 2005.

BÓ, G.A.; BARUSELLI, P. S.; MARTINEZ, M. F. Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 78, p. 307-326, 2003a.

BÓ, G.A; CUTAIA, L.; VENERANDA, G. Aplicación de programas de inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) en rodeos de cría manejados en condiciones pastoriles. In: XXXI Jornadas Uruguayas de Buiatría, Paysandú, Uruguay,2003. **Anais**, p. 31-40, 2003b.

BOYD, L. G., SMITH, G. F., WOOD, P. D. P., CRAVEN, J. Fertility of inseminations with two sperm concentrations in oestrus-synchronized cattle. **Animal Production**, v. 17, p. 163-168, 1973.

BROGLIATTI, G. *et al.* Primeras aplicaciones del semen sexado en Argentina. In: IV Simpósio Internacional de Reproducción Animal. Huerta Grande, Córdoba, 22 a 24 de junho de 2001, **Anais**, p. 31-38, 2001.

BURKE, C. R. *et al.* Some effects of prematurely elevated concentrations of progesterone on luteal and follicular characteristics during the oestrous cycle in heifers. **Animal Reproduction Science**, v. 35, p. 27-39, 1994.

CARDOZO, L. D. *et al.* Uso de Acetato de medroxiprogesterona associado ou não ao eCG para sincronização e inseminação artificial a tempo fixo de vacas de corte com cria ao pé. In: XV Salão de Iniciação Científica UFRGS, Porto Alegre, **Anais**, p.213, 2003.

CASTELLANOS, F. *et al.* Estrous expression in dairy cows and heifers (*Bos taurus*) following repeated PGF_{2α} injection and choice of selecting a mounting partner. **Applied Animal Behaviour Science**, v.51, p.29-37, 1997.

CAVALIERI, J.; HEPWORTH, G.; MACMILLAN, K. L. Ovarian follicular development in Holstein cows following synchronisation of oestrus with oestradiol benzoate and an intravaginal progesterone releasing insert for 5–9 days and duration of the oestrous cycle and concentrations of progesterone following ovulation. **Animal Reproduction Science**, v. 81, p.177-193, 2004.

CHRISTIAN, R. E., CASIDA, L. E. The effects of progesterone in altering the oestrus cycle of the cow. **Journal of Animal Science**, v. 7, p. 540, 1948.

CUTAIA, L. *et al.* Programas de Inseminación Artificial a Tiempo Fijo em Rodeos de Cria: Factores que lo Afectan y Resultados Productivos. In: V Simpósio Internacional de Reproducción Animal. Huerta Grande, Córdoba, 27 a 29 de junho de 2003, **Anais**, p. 119-132, 2003a.

CUTAIA, L. *et al.* Efecto del momento de aplicación de benzoato de estradiol sobre la sincronía, tiempo de ovulación y los porcentajes de preñez em vacas tratadas com dispositivos DIB y PGF2alfa. In: V Simpósio Internacional de Reproducción Animal. Huerta Grande, Córdoba, 27 a 29 de junho de 2003, **Anais**, p. 386, 2003b.

CUTAIA, L. *et al.* Nuevos avances en programas de sincronizacion de celos en vaquillonas inseminadas a tiempo fijo. In: Jornadas de Actualización em Biotecnologías de la Reproducción Bovina – IRAC – 2006, **Anais**, 7p., 2006.

DIELEMAN, S. J. *et al.* Peripheral plasma concentrations of estradiol, progesterone, cortisol, LH and prolactin during the estrous cycle in the cow, with emphasis on the peri-oestrus period. **Animal Reproduction Science**, v. 10, p. 275-292, 1986.

DRIANCOURT, M. A. Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals. Implications for manipulation of reproduction. **Theriogenology**, v. 55, p. 1211-1239, 2001.

FONSECA, V. O. *et al.* Procedimentos para exame andrológico e avaliação de sêmen animal. **Colégio Brasileiro de Reprodução Animal – CBRA**, 79p., 1992.

GALINA, C. S.; ORIHUELA, A.; BUBIO, I. Behavioural trends affecting oestrus detection in Zebu cattle. *Anim. Reprod. Sci.*, v. 42, p. 465-470, 1996.

GINTHER, O. J.; KASTELIC; J. P., KNOFF, L. Composition and characteristics of follicular waves during the bovine estrous cycle. **Animal Reproduction Science**, v. 20, p. 187-200, 1989.

GONÇALVES, V. C. **Efeito da associação de diferentes doses de gonadotrofina coriônica (eCG) no tratamento com progestágeno e estrógeno sobre a fertilidade de vacas de corte.** Dissertação Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul – Faculdade de Veterinária, 54 p, 2001.

