

**UFRRJ**  
**INSTITUTO DE VETERINÁRIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA**  
**VETERINÁRIA**

**DISSERTAÇÃO**

**Análise Morfométrica de Útero e Ovários e sua Relação com a**  
**Fertilidade de Novilhas Girolandas Submetidas a um**  
**Programa de IATF**

**Lara Nogueira Silenciato**

**2017**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA  
VETERINÁRIA**

**ANÁLISE MORFOMÉTRICA DE ÚTERO E OVÁRIOS E SUA  
RELAÇÃO COM A FERTILIDADE DE NOVILHAS  
GIROLANDAS SUBMETIDAS A UM PROGRAMA DE IATF**

**LARA NOGUEIRA SILENCIATO**

*Sob a Orientação do Professor*  
**Marco Roberto Bourg de Mello**

*e Co-orientação dos*  
*Professores* **Helcimar**  
**Barbosa Palhano e**  
**Andressa Ferreira da Silva**

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Medicina Veterinária**, no Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária.

Seropédica, RJ  
Julho de 2017

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S581a Silenciato, Lara Nogueira, 1992-  
Análise Morfométrica de Útero e Ovários e sua  
Relação com a Fertilidade de Novilhas Girolandas  
Submetidas a um Programa de IATF / Lara Nogueira  
Silenciato. - 2017.  
30 f.: il.

Orientador: Marco Roberto Bourg Mello.  
Coorientador: Helcimar Barbosa Palhano.  
Dissertação(Mestrado). -- Universidade Federal  
Rural do Rio de Janeiro, PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
MEDICINA VETERINÁRIA, 2017.

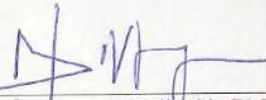
1. Bovinocultura . 2. Novilhas Girolando. 3.  
Puberdade. 4. Maturidade sexual. I. Mello, Marco  
Roberto Bourg, 1971-, orient. II. Palhano, Helcimar  
Barbosa, 1963-, coorient. III Universidade Federal  
Rural do Rio de Janeiro. PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
MEDICINA VETERINÁRIA. IV. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE MEDICINA VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

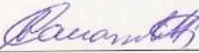
LARA NOGUEIRA SILENCIATO

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências, no Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, área de Concentração em Patologia Animal.

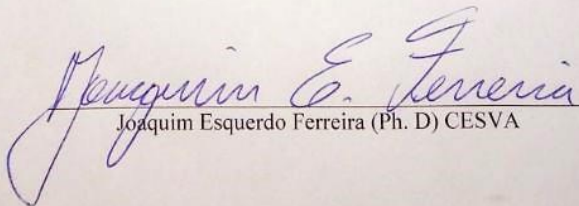
DISSERTAÇÃO APROVADA EM 14/07/2017



Marco Roberto Bourg de Mello (Ph. D) UFRRJ  
(orientador)



Sérgio Trabáli Camargo Filho (Ph. D) PESAGRO-RIO



Joaquim Esquerdo Ferreira (Ph. D) CESVA

## BIOGRAFIA

LARA NOGUEIRA SILENCIATO, filha de Jodair Silenciato e Ângela Aparecida Nogueira; Nasceu em 24 de junho de 1992 na cidade de São Sebastião do Paraíso, Minas Gerais. cursou a 5ª e 6ª series do ensino fundamental na Escola Núcleo Educacional São Francisco de Assis (NESFA) entre 2003 e 2004; e a 7ª e 8ª do ensino fundamental na Escola Estadual Paraisense, entre 2005 e 2006; o ensino médio foi cursado na Escola Estadual Benedito Ferreira Calafiore entre os anos 2007 a 2009; Ambas as escolas situam-se em São Sebastião do Paraíso, Minas Gerais.

Ingressou no curso de graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro em agosto de 2010, concluindo-o em agosto de 2015. Durante a graduação, realizou estágio na área de Reprodução Bovina, no setor de Reprodução e Avaliação Animal, do Instituto de Zootecnia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro sob a orientação do professor Doutor Marco Roberto Bourg de Mello no ano de 2010; Realizou monitoria no Instituto de Biologia na UFRRJ, na disciplina de Química Fisiológica no ano de 2013. Realizou estágio na área de bovinocultura leiteira, no setor de bovinocultura da UFRRJ sob a orientação do professor Doutor Helcimar Barbosa Palhano no ano de 2014 e ainda realizou Iniciação Científica sob a orientação da professora Doutora Andressa Ferreira da Silva no Departamento de Clínica e Cirurgia de Animais do Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro no ano de 2015.

Realizou Pós-Graduação *lattus Senso* em Produção Animal, no Instituto Federal do Sul de Minas, campus em Machado, Minas Gerais, entre os anos de 2014-2016.

Ingressou no Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, nível Mestrado, na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, sob a orientação do professor Doutor Marco Roberto Bourg de Mello, em agosto de 2015, recebendo bolsa CAPES.

## AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a Deus por ter me guiado a conquistar todas essas vitórias na minha vida, por me dar forças para superar todos os obstáculos que apareceram ao longo do caminho e fé para nunca desistir.

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro que me proporcionou realizar a graduação em Medicina Veterinária e agora a Pós-Graduação na mesma área, me tornando uma pessoa e profissional melhor.

Aos meus pais, Jodair Silenciato e Ângela Aparecida Nogueira, e aos meus irmãos Diego Nogueira Silenciato e Livia Nogueira Silenciato por me ajudarem a conquistar meu diploma da graduação e agora durante a pós-graduação apesar de todas as dificuldades e a distância.

Ao meu orientador Prof. Dr. Marco Roberto Bourg de Mello por me ajudar durante a graduação e pós-graduação que me proporcionou um grande crescimento intelectual e pessoal, e pela amizade durante esses anos.

Aos meus coorientadores Prof. Dr. Helcimar Barbosa Palhano e Profa. Dra. Andressa Ferreira da Silva por me ajuda de diversas formas durante a graduação e pós-graduação.

Aos Professores do setor de Reprodução e Avaliação Animal, Três, Vera e Júlio por me ajudarem ao longo deste período.

Aos funcionários setor de Reprodução e Avaliação Animal, Orozimbo (Sr. Zico), José (Zezinho) e Reneu por me ajudarem todo esse tempo e pela amizade.

A todos os funcionários da PESAGRO-RIO principalmente, Dr. Osvaldo Almeida Resende, Dr. Sérgio Trabalí Camargo Filho e Carlos Machado Ribeiro e por me ajudar e tornar possível a execução deste trabalho.

Ao Joaquim Esquerdo Ferreira pela extrema ajuda, conversas em todos esses anos e principalmente para realização deste trabalho e pela amizade.

À colega Otávia Reis e Silva pela ajuda e conversas para realização deste trabalho.

A todos os orientados, estagiários, amigos e colegas do setor de Reprodução e Avaliação Animal que colaboram na realização do trabalho.