- GORDON, J. K., HAMISH, A. R. A two injection schedule with prostaglandin F2alfa for the regulation of the ovulatory cycle of cattle. **Theriogenology**, v. 1, p. 123-128, 1974. Abstract.
- GREGORY, R.M. Métodos de sincronização de estros em bovinos. In: I Simpósio de Reprodução Bovina – Sincronização de Estros em Bovinos, Porto Alegre, RS, 2002. **Anais**, p. 18-24, 2002.
- HAFEZ, E. S. E., **Reproduction in farm animal**. 6 ed. Philadelphia, Lea & Febiger, 585p. 1993.
- HUNTER, R. H. F.; LÉGLISE, P. C. Polyspermic fertilization following tubal surgery in pigs, with particular reference to the rôle of the isthmus. **J. Reprod. Fert.** 1971, v. 24, p. 233-246.
- HUNTER, R. H. F.; WILMUT, I. The rate of functional sperm transport into the oviducts of mated cows. **Animal Reproduction Science**, v. 5, nº3, p. 167-173, 1983.
- KURYKIN, J. *et al.* Pregnancy percentage following deposition of sex-sorted sperm at different sites within the uterus in estrus-synchronized heifers. **Theriogenology**, v. 67, p. 754-759, 2007.
- MacMILLAN, K. L., CURNOW, R. J., MORRIS, G. R. Oestrus synchronization with prostaglandin analogue: II Sistem in maiden heifers. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 26, p. 96-103, 1978.
- MacMILLAN, K. L., *et al.* Effects of benzil alcohol on the bovine oestrus cycle and subsequent fertility. **Theriogenology**, v. 1, p. 1-5, 1974. Abstract.
- MACMILLAN, K. L.; THATCHER, W. W. Effects of an agonist of gonadotropin-releasing hormone on ovarian follicles in cattle. *Biology of Reproduction*, Vol 45, 883-889, 1991. Abstract.
- MANTOVANI, A. P. Efeito da concentração plasmática de progesterona na dinâmica folicular de novilhas *Bos indicus* x *Bos taurus*. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 32 (suplemento), p. 232, 2004.
- MARQUES, M. O. *et al.* Efeitos da administração de eCG e de benzoato de estradiol para sincronização da ovulação em vacas *Bos taurus taurus* X *Bos taurus indicus* no período pós-parto. In: V Simpósio Internacional de Reproducción Animal. Huerta Grande, Córdoba, 27 a 29 de junho de 2003, **Anais**, p. 392, 2003.
- MARTINEZ, M. F. *et al.* Synchronization of follicular wave emergence and ovulation for reproductive biotechnologies. In: 1º Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada, Londrina, PR, 2004. **Anais**, p. 26-55, 2004.
- MARTINEZ, M. F. *et al.* Effects of oestradiol and some of its esters on gonadotrophin release and ovarian follicular dynamics in CIDR-treated beef cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 86, p. 37-52, 2005.

MIES FILHO, A. **Reprodução dos Animais**. 6º ed., 2v., Porto Alegre-RS, Sulina, 1987. 765p.

MIZUTA, K. **Estudo comparativo dos aspectos comportamentais do estro e dos teores plasmáticos de LH, FSH, Progesterona e Estradiol que precedem a ovulação em fêmeas bovinas Nelore (*Bos taurus indicus*), Angus (*Bos taurus taurus*) e Nelore x Angus (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*)**. São Paulo, 2003, 98p. Tese (Doutorado em Reprodução Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Departamento Animal – Universidade de São Paulo.

MORAES, J. C. F. Controle da reprodução em bovinos de corte. In: I Simpósio de Reprodução Bovina – Sincronização de Estros em Bovinos, Porto Alegre, RS, 2002. **Anais**, p. 32-40, 2002.

NEVES, J. P.; OLIVEIRA, M. A. L. Sincronização do ciclo estral em fêmeas nulíparas da raça charolesa com prostaglandina F2 α análogo (cloprostenol) por via intramuscular. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, v. 3, p. 7-11, 1980.

PATTERSON, D. J. *et al.* Current and emerging methods to synchronize estrus with melengestrol acetate (MGA). Proceedings 49th Annual Beef Cattle Short Course, Gainesville Florida, USA, **Anais**, p. 45-55, 2000.

PENTEADO, L. *et al.* Efeito eCG e do desmame temporário na taxa de prenhez de vacas Nelore lactantes inseminadas em tempo fixo. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 32 (suplemento), p. 223, 2004.

PIMENTEL, C. A. Fisiologia e endocrinologia da reprodução da fêmea bovina. In: Simpósio de Reprodução de Bovinos, I, Porto Alegre, RS, 2002. **Anais**. Porto Alegre, v.1, Anexo, 5p., 2002.

PINHEIRO, O. L. *et al.* Estrous behavior and the estrus-to-ovulation interval in nelore cattle (*Bos indicus*) with natural estrus or estrus induced with prostaglandin F2 α or norgestomet and estradiol valerate. **Theriogenology** v. 49, p. 667 - 681. 1998. Abstract.