## RESUMO

SILENCIATO, Lara Nogueira. **Análise morfométrica de útero e ovários e sua relação com a fertilidade de novilhas Girolandas submetidas a um programa de IATF.** 2017. 30p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Instituto de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2017.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a influência do grau de desenvolvimento uterino e ovariano na fertilidade de novilhas Girolandas submetidas a um protocolo de Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF). Para tanto, foram utilizadas 56 novilhas Girolandas com Escore de Condição Corporal (ECC) variando de 2,5 a 3,5, com média de idade de 26 meses e média de peso vivo de 379 Kg. Esses animais passaram por uma avaliação ginecológica prévia ao início do protocolo de IATF, e com o auxílio da ultrassonografia, foi realizada a medida do diâmetro dos cornos uterinos e dos ovários, além de avaliar a presença de estruturas como corpo lúteo (CL), folículos >8mm (FL) e folículos <8mm (SE). De acordo com os valores encontrados para os diâmetros uterino e ovariano, estes foram classificados em escores de 1 a 3. Após a avaliação ginecológica, todos os animais foram submetidos a um mesmo protocolo de IATF, que consistiu em um dispositivo intravaginal com 1g de progestágeno (P4) de 3º uso, 2mg de benzoato de estradiol e 500µg de cloprostenol, sendo este considerado o dia 0 (D0). No D8 receberam 500µg de cloprostenol sendo o dispositivo de P4 removido. No D10, 48h após a remoção do dispositivo, foram aplicados 10 microgramas de GnRH sendo realizada a IATF no mesmo momento. O diagnóstico de gestação foi realizado pela ultrassonografia, 30 dias após a IATF. As taxas de prenhez foram analisadas pelo teste qui-quadrado com 5% de significância. As taxas de prenhez foram de 63,6%, 64% e 78% para os escores uterinos 1, 2 e 3, respectivamente, não sendo observada diferença estatística ( $p>0,05$ ). Para os escores ovarianos 1, 2 e 3 foram observadas taxas de prenhez de 61,1%, 75% e 57%, respectivamente, também não sendo observada diferença estatística ( $p>0,05$ ). A porcentagem de animais em anestro (acíclicos) dentro dos escores ovarianos 1, 2 e 3, foram de 83,3%, 37,5% e 42,8%, respectivamente, sendo observada diferença estatística ( $p:0,0084$ ). As taxas de prenhez em relação às estruturas CL, FL, SE foram: 69,2%, 66,7%, 50% respectivamente, não sendo observada diferença estatística ( $p>0,05$ ). As taxas de prenhez relacionadas ao ECC foram de 85,7%; 62,5% e 64,7% para os escores 2,5, 3 e 3,5, respectivamente, não sendo observada diferença estatística ( $p>0,05$ ). Para peso corporal, as taxas de prenhez foram de 75%, 77,2% e 44,4% para animais com peso entre 315- 350kg, 350-400kg,  $\geq 400$ kg, respectivamente, não sendo observada diferença estatística ( $p>0,05$ ). As taxas de prenhez relacionadas à idade foram de 81,4%, 63,1%, 30% para o intervalo de idade de  $\leq 24$ ,  $24 < I \leq 30$ ,  $\geq 30$  meses, respectivamente, sendo observada diferença estatística ( $p:0,0127$ ). Observou-se no presente estudo uma correlação negativa ( $p:0,0416$ ) entre os diâmetros ovariano e diâmetro uterino, e uma outra correlação positiva ( $p<0,0001$ ) entre o peso e idade dos animais. Conclui-se desta maneira que o desenvolvimento uterino e ovariano não interferiu na fertilidade de novilhas Girolandas nas condições do presente experimento. Assim sendo, a avaliação ultrassonográfica do diâmetro uterino e ovariano de novilhas nessas condições não se faz necessária.

**Palavras-chave:** Ultrassonografia, Desenvolvimento trato reprodutivo, Nulíparas.

## ABSTRACT

SILENCIATO, Lara Nogueira. **Morphometric analysis of uterus and ovaries and their relation to fertility of Girolando heifers submitted to TAI Program.** 2017. 30p. Dissertation (Master in Veterinary Medicine). Institute of Veterinary Medicine, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2017.

The objective of this study was to evaluate the influence of the degree of uterine and ovarian development on the fertility of Girolando heifers submitted to a Timed Artificial Insemination (TAI) protocol. For this, 56 Girolando Heifers with Body Condition Score (BCS) ranging from 2.5 to 3.5 were used, with a mean age of 26 months and a mean weight of 379 kg. These animals were submitted to a gynecological evaluation prior to the initiation of the TAI protocol and, with the aid of ultrasonography, the measurement of the diameter of the uterine horns and ovaries was performed, as well as the presence of structures such as corpus luteum (CL), follicles > 8mm (FL) and follicles <8mm (SE). According to the values found for uterine and ovarian diameters, these were classified in scores from 1 to 3. After the gynecological evaluation, all the animals were submitted to the same TAI protocol, which consisted of an intravaginal device with 1g of progesterone (P4) of 3rd use, 2mg of estradiol benzoate and 500µg of cloprostenol, which was considered the day 0 (D0). At D8, they received 500µg of cloprostenol and the P4 device was removed. At the D10, 48h after removal of the device, 10 micrograms of GnRH were applied and the TAI was performed at the same time. The pregnancy diagnosis was performed by ultrasonography, 30 days after the TAI. Pregnancy rates were analyzed by the chi-square test with 5% significance. Pregnancy rates were 63.6%, 64% and 78% for uterine scales 1, 2 and 3, respectively, and no statistical difference was observed ( $p>0.05$ ). Pregnancy rates of 61.1%, 75% and 57% were also observed for ovarian scores 1, 2 and 3, respectively, and no statistical difference was observed ( $p>0.05$ ). The percentage of animals in anestrus (acyclic) within ovarian scales 1, 2 and 3, were 83.3%, 37.5% and 42.8%, respectively, with a statistical difference ( $f: 9.55$ ). The pregnancy rates for CL, FL, SE were: 69.2%, 66.7%, 50% respectively, and no statistical difference was observed ( $p:0.0084$ ). Pregnancy rates related to BCS were 85.7%; 62.5% and 64.7% for scores 2.5, 3 and 3.5, respectively, and no statistical difference was observed ( $p>0.05$ ). For body weight, pregnancy rates were 75%, 77.2% and 44.4% for animals weighing 315-350kg, 350-400kg,  $\geq 400$ kg, respectively, with no statistical difference ( $p>0,05$ ). The age-related pregnancy rates were 81.4%, 63.1%, 30% for the age range of  $\leq 24$ ,  $24 < I \leq 30$ ,  $\geq 30$  months, respectively, with a statistical difference ( $p:0.0127$ ). A negative correlation ( $p=0.0416$ ) between ovarian and uterine diameters was observed in the present study, and another positive correlation ( $p<0.0001$ ) between the weight and age of the animals was observed. It was concluded in this way that, the uterine and ovarian development did not interfere in the fertility of Girolando heifers under the conditions of the present experiment. Therefore, the ultrasound evaluation of the uterine and ovarian diameter of heifers in these conditions is not necessary.

**Key words:** Ultrasonography, Reproductive tract development, Nulliparous.



## LISTA DE FIGURAS E TABELAS

<b>Figura 1:</b> Fêmeas Girolandas após o exame ginecológico e início do protocolo de IATF .....	12
<b>Figura 2:</b> Imagem ultrassonográfica de corte transversal dos cornos uterinos logo após a bifurcação. ....	12
<b>Figura 3:</b> Imagem ultrassonográfica do ovário com a presença de um corpo lúteo (CL) e um folículo (FL). ....	13
<b>Figura 4:</b> Tratamento hormonal para a realização da IATF. ....	14
<b>Figura 5:</b> Correlação entre peso corporal (PC) e Idade. ....	20
<b>Tabela 1:</b> Valores dos escores uterinos e ovarianos. ....	13
<b>Tabela 2:</b> Efeito do escore uterino na taxa de prenhez de novilhas Girolandas submetidas a um programa de IATF. ....	15
<b>Tabela 3:</b> Efeito do escore ovariano na taxa de prenhez e na ciclicidade de novilhas Girolandas submetidas a um programa de IATF. ....	16
<b>Tabela 4:</b> Efeito da condição ovariana na taxa de prenhez de novilhas Girolandas submetidas a um programa de IATF. ....	17
<b>Tabela 5:</b> Efeito do escore de condição corporal na taxa de prenhez de novilhas Girolandas submetidas a um programa de IATF. ....	18
<b>Tabela 6:</b> Efeito do peso corporal na taxa de prenhez de novilhas Girolandas submetidas a um programa de IATF. ....	18
<b>Tabela 7:</b> Taxa de prenhez de novilhas Girolandas submetidas a um programa de IATF e classificadas de acordo com a sua idade. ....	19

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>2. REVISÃO LITERATURA</b> .....	1
2.1. Anatomia e Fisiologia do Aparelho Genital de Fêmeas Bovinas .....	1
2.1.2. Principais hormônios da reprodução.....	2
2.1.3. Ciclo ovariano.....	3
2.1.4. Morfologia e função uterina .....	5
2.2. Puberdade .....	5
2.2.1. Fisiologia da puberdade.....	6
2.2.2. Fatores que influenciam a puberdade .....	7
2.2.3. Uso da ultrassonografia na avaliação da puberdade .....	8
2.3. Fertilidade em Novilhas.....	9
2.4. Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF) .....	10
<b>3. METODOLOGIA</b> .....	11
3.1. Local do Experimento e Período .....	11
3.2. Animais e Manejo.....	11
3.3. Pesagem dos Animais .....	12
3.4. Avaliação Ginecológica.....	12
3.4.1. Avaliação ultrassonográfica dos cornos uterinos .....	12
3.4.2. Avaliação dos ovários.....	13
3.5. Estratificação dos Escores .....	13
3.6. Sincronização da Ovulação, IATF e Diagnóstico de Gestação .....	13
3.7. Delineamento Experimental e Análise Estatística.....	14
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	15
<b>5. CONCLUSÃO</b> .....	20
<b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	21
<b>7. ANEXOS</b> .....	29

## **1. INTRODUÇÃO**

Nos dias atuais, a demanda por proteína de origem animal vem aumentando, assim como o aumento da população, de maneira que há a necessidade de aumentar a eficiência na produção dos rebanhos bovinos, aumentando conseqüentemente o produto final, seja ele, carne ou leite. Nesse sentido é de extrema relevância o aumento da eficiência reprodutiva destes animais, a fim de aumentar a produção devido à relação direta desses parâmetros.

Associado ao aumento da demanda por alimentos tem se uma situação econômica da pecuária mundial exigindo uma alta produtividade como garantia de retorno do capital investido. Tendo em vista que a reprodução animal é um dos alicerces da cadeia produtiva, sua eficiência deve ser monitorada visando maximizar o desfrute, garantindo o retorno econômico do capital investido.

Neste sentido, uma alternativa para otimizar a eficiência reprodutiva de um rebanho é lançar mão de biotécnicas aplicadas à reprodução com intuito de antecipar a puberdade de novilhas, diminuir o intervalo de partos, melhorar os índices reprodutivos, agregar valor genético ao rebanho e conseqüentemente aumentar no geral a eficiência reprodutiva deste rebanho como um todo. Porém nenhuma técnica resiste a uma má implantação, ou seja, para que ela tenha um bom resultado, é necessário um bom manejo sanitário e nutricional.

A Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF) é uma das biotécnicas da reprodução que auxilia no manejo reprodutivo de fêmeas bovinas e proporciona diversas vantagens dentre as quais se destacam: aumento da taxa de serviço e conseqüentemente da taxa de prenhez, otimização da mão de obra, planejamento e concentração da estação de monta e futuramente dos partos, diminuição do período de serviço e do intervalo de partos. Além de antecipar a puberdade de novilhas e em alguns casos induzir a ciclicidade de fêmeas em anestro.

Um aspecto de extrema importância na bovinocultura são as fêmeas do rebanho para reposição. Sendo assim, a reprodução desta classe de animais também se torna relevante, uma vez que elas só começaram a produzir após atingirem a puberdade, iniciando a vida reprodutiva, apresentando um cio fértil, ficando gestantes e chegando a parturição.

Alguns fatores são importantes nessa categoria de novilhas pré-púberes, tais como: peso, idade que irão atingir a puberdade, precocidade e fertilidade. Esses fatores sofrem grande interferência da genética, raça e principalmente do manejo ao qual estão sendo submetidas. Para tal é de fundamental importância o conhecimento da fisiologia reprodutiva assim como a utilização de hormônios em programas de Inseminação Artificial em Tempo Fixo que possam antecipar a puberdade e a maturidade sexual desses animais aumentando a eficiência reprodutiva dos mesmos.

Neste sentido, o objetivo do presente trabalho foi avaliar com auxílio da ultrassonografia, a influência do grau de desenvolvimento uterino e ovariano sobre a taxa de prenhez de novilhas Girolandas submetidas a um protocolo de IATF.

## **2. REVISÃO LITERATURA**

### **2.1. Anatomia e Fisiologia do Aparelho Genital de Fêmeas Bovinas**

#### **2.1.1. Anatomia do aparelho genital**

De modo geral o sistema reprodutivo das fêmeas bovinas é composto pelos ovários,

órgãos sexuais primários dotados de funções endócrinas e gamatogênicas, apresentando em média, três a quatro centímetros de comprimento, dois a três centímetros de largura e um centímetro e meio de espessura em sua parte mais larga, com peso variando entre 15 a 20 gramas nas fêmeas adultas. Artérias e veias ovarianas estão envolvidas com a sua vascularização e nervos derivados do plexo renal e aórtico abdominal com a sua inervação (PALHANO, 2008). Foi observado também que há uma diferença na mensuração e no peso de ovários de vacas e novilhas, onde os ovários das vacas são maiores e mais pesados do que de novilhas, além de ter mais tecido cortical do que medular e nas novilhas ter mais tecido medular do que cortical (MONTEIRO et al., 2008).

Os ovidutos, ou tubas uterinas assim como o útero são órgãos reprodutivos acessórios de formato tubular e oco classificado como bipartido, apresentando dois cornos, um corpo uterino e uma cérvix, cuja vascularização se dá pelas artérias e veias uterinas, ramos uterinos das artérias e veias ovarianas (PANSANI & BELTRAN, 2009).

Os ovidutos apresentam um formato sinusóide, sua função é de captar e conduzir o óvulo e depois da fecundação, encaminhar o zigoto para o útero, sendo divididos em três segmentos: infundíbulo, ampola e ístmo. O infundíbulo capta os óvulos logo após a ovulação, através das fimbrias. A ampola é a porção mais dilatada do oviduto onde ocorre a fertilização. O ístmo ocorre à estocagem e capacitação espermática, além da manutenção dos embriões até que atinjam o estágio de blastocisto. Os óvulos fertilizados são transportados para o útero por contrações musculares peristálticas e pelos cílios da tuba uterina (PANSANI & BELTRAN, 2009).

Com relação ao útero a sua principal função é abrigar, nutrir e proteger o embrião e posteriormente o feto, mas também participa do transporte de espermatozoide e da regulação da função do corpo lúteo (CL), através da liberação de prostaglandina (PANSANI & BELTRAN, 2009). A cérvix ou colo representa a porção final do útero e situa-se cranialmente a vagina. Ela contém uma estrutura de anéis fibroelásticos, conferindo proteção para o ambiente uterino durante a gestação (PANSANI & BELTRAN, 2009). Seu tamanho, forma e espessura são diferentes em cada fêmea (BALL & PETERS, 2006).

A vagina é dividida anatomicamente em uma parte cranial ocupada pela cérvix, observando-se a formação do fórnice vaginal pela sua projeção, e uma parte caudal sendo continuada pelo vestíbulo, local de abertura das glândulas vestibulares e do óstio uretral externo. Nas novilhas nulíparas, a prega himenal delimita a vagina e o vestíbulo. Sua vascularização é proveniente das artérias e veias ramos das pudendas internas. A vulva completa o aparelho genital, sendo constituída por um formato de fenda vertical marginada por dois lábios arredondados proeminentes, estando localizada ventralmente à abertura anal. As estruturas internas são sustentadas pelo ligamento largo do útero que promove a estática uterina: ligamento mesovário que sustenta o ovário; mesossalpinge que ancora o oviduto. Nervos autônomos inervam o ovário, o oviduto e o útero, enquanto as fibras sensitivas e parassimpáticas do nervo pudendo atendem a vagina, vulva e clitóris (FEITOSA, 2000; HAFEZ & HAFEZ, 2004; BALL & PETERS, 2006; PALHANO, 2008).

### **2.1.2. Principais hormônios da reprodução**

O ciclo estral é resultado da interação entre os tecidos do sistema nervoso central, hipotálamo-hipófise, ovário e útero, formando o eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal. Esta comunicação ocorre principalmente mediante os hormônios Liberador de Gonadotrofina (GnRH) produzido no hipotálamo, que estimula a liberação do Hormônio Luteinizante (LH) e Folículo estimulante (FSH) ambos proveniente da adenohipófise (LIMA-VERDE et al., 2011). Já o estradiol (E2) e a progesterona (P4) são oriundos de

estruturas ovarianas, folículo e corpo lúteo, respectivamente, sendo o E2 o responsável por regular a ciclicidade reprodutiva devido a estimulação do pico de GnRH, e a P4 controla a duração do ciclo estral, por modificar a resposta do sistema neurosecretório do GnRH ao estradiol. Participa ainda, ativamente dos eventos reprodutivos, a prostaglandina F2 $\alpha$  produzida e secretada pelo útero, com função luteolítica (HAFEZ & HAFEZ, 2004; PALHANO et al. 2008).

O GnRH é produzido por neurônios secretores que estão localizados no hipotálamo basal medial. O padrão cíclico de atividade destes neurônios GnRHérgicos é dependente das variações nos níveis circulantes de estrógenos. Quando liberado, o GnRH penetra diretamente os vasos do sistema porta-hipofisário e chega à hipófise anterior, onde se liga a um receptor nas células gonadotróficas hipofisárias que secretam LH e FSH (ABREU, 2006).

As ações estimulatórias e inibitórias de esteroides e neurotransmissores regulam a secreção do GnRH, isso ocorre para modificar a secreção pulsátil intrínseca dos neurônios do GnRH. *In vivo*, o padrão de pulsos do GnRH varia fisiologicamente em função do status hormonal e estágio do ciclo reprodutivo (BÉDÉCARRATS & KAISER, 2003).

O FSH é produzido pela adenohipófise (ou pituitária), sendo secretado em resposta ao GnRH. Seus efeitos nos ovários são: desenvolvimento folicular, estimulação da esteroidogênese através do desenvolvimento dos folículos, produção de inibina por folículos já no final do desenvolvimento, aumento dos receptores de LH nos folículos (ANDERSEN, 2002).