PURSLEY, J. R.; MEE, M. O.; WILTBANK, M. C. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF_{2 α} and GnRH. **Theriogenology**, v. 44, p. 915-923, 1995.

PURSLEY, J. R.; SILCOX, R. W.; WILTBANK, M. C. Effect of time of artificial insemination on pregnancy rates, calving rates, pregnancy loss, and gender ratio after synchronization of ovulation in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 81, p. 2139-2144, 1998. Abstract.

PURSLEY, J. R. *et al.* Pregnancy rates per artificial insemination for cows and heifers inseminated at a synchronized ovulation or synchronized estrus. **Journal of Dairy Science**, v. 80, p. 295-300, 1997.

ROCHA, D. C. *et al.* Condição corporal, escore genital, peso e taxa de prenhez de novilhas de corte sincronizadas com cidr-b e inseminadas a tempo fixo. In: XXIX Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária – COMBRAVET, 2002, Gramado - RS, **Anais**. 2002.

- ROCHA, D. C. *et al.* Inseminação artificial a tempo fixo com diferentes progestágenos. In: XVI Congresso Estadual de Medicina Veterinária. Passo Fundo, RS, 1-5 de junho de 2004, **Anais**, p.168, 2004.
- REIS, E. L. *et al.* Efeitos do cipionato e do benzoato de estradiol na dinâmica folicular e luteínica de vacas nelore. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 32, p. 236, 2004.
- ROSS, J. P. *et al.* Estradiol benzoate given 0 or 24 h after the end of a progestagen treatment in postpartum suckled beef cows. **Theriogenology**, v.62, p. 265-273, 2004.
- ROWSON, L. E. A.; TERVIT, R.; BRAND, A. The use of prostaglandin for synchronization of estrus in cattle. **J. Reprod. Fertil.**, v.29, p. 145, 1972.
- SARTORI, R. Fertilização e morte embrionária em bovinos. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 32 (Suplemento), p. 35-50. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões, 18. 26 a 29 de agosto de 2004. Barra Bonita , SP, Brasil. Porto Alegre: UFRGS, 2004.
- SAVIO, J. D. *et al.* Effects of induction of low plasma progesterone concentrations with a progesterone-releasing intravaginal device on follicular turnover and fertility in cattle. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 98, p. 77-84, 1993.
- THATCHER, W. W., *et al.* Concepts for regulation of corpus luteum function by the conceptus and ovarian follicles to improve fertility. **Theriogenology**, v. 57, p. 21-53, 1989.
- THOMAS, C. A. *et al.* E. Effect of cryopreservation of bovine sperm organelle function and viability as determined by flow cytometry. **Biology of Reproduction**, v. 31, p. 149-164, 1998.
- UFRGS.IEPE. **Diagnóstico de Sistemas de Produção de Bovinocultura de Corte do Estado do Rio Grande do Sul** [Porto Alegre], 2005. 265p.
- WILTBANK, J. N.; GÜMEN, M. C.; SARTORI, R. Physiological classification of anovulatory conditions in cattle. **Theriogenology**, v. 57, p. 21-53, 2002.
- WILTBANK, J. N.; KASSON, C. W. Synchronization of estrus in cattle with an oral progestational agent and an injection of an estrogen. **Journal of Animal Science**, v. 27, p. 113-116, 1968.
- WISHART, D. F. Synchronisation of oestrus in cattle using a potent progestin (SC21009) and PGF2alfa. **Theriogenology**, v. 1, p. 87-90, 1974. Abstract.
- WHITTAKER, P. R. *et al.* New or used CIDR-B devices and estradiol benzoate, with or without progesterone, for fixed-time AI in beef cattle. **Theriogenology**, v. 57, p. 391. 2002. Abstract.

R175e Rocha, Dimas Corrêa

Efeito da concentração do sêmen e horário de inseminação artificial a tempo fixo sobre a taxa de prenhez em fêmeas bovinas de corte / Dimas Corrêa Rocha; orient. Ricardo Macedo Gregory. – Porto Alegre, 2007.

54 f. : il. color.

Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Veterinária. Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, 2007.

Inclui resumo em Português e Inglês.

Inclui artigo de mesmo título: f. 29-47.

1. Inseminação artificial : veterinária. 2. Procriação. 3. Prenhez. 4. Sêmen. 5. Fatores de tempo. 6. Taxas, razões e proporções. 7. Bovinos. I. Gregory, Ricardo Macedo. II. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. III. Título. IV. Título: Effect of semen concentration and moment of fixed timed insemination on pregnancy results in beef cattle females [abstract].

Limites: Animais. Feminino.

CDD – 619.38 NLM – SF 105.5

Catálogo por Celina Leite Miranda (CRB-10/837).