Ainda sob estímulo do GnRH, a adenohipófise secreta hormônio luteinizante (LH), onde o mesmo é produzido, cuja atuação nos ovários, determina a ovulação e a formação do corpo lúteo, culminando com a secreção inicial de progesterona (HAFEZ & HAFEZ, 2004).

A ocitocina é sintetizada no hipotálamo, produzida principalmente no núcleo paraventricular e pequena quantidade no núcleo supra-óptico do hipotálamo, e secreta esse hormônio para a neurohipófise, através da haste neural (LIMA-VERDE et al., 2011). Então é liberada pela neurohipófise por resposta a sinais originados no trato genital e na glândula mamária (SPÉZIA et al., 2015). A ocitocina tem ação de promover contrações uterinas em sinergismo com a PGF2 $\alpha$  no trabalho de parto e promover a ejeção do leite ao atuar nas células mioepiteliais da glândula mamária (PALHANO, 2008).

O estrógeno (17 $\beta$  estradiol) é produzido pelos folículos ovarianos em desenvolvimento, exercendo diversas atividades orgânicas, tais como desenvolvimento de caracteres sexuais secundários, estrutura corporal da fêmea, sintomas clínicos e psíquicos do estro, controle das secreções de GnRH, e associado a inibina, bloqueio da secreção de FSH, promovendo efeito retrógrado ou, feedback positivo para a secreção do LH. Sobre o sistema genital suas principais funções são: aumento da vascularização, edema e hiperemia de vagina e vulva, aumento da motilidade uterina e desenvolvimento das glândulas uterinas (PALHANO, 2008).

Outro esteroide ovariano produzido nos eventos reprodutivos é a progesterona, produzida pelo corpo lúteo, formado após a ovulação por ação do LH. A P4 tem como função, promover o desenvolvimento endometrial, a secreção glandular uterina o estabelecimento e a manutenção da gestação, o crescimento embrionário, reduzir a atividade miometrial e a sensibilidade a ocitocina em bovinos (PAPAMITSOU et al., 2011).

### **2.1.3. Ciclo ovariano**

As fêmeas bovinas apresentam um ciclo estral com duração média de 21 dias, podendo variar de 18 a 24, onde este ciclo é dividido em duas fases, fase lútea e fase folicular (FORDE et al., 2011). Seguem um padrão de ondas que variam de uma a quatro

ondas por ciclo (GINTHER et al., 1998). Cada onda folicular dura em média de 7 a 10 dias, onde esses folículos passam por fases de emergência (recrutamento), seleção (divergência), dominância e atresia/ovulação. De forma geral o ciclo estral é regulado principalmente por hormônios hipotalâmicos, gonadotrofinas e esteroides gonadais. A indução hormonal produz proliferação folicular e diferenciação das células da granulosa e da teca, aumentando aos poucos a capacidade do folículo em produzir estradiol e serem responsivos às gonadotrofinas. O fator que determina qual folículo obterá um número suficiente de receptores de LH para sua ovulação e luteinização é a produção de estradiol (HAFEZ & HAFEZ, 2004).

O surgimento dos primeiros folículos antrais nos bovinos se dá antes mesmo do período pré-púbere, ou seja, aos 5 dias de vida já há folículos de 5 mm, contudo seu desenvolvimento completo só acontece quando ocorre a maturação do eixo hipotálamo-hipófise-gonadal (SNEL-OLIVEIRA et al., 2003).

A emergência folicular é caracterizada por um grupo de folículos crescendo simultaneamente no ovário, sobre ação do FSH. Esses folículos são dependentes e esponsivos a altas concentrações de FSH e apresentando em média 4 mm de diâmetro. Essa dependência do FSH possibilita a proliferação celular e aumento gradual da capacidade esteroidogênica (GINTHER et al., 2002).

Com o aumento das concentrações de FSH, os folículos emergentes se desenvolvem e ao atingir nível máximo de sua concentração sérica, observa-se uma diminuição de sua secreção, dando início à fase de divergência folicular. A queda da concentração sérica do FSH é causada pelos próprios folículos, que passaram a produzir inibina, sendo este um supressor importante do FSH no primeiro momento. Com o declínio da concentração de FSH ocorre a divergência folicular, onde um folículo se tornará dominante e os demais entraram em processo de atresia. O folículo dominante por sua vez passa a produzir estradiol que faz feedback negativo com o FSH mantendo sua concentração baixa (GINTHER et al., 2002).

O folículo que se tornou dominante apresenta maior expressão de mRNA para receptores de LH nas células da granulosa, quando comparados aos folículos subordinados antes do processo de divergência folicular, mostrando assim a importância do LH no processo de divergência folicular (BEG et al., 2001).

Depois de ocorrida a divergência folicular, caso exista no ovário um corpo lúteo ativo, a produção de progesterona inibirá a pulsatilidade do LH, impedindo assim que o folículo dominante ovule, ocorrendo a sua atresia, iniciando-se nova onda folicular. No momento em que ocorra uma divergência folicular da segunda onda e um folículo se tornar dominante, não havendo mais a presença de um corpo lúteo funcional (em um animal que apresente um ciclo estral de duas ondas), o novo pulso de LH, pico pré-ovulatório, ocorrerá sob influência da produção de estrógeno produzido pelo folículo dominante (efeito retrógrado, ou feedback positivo sobre o hipotálamo) e secreção de GnRH, que, determinando a ovulação deste folículo dominante (MERTON et al., 2003).

Após a ovulação, as células do folículo ovulatório sofrem um processo de luteinização, dando início à fase luteínica do ciclo. Nesta fase, que dura em média 16 a 17 dias nos bovinos, haverá produção de progesterona pelas células luteais. A progesterona produzida pelo corpo lúteo prepara o útero para uma possível gestação. Caso não se estabeleça uma gestação, o útero irá aumentar a pulsatilidade de prostaglandina  $F_2\alpha$  e ao redor do 18º dia e determinará o início do processo de luteólise (HAFEZ & HAFEZ, 2004).

#### **2.1.4. Morfologia e função uterina**

O útero bovino é composto por dois cornos uterinos, um corpo e uma cérvix. Sua função é reconhecer e nutrir o produto da fertilização, desde a implantação até o parto (PENSANI & BELTRAN, 2009).

O endométrio é constituído por uma espessa camada na qual o epitélio varia de simples cilíndrico a pseudo-estratificado cilíndrico. No endométrio se encontram presentes glândulas uterinas tubulares simples, enoveladas e ramificadas, porém, estão ausentes na região da carúncula em ruminantes (MONTEIRO et al., 2003). O miométrio é formado por duas camadas espessas de células musculares lisas, sendo uma camada circular interna e uma camada longitudinal externa. Entre as duas camadas, há uma zona vascular constituída de grandes artérias, veias e vasos linfáticos (KÖNIG & LIEBICH, 2004).

A serosa é a terceira camada do útero, constituída de tecido conjuntivo frouxo coberto por mesotélio peritoneal, possui numerosos vasos sanguíneos, linfáticos e fibras nervosas (PRIEDKALNS & LEISER, 1998).

Há uma variação da morfologia do útero que está relacionada com o ciclo estral. Essas modificações ocorrem por ação dos hormônios estradiol e progesterona que estão relacionados com a vascularização e espessura do endométrio e miométrio, e com o crescimento das glândulas uterinas (SUNDARAVADANAN & VENKATASWAMY, 1973).

A oscilação fisiológica entre esses dois hormônios no ciclo estral bovino, sugere que eles tenham grande importância no desenvolvimento embrionário precoce. De modo geral, a exposição do útero ao estrógeno durante o proestro e estro, a progesterona durante o metaestro e diestro, modula alguns processos celulares e moleculares, deste modo modula a composição das secreções uterinas responsáveis pela manutenção e desenvolvimento inicial do concepto (FORDE et al., 2011).

## **2.2. Puberdade**

Em fêmeas bovinas, a puberdade pode ser definida como aquisição da capacidade em se reproduzir. Entretanto, a puberdade não deve ser interpretada como um evento isolado, sendo caracterizada como a etapa final de inúmeras alterações fisiológicas e morfológicas que culminam com a capacidade de conceber e manter a gestação. Sendo assim, uma definição interessante para puberdade seria a primeira ovulação fértil acompanhada de uma fase luteal de duração normal (NOGUEIRA, 2006; SÁ FILHO et al., 2008).

Puberdade é o estágio final da maturação do eixo hipotálamo-hipófise-gonadal juntamente com o fenótipo adulto, sendo marcada por alterações na concentração de gonadotrofinas e aumento das concentrações circulantes de esteroides gonadais (LEE, 1996).

Cabe ainda outro conceito, que é a maturação sexual, sendo este caracterizado pelo aumento da manifestação de estro e da fertilidade. Geralmente, são necessários em média três ciclos estrais de fases luteais normais após a ocorrência da puberdade para que a fêmea bovina adquira maturidade sexual, capacidade de conceber e levar a gestação a termo (SANTOS & SÁ FILHO, 2006). Sendo assim, conclui-se que a maturidade sexual é um processo gradual que se sucede à puberdade, e a fertilidade aumenta nos ciclos subsequentes (BURNS et al., 2010).

### 2.2.1. Fisiologia da puberdade

A maturação sexual é um processo fisiológico que envolve a ativação do eixo hipotálamo-hipófise-gônada que irá resultar em uma ovulação, sendo essa a teoria “gonadostática” da ativação hipotalâmica aceita para bovinos e ovinos (RODRIGUES et al., 2002). Esta teoria descreve uma dessensibilização do hipotálamo aos esteroides gonadais o que levaria ao aumento da secreção de gonadotrofinas (MELVIN, 1999).

Algumas semanas antes do início da puberdade, a amplitude e frequência dos pulsos secretados pelo hipotálamo de GnRH aumenta em padrão rítmico. Esse hormônio, ao ser liberado e tendo acesso a circulação, atinge a hipófise anterior onde estimula a liberação de gonadotrofinas, como FSH e LH, os quais vão intensificar o desenvolvimento folicular ovariano, ovulação e ação do corpo lúteo (REECE, 2006).

O LH é secretado de forma pulsátil pela hipófise anterior (adenohipófise) e sua secreção é controlada pela secreção de GnRH (McCANN, 1974), sendo assim o padrão de secreção do LH reflete diretamente ao padrão de secreção de GnRH (LEVINE & RAMIREZ, 1982).

Em animais pré-púberes, a manutenção do nível basal de estradiol produzindo no ovário, por feedback negativo inibe a secreção hipotalâmica de GnRH e conseqüentemente a inibição da secreção dos hormônios gonadotróficos hipofisários, principalmente o LH (DAY et al., 1984).

A puberdade está diretamente relacionada à capacidade dos neurônios hipotalâmicos em produzir hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH) em quantidades suficientes para promover e suportar a gametogênese (SENGER, 2012). Com a aproximação da puberdade, há uma redução no número de receptores de estradiol no hipotálamo, diminuindo gradativamente a sensibilidade deste ao efeito inibitório dos esteroides e conseqüente aumento na secreção de GnRH (DAY et al., 1987).

A maturação do hipotálamo e o início da puberdade ocorrem através de mecanismo de feedback envolvendo o eixo hipotálamo-hipófise-gônada (KINDER et al., 1995). Quando os animais ainda são pré-púberes, os neurônios hipotalâmicos produtores de GnRH estão sendo inibidos pelo estradiol (feedback negativo), assim não tendo frequência dos pulsos do hormônio luteinizante (LH). Com a maturação do hipotálamo e o aumento das concentrações de estradiol sistêmicos produzidos pelos folículos ovarianos, resulta na dessensibilização do hipotálamo aos esteroides gônadas (feedback positivo), ocorrendo assim o aumento da secreção de gonadotrofinas: FSH e o LH permitindo o início da puberdade (MELVIN et al., 1999).

Ainda não é bem compreendida a regulação fisiológica da maturação do hipotálamo, mas sabe-se que diversos fatores não genéticos como peso vivo, adiposidade, condição nutricional e metabólica, por exemplo, claramente influenciam a idade à puberdade (EHRHARDT et al., 2000).

Outro mecanismo fisiológico que está diretamente ligado à puberdade, é a ação da leptina. O gene deste hormônio foi primeiramente identificado no tecido adiposo de humanos e camundongos, e recebeu o nome de leptina, que deriva do grego “leptos” que significa magro. (ZHANG et al., 1994). A expressão e secreção da leptina estão diretamente relacionadas com a massa de tecido adiposo do corpo, pois sua síntese ocorre principalmente no tecido adiposo branco (HOUSEKNECHT et al., 1998).

A leptina age em todos os tecidos que participam da regulação da homeostase e do balanço energético, crescimento, formação dos ossos e resposta imune (ZIEBA et al., 2005).

Já no hipotálamo, a leptina regula o metabolismo energético, ingestão de alimentos, tendo ação importante na reprodução por atuar sobre os neuropeptídios hipotalâmicos como



o proopiomelanocortina (MÁCAJOVÁ et al., 2004).

Como já reportado anteriormente, o GnRH atua na hipófise anterior estimulando a liberação de gonadotrofinas, que intensificaram o desenvolvimento folicular, conseqüentemente ovulação e ação do corpo lúteo (REECE, 2006). A leptina por sua vez tem sido postulada como a responsável por regular a liberação de GnRH pelo hipotálamo. Esse hormônio derivado do tecido adiposo é um importante elo entre o metabolismo e a reprodução, por atuar como um sinal metabólico ao sistema reprodutivo que há reserva de gordura suficiente para atender as necessidades energéticas da reprodução (NEIL, 2006).

Ainda não está bem definida a ação da leptina sobre a puberdade, mas se sabe que a restrição alimentar mantém os animais pré-púberes por mais tempo pela inibição dos pulsos de LH, causado em partes pela falta do GnRH e pela ação inibitória exercida pelo estradiol (WILLIAMS et al., 2002).

### **2.2.2. Fatores que influenciam a puberdade**

Existem dois conceitos importantes referentes à puberdade: a puberdade fisiológica e a puberdade zootécnica. A puberdade zootécnica é quando o animal atinge 65-70% do peso médio das fêmeas adultas do rebanho, que em média varia de 450-500kg, considerando este o momento ideal para que a fêmea entre na vida reprodutiva. Já a puberdade fisiológica é definida pela idade em que as fêmeas apresentam a primeira ovulação, nesta fase, os animais ainda possuem um desenvolvimento anatômico limitado à gestação (RAMOS et al., 2015; SILVA et al., 2009; GONÇALVES et al., 2008). Existem inúmeros fatores que interferem no início da puberdade, como, por exemplo, os fatores nutricionais, no que compete às taxas de crescimento, sazonalidade de oferta de alimento e cobertura de gordura; características genéticas, raciais e o efeito macho (ALMEIDA et al., 2013). As modificações na produção e liberação de hormônios como os estrógenos, as gonadotrofinas e hormônio liberador de gonadotrofinas somado às suas influências em outras estruturas, caracterizam o início da fase púbere, processo que torna a fêmea bovina apta à reprodução (CARDOSO & NOGUEIRA, 2007; EMERICK et al., 2009).

Um fator de importância na manifestação da puberdade é a genética, sendo uma das principais características que influencia na idade à puberdade. Entretanto, o estresse ambiental e nutricional pode inibir a expressão de genes que determinam o início da idade à puberdade (RODRIGUES et al., 2002). Novilhas possuem uma idade mínima à puberdade pré-determinada geneticamente. Neste sentido, a forma mais simples de se verificar a influência genética sobre a puberdade é comparando entre diversas raças de uma mesma espécie a idade média que os animais entram na puberdade (COSTA, 2008). Desta forma, foi descrito também que mesmo com suplementação alimentar, o animal que não sofreu pressão de seleção para a puberdade precoce, não antecipará a puberdade até que os animais adquiram uma idade cronológica inerente à limitação da própria raça (LAMMOGLIA et al., 2000).

Outro fator importante na variação para o início da puberdade, dentro das raças, é a nutrição (SEJRSEN & PURUP, 1997). Um manejo nutricional adequado é necessário para que novilhas atinjam o peso corporal mínimo à reprodução. Assim, têm sido feitas correlações negativas entre a baixa ingestão de alimentos e a idade à puberdade e positiva entre a boa ingestão de alimentos e o peso corporal (SÁ FILHO et al., 2008; EIMERICK et al., 2009).

A ingestão de nutrientes e a taxa de crescimento influenciam a idade à puberdade, porém não afetam o peso à puberdade. As novilhas que possuem uma taxa de crescimento mais lento necessitarão de um maior tempo para atingir o peso necessário e,

consequentemente entrarão na puberdade em idade mais avançada. Já o animal que atinge o peso necessário em idade mais precoce, entrará na puberdade mais cedo (EIMERICK et al., 2009).

A quantidade de reserva corporal de gordura exerce influência no início do ciclo estral. Os adipócitos secretam leptina a qual ativa mecanismos hipotalâmicos, aumentando o número de picos de secreção de LH. A deficiência nutricional suprime a geração de picos de secreção de LH atrasando a primeira ovulação (FOSTER & NAGATANI, 1999; RAWLINGS et al., 2003).

O fotoperíodo, a pluviosidade e a temperatura são variáveis ambientais que interferem na reprodução de bovinos. Isso ocorre porque estes fatores exercem influência na oferta de pastagem, afetando o fator nutricional (CORTE JUNIOR et al., 2009). Condições de inverno durante o período pré-puberal levam a um atraso no início da puberdade. No entanto, se as novilhas forem bem nutridas, o estro ocorre regularmente após o início da puberdade (HAFEZ & HAFEZ, 2004).

Corte Junior et al. (2009) demonstraram que o CL de zebuínos apresentou maior área e volume no verão quando comparado ao inverno. Considerando assim, uma provável variação na funcionalidade do CL de bovinos ao longo do ano.

Em relação ao “efeito macho” interferir no início da puberdade, Menezes e colaboradores (2010), após a revisão de vários estudos, concluíram que a utilização da bioestimulação com touros vasectomizados ou rufiões pode ser uma alternativa para melhorar os índices produtivos e reprodutivos de novilhas e vacas de corte, e tende a ter seu efeito potencializado quando associado a outras técnicas de manejo. Em novilhas esse efeito do touro pode ser vantajoso quando esses animais não se apresentam cíclicos no início da estação de monta, ou seja, esse manejo pode contribuir para estimular a puberdade destas novilhas antes que estas entrem na estação reprodutiva.

### **2.2.3. Uso da ultrassonografia na avaliação da puberdade**

O ultrassom é um equipamento que se baseia na emissão de ondas com frequências situadas acima do limite audível pelo ser humano, ou seja, acima de 16 KHz. Para a obtenção de imagens são utilizadas frequências entre 1 e 10 MHz. Este equipamento é composto por um corpo principal (monitor), responsável por diversas funções, inclusive a exposição visual (sonograma) das ondas sonoras captadas pelo transdutor. Também é parte do equipamento o transdutor, que é um dispositivo que gera ondas sonoras a partir da excitação elétrica de cristais piezoelétricos que vibram e emitem o ultrassom. Este dispositivo pode também captar essa energia mecânica quando refletida de alguma superfície e convertê-la em energia elétrica, e assim ser visualizada no monitor (BISCEGLI, 2006).

De modo geral a ultrassonografia é uma técnica minimamente invasiva, relativamente simples, segura para o técnico e para o paciente, além de complementar o exame clínico e possibilitar o exame preciso do trato reprodutivo. É utilizada rotineiramente na medicina veterinária para auxiliar na melhoria da eficiência reprodutiva, através das avaliações ginecológicas e obstétricas (WOLF & GABALDI, 2002).

Na avaliação ginecológica das fêmeas bovinas, a utilização do aparelho de ultrassonografia tem como objetivo auxiliar a técnica de palpação transretal. Métodos como estes são utilizados para verificar a posição, o tamanho e presença de conteúdo no útero, além de avaliação dos ovários e da cervix (CARVALHO et al., 2015). Além disso, a utilização do ultrassom possibilita o diagnóstico de prenhez precoce, permite identificar estruturas como, tumores, cistos endometriais, presença de secreções no lúmen uterino, entre

outras, não percebidas pela palpação manual. Possibilita ainda, avaliar e monitorar estruturas ovarianas como corpos lúteos e folículos em relação à quantidade, tamanho, desenvolvimento e características (MOURA & MERKT 1996).

Foi realizado um estudo por Honaramooz e colaboradores (2004), onde os autores avaliaram através da ultrassonografia, quinzenalmente, o desenvolvimento do trato reprodutivo bezerras de corte, no período de 2 a 60 semanas de vida. E como resultado, observaram um padrão de crescimento bifásico pré-pubere (crescimento acelerado entre 3 e 4 meses, e depois outro crescimento antecedendo a primeira ovulação) nos ovários, útero, cervix e vagina.

A ultrassonografia tem auxiliado nos estudos anatômicos dos órgãos genitais, o qual é de suma importância no entendimento de diversos fenômenos fisiológicos e reprodutivos do animal, e no estabelecimento de critérios de seleção para fertilidade (SOUZA, et al., 2011).

### **2.3. Fertilidade em Novilhas**

Um fator extremamente importante na bovinocultura, tanto de leite como de corte, é a eficiência reprodutiva. Se a reprodução do rebanho é falha, incidirá em menor produção de bezerros e leite, comprometendo a produção de modo geral. Vem sendo destacada a importância de promover melhoramento genético para as características reprodutivas. Entretanto, muitas características reprodutivas apresentam baixa herdabilidade e são altamente influenciadas pelo ambiente (GOTTSCHALL et al., 2013).

Fertilidade é um fator que se refere a diversos componentes e estágios exigidos para considerá-los funcionalmente capazes de que machos e fêmeas consigam passar por todas as fases do ciclo reprodutivo, desde a fertilização dos gametas até o nascimento da prole (FOOTE, 2003). Em uma visão geral, as características que são indicativas de fertilidade são expressas tardiamente na vida do animal, além de apresentarem baixa herdabilidade e (MACNEIL et al., 2006; CAMMACK et al., 2009) sofrerem forte influência ambiental (PATTERSON et al., 1999).

Quando comparamos a fertilidade de novilhas Holandesas com vacas da mesma raça em lactação, ela se mantém constante e marcadamente mais elevada quando comparada às vacas. Trabalhos de pesquisa relatam que vacas em lactação apresentam uma redução do desempenho reprodutivo e nas taxas de concepção, estando associados com o progresso genético para alta produção de leite. Possíveis diferenças nas concentrações de esteróides foliculares e na qualidade dos oócitos podem estar associadas com a baixa fertilidade das vacas de alta produção em lactação (ROTH et al., 2008).

O peso em que as novilhas entram na vida reprodutiva exerce grande interferência na sua fertilidade. Em um estudo realizado por Noonan e colaboradores (2016), foi observado que as novilhas leiteiras (Holandesas) cujo peso era superior aos 300kg, apresentaram maior chance de expressar o estro durante um protocolo de IATF, e essa expressão do estro esteve associada a melhor fertilidade das mesmas. Além disso, para cada 1 kg de peso vivo, foi associado a um aumento de 1,5% na probabilidade de apresentar comportamento de estro durante o programa de IATF, consequentemente melhorando a fertilidade.

Foi observado que a idade reduzida ao primeiro parto (cerca de 22 meses) geralmente afeta negativamente a primeira lactação, porém a produção leiteira durante a vida do animal e a rentabilidade geral do rebanho leiteiro é aumentada. Novilhas que apresentam o primeiro parto antecipado podem expressar uma vantagem em termos de desempenho reprodutivo, quando comparadas com novilhas que tiveram o primeiro parto em idade tardia (33 a 46 meses) que manifestam uma pior fertilidade na primeira lactação e uma vida produtiva mais curta do que aquelas paridas mais jovens (ZAVADILOVÁ & ZINK, 2013).

Em um estudo realizado por Gasser et al. (2006), novilhas que apresentaram

puberdade precoce tiveram menor peso na puberdade, maior diâmetro máximo do folículo dominante, maior duração da onda folicular e concentrações de estradiol mais elevadas do que as novilhas que não tiveram puberdade precoce. Portanto, novilhas que ficam prenhez mais cedo são mais férteis. Em outro estudo feito por Eastham (2012), avaliou-se a fertilidade de animais que tiveram ao primeiro parto entre 21 a 42 meses de vários rebanhos leiteiros. O autor observou que aqueles animais que pariram com 23 a 25 meses apresentaram os menores intervalos de partos após cada lactação, em comparação com os animais que pariram com mais de 36 meses e concluiu que o papel da fertilidade foi fundamental para maximizar os rendimentos ao longo da vida do animal.

#### **2.4. Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF)**

A origem da IATF ocorreu em 1995, quando Pursley e colaboradores apresentaram os resultados de trabalhos desenvolvidos com manipulação hormonal para otimizar a reprodução em fêmeas bovinas leiteiras. Para essa finalidade, foi elaborado um protocolo de IATF envolvendo o hormônio liberador das gonadotrofinas (GnRH) e a prostaglandina (PG), formando ambos, a base do primeiro protocolo para IATF, sendo denominado “*OvSynch*”.

Essa biotécnica apresenta diversas vantagens, algumas delas são: utilização de sêmen de touros com teste de progênie, melhorando assim a genética do rebanho; concentração de partos em determinada época do ano garantindo a homogeneidade dos lotes; escolha adequada de touros visando reduzir principalmente os problemas de parto em novilhas; eliminação da observação do cio e a concentração de mão de obra necessária para o trabalho (ASBIA, 2010). Essa biotécnica utiliza tratamento hormonal para a sincronização da ovulação, possibilitando que se faça a inseminação artificial (IA) sem a necessidade de detecção de estro sendo essa uma das suas principais vantagens. Desta maneira, a IATF é a melhor forma de se introduzir genética apurada no rebanho através da IA (MACEDO et al., 2015).

Para execução do tratamento hormonal desta técnica, existem três princípios básicos para serem seguidos, e a partir deles, o médico veterinário deverá escolher qual melhor hormônio a ser empregado de acordo com o rebanho a ser aplicado. O primeiro princípio é o da “sincronização da emergência de uma nova onda de crescimento folicular”, que pode ser realizado a partir indução da ovulação do folículo dominante presente no momento do tratamento com uso de hormônios, como por exemplo: hormônio liberador de gonadotrofinas, gonadotrofina coriônica equina ou hormônio luteinizante (PURSLEY et al., 1995; NASCIMENTO et al., 2013; AMBROSE et al., 2005). Por outro lado, para que se promova uma atresia folicular e, conseqüentemente, uma sincronização da nova onda folicular, pode ser usado a associação de progesterona (P4) e ésteres de estradiol (E2) (SÁ FILHO et al., 2014). O segundo princípio é definido como “controle e queda da progesterona”. Este controle é alcançado pela administração exógena de P4 e análogos por meio de dispositivos/implantes intravaginais/auriculares de liberação lenta, e pelo uso de agentes luteolíticos, como a prostaglandina F2 $\alpha$  e seus análogos (SALES et al., 2012). Como terceiro princípio, “a indução sincronizada da ovulação” é feita por hormônios que vão sincronizar a indução da ovulação do folículo dominante ao final do tratamento, para isso pode ser usado o E2, hCG, GnRH ou LH (AYRES et al., 2008; SOUZA et al., 2007; PURSLEY et al., 1995).

Na pecuária leiteira, a inserção das biotécnicas da reprodução (IA ou IATF) vem aumentando a renda dos produtores, por aumentar o número de partições e diminuir o intervalo de parto, assim tendo maior produtividade de leite, além do ganho genético no rebanho (SOUSA et al., 2015). Em conjunto, para aumento da produtividade e melhor

eficiência da técnica é necessário que o rebanho esteja em boas condições sanitária e nutricional (AZEVEDO et al., 2001).

### 3. METODOLOGIA

O presente trabalho foi aprovado pelo CEUA (Comissão de Ética no Uso de Animais) da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, com processo 23083.002854/2012-03.

#### 3.1. Local do Experimento e Período

Este experimento foi desenvolvido na Empresa de Pesquisa Agropecuária do Estado do Rio de Janeiro (PESAGRO-RIO) na área de Bovinos de Leite do Centro Estadual de Pesquisa em Agricultura Orgânica localizado no município de Seropédica-RJ, (latitude: 22° 46'56. S; longitude: 43° 39'41. O), no período de agosto de 2014 a fevereiro de 2016.

#### 3.2. Animais e Manejo

Foram utilizadas 56 novilhas Girolandas (Figura 1), com idade variando entre 19 e 37 meses, livres de doenças da esfera reprodutiva, com escore da condição corporal (ECC) entre 2,5 a 3,5 (escala de 1 a 5; HOUGHTON et al., 1990), mantidas em sistema extensivo, em piquetes de capim-Braquiária (*Brachiaria decumbens*) com acesso à água e sal mineral *ad libitum*.

Esses animais já faziam parte de um manejo reprodutivo onde, os animais que apresentavam cio eram inseminados. No entanto nenhum deles havia participado de protocolos de IATF antes do presente projeto.

Com relação ao programa sanitário, o controle de brucelose, tuberculose e febre aftosa seguiu as normas dos programas oficiais regulamentados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Outras vacinações como a leptospirose, raiva e clostridioses também foram realizadas.

O controle de parasitoses foi realizado de forma estratégica, sendo este estabelecido de acordo com a demanda de experimentos nesta área e o planejamento da própria PESAGRO-RIO. Foram realizados exames de Leptospirose, Rinotraqueíte Infecciosa Bovina e Diarréia Viral Bovina, Neosporose, Brucelose e Tuberculose.



**Figura 1:** Fêmeas Girolandas após o exame ginecológico e início do protocolo de IATF

### **3.3. Pesagem dos Animais**

Para realização do experimento, todos os animais foram pesados imediatamente antes do início do protocolo de IATF. A pesagem foi realizada individualmente na Balança Eletrônica por funcionários da PESAGRO-RIO.

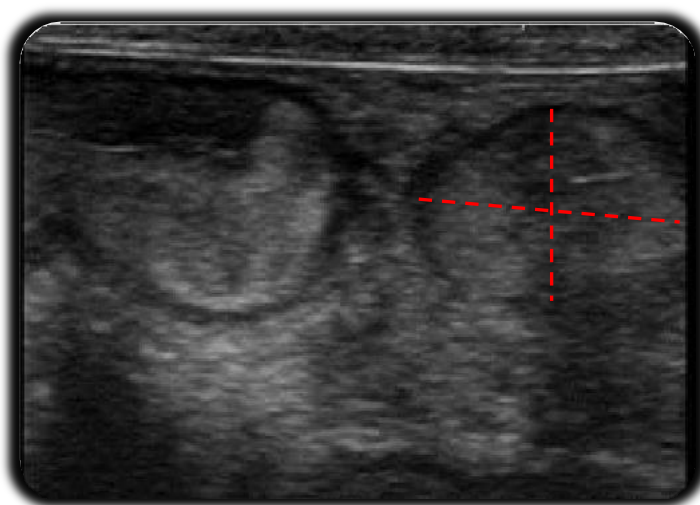
### **3.4. Avaliação Ginecológica**

Previamente ao início do tratamento hormonal para sincronização da ovulação, foi realizada avaliação ginecológica por palpação retal e exame ultrassonográfico (Mindray DP 2200-Vet, transdutor retal de 5 MHz) de todos os animais. Aquelas fêmeas que apresentaram afecções congênitas ou adquiridas do aparelho genital (vaginite, cisto folicular, cérvix tortuosa e hipoplasia ovariana total ou unilateral) que poderiam inviabilizar a concepção após a IATF foram excluídas do trabalho.

#### **3.4.1. Avaliação ultrassonográfica dos cornos uterinos**

Para a avaliação do útero, foi mensurado o diâmetro dos cornos direito e esquerdo após realização de um corte transversal imediatamente após a bifurcação conforme Cutaia et al. (2006). Foram realizadas duas medidas dos maiores diâmetros de cada corte uterino e calculada a média conforme Figura 2. De maneira a minimizar o erro na tomada destas medidas, foram realizadas três repetições de cada corno uterino e calculada a média.

Depois de calculada a média de cada corno (direito e esquerdo), foi calculada a média com os valores do ambos os cornos, chegando a um único valor e a partir deste, classificando seu escore.



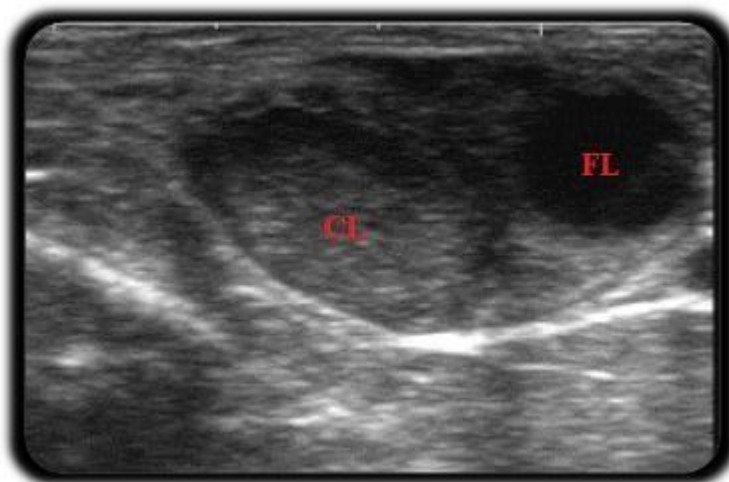
**Figura 2:** Imagem ultrassonográfica de corte transversal dos cornos uterinos logo após a bifurcação.

### 3.4.2. Avaliação dos ovários

Os ovários foram avaliados em relação ao seu diâmetro e à presença de corpo lúteo e folículos antrais (Figura 3). Os folículos foram classificados de acordo com seu diâmetro, sendo maior ou menor que 8 mm. Quando os ovários apresentavam apenas folículos menores que 8 mm, eles eram classificados como “Sem Estrutura” (SE).

Foram classificados como cíclicos, animais que tinham a presença de um CL no momento da avaliação e animais acíclicos, aquelas que possuíam apenas folículos (independente do diâmetro).

O valor utilizado para classificação do escore de ovário foi calculado pela média dos dois maiores diâmetros do ovário direito e esquerdo.



**Figura 3:** Imagem ultrassonográfica do ovário com a presença de um corpo lúteo (CL) e um folículo (FL).

### 3.5. Estratificação dos Escores

Para o desenvolvimento deste experimento, a triagem foi realizada, a partir da estratificação pelo escore de condição corporal (ECC) incluindo as fêmeas com ECC entre 2,5 e 3,5 (escala de 1 a 5; HOUGHTON et al., 1990), e estratificados em escore de acordo com a média do diâmetro ovariano e dos cornos uterinos. Com os dados ultrassonográficos de diâmetro ovariano e diâmetro de cornos uterinos, as fêmeas foram estratificadas da seguinte maneira, como apresentado na tabela 1:

**Tabela 1:** Valores dos escores uterinos e ovarianos.

Escores	Ovários	Útero
1	$\emptyset < 2 \text{ cm}$	$\emptyset < 1,4 \text{ cm}$
2	$2 \leq \emptyset < 2,4 \text{ cm}$	$1,4 \leq \emptyset < 1,7 \text{ cm}$
3	$\emptyset \geq 2,4 \text{ cm}$	$\emptyset \geq 1,7 \text{ cm}$

### 3.6. Sincronização da Ovulação, IATF e Diagnóstico de Gestação

Para realização da Inseminação Artificial em Tempo Fixo, as novilhas, em dia aleatório do ciclo estral, receberam um dispositivo intravaginal contendo 1g de progestágeno (P4) de 3º uso e, por via intramuscular (i.m.), 2mg de benzoato de estradiol e 500µg de cloprostenol, sendo este considerado o dia 0 (D0). No D8 receberam, por via intramuscular (i.m.), 500µg de cloprostenol sendo o dispositivo de P4 removido. No D10, 48h após a

remoção do dispositivo, foram aplicados 10 microgramas de GnRH sendo realizada a IATF no mesmo momento (48h após a retirada do dispositivo de progesterona) conforme Figura 4, sendo este um modelo modificado do protocolo usado por Silva et al. (2008).

O diagnóstico de gestação foi realizado com auxílio do equipamento de ultrassonografia (Mindray DP 2200 vet) 30 dias após a realização da IATF. Foi avaliada a taxa de prenhez (Nº de animais gestantes / Nº de animais inseminados) associada com escore ovariano e uterino dos animais.



**Figura 4:** Tratamento hormonal para a realização da IATF.

### 3.7. Delineamento Experimental e Análise Estatística

Para a realização das análises estatísticas foi utilizado o teste do qui-quadrado e teste de Fisher Exato quando necessário, com nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ) para determinar as taxas de prenhez em cada avaliação, como escore uterino e ovariano, presença ou não de estruturas ovarianas, peso, idade. Além de determinar a relação entre escore ovariano e ciclicidade.

Adicionalmente, foi utilizado o diagrama de dispersão para avaliar a correlação entre diâmetro de útero/diâmetro de ovário e peso/idade.



#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 56 fêmeas utilizadas neste trabalho e testadas para Leptospirose, Rinotraqueíte Infeciosa Bovina, Diarréia Viral Bovina, Brucelose e Tuberculose, não foi observado nenhum animal soropositivo. No entanto, cerca de 30% dos animais (17 fêmeas) foram soropositivos para Neosporose. Quando comparada a taxa de prenhez dos animais soropositivos com a do grupo negativo, não foi observada diferença estatística ( $p>0,05$ ).

Na tabela 2 são apresentados o total de animais, o escore de avaliação uterina e as respectivas taxas de prenhez de novilhas Girolandas submetidas a um protocolo de IATF. Para os escores uterinos 1, 2 e 3 foram observado 63,6%, 64% e 78% de taxa de prenhez, respectivamente. Não foi observada diferença estatística ( $p>0,05$ ), entre os três escores uterinos em relação à taxa de prenhez.

**Tabela 2:** Efeito do escore uterino na taxa de prenhez de novilhas Girolandas submetidas a um programa de IATF.

Escore Uterino	Nº de Animais	Taxa de Prenhez
1	22	63,6% <sup>a</sup>
2	25	64,0% <sup>a</sup>
3	9	78,0% <sup>a</sup>

Útero Escore 1:  $\emptyset < 1,4\text{cm}$ ; Útero Escore 2:  $1,4 \leq \emptyset < 1,7\text{cm}$ ; Útero Escore 3:  $\emptyset \geq 1,7\text{cm}$ . As médias seguidas por letras iguais na mesma coluna não apresentam diferença entre si ( $p>0,05$ ). IATF = Inseminação Artificial em Tempo Fixo.

Os resultados apresentados acima permitem inferir que o desenvolvimento uterino não afetou a taxa de prenhez em um protocolo de IATF, tornando desnecessária a avaliação do desenvolvimento uterino numa triagem ginecológica em fêmeas mantidas em condições semelhantes ao deste trabalho.

Esses resultados podem ser explicados pela idade, peso e condição corporal que esses animais apresentaram no início do protocolo de IATF. As novilhas do presente estudo tinham uma média de idade de 26 meses, média de peso de 370kg e com escore de condição corporal entre 2,5 e 3,5 (escala de 1-5). Nessas condições, esses animais já poderiam ter atingido a maturidade sexual, e assim, ter finalizado o desenvolvimento uterino, fazendo com que esta característica não interferisse na taxa de prenhez. Isso é confirmado por Holm et al. (2016), onde afirmam que o desenvolvimento do sistema reprodutor sofre influência tanto da idade quanto do peso vivo. De modo que os animais que já atingiram a puberdade não sofrem mais influência do diâmetro uterino sobre a taxa de concepção ou de prenhez.

No entanto, os resultados encontrados no presente experimento discordam dos encontrados por Holm et al. (2009) que fizeram um estudo onde avaliaram 272 novilhas de corte, por palpação retal e ultrassonografia, com média de 14 meses de idade. Eles concluíram que a avaliação do escore do trato reprodutivo é um bom preditor de fertilidade. E ainda outro estudo feito por Holm et al. (2015), onde foram analisados dados referentes a um rebanho de Bovelder (raça mestiça sul-Africana, com aptidão para carne) composto por novilhas de 12-15 meses. Os autores também concluíram que a avaliação do escore do trato reprodutivo é um instrumento de gestão válido para melhorar a eficiência reprodutiva a longo prazo, excluindo-se as novilhas que provavelmente não emprenhariam ou poderiam parir tarde durante a sua primeira parturição, sendo prejudicial na próxima estação reprodutiva. Esse confronto de resultados pode ser explicado por terem sido usadas raças e aptidões diferentes, além de serem

avaliadas em diferentes idades.

Nossos resultados também discordam do trabalho realizado por Stevenson et al. (2008) onde estes chegaram à conclusão que a classificação do trato reprodutivo de novilhas leiteiras pode ser benéfica para identificar animais que não estão púberes e podem comprometer o desempenho reprodutivo e econômico do rebanho.

Na tabela 3 são apresentadas as porcentagens de novilhas Girolandas cíclicas (presença de CL) e acíclicas (ausência de CL, mas com folículos maiores que 8mm - FL ou menores que 8mm - SE) no início do protocolo de IATF, e as taxas de prenhez dos animais que foram submetidos a um protocolo de IATF, em relação ao escore ovariano. A porcentagem de animais acíclicos nos grupos de escores ovarianos 1, 2 e 3, foram, respectivamente, 83,3%, 37,5% e 42,8%. Foi observada diferença estatística ( $p: 0,0084$ ) sendo que o grupo de animais apresentando escore ovariano 1 apresentou maior número de fêmeas acíclicas do que os demais grupos (escores ovarianos 2 e 3). A porcentagem de animais cíclicos nos grupos de escores ovarianos 1, 2 e 3, foram, respectivamente, 16,7%, 62,5% e 57,2% não sendo observada diferença estatística ( $p>0,05$ ). Para os escores ovarianos 1, 2 e 3 foram observadas taxa de prenhez de 61,1%, 75% e 57%, respectivamente. Não foi observada diferença estatística ( $p>0,05$ ), entre os três escores ovarianos e taxa de prenhez. Nesse caso o tamanho dos ovários não influenciou a taxa prenhez em um programa de IATF.

**Tabela 3:** Efeito do escore ovariano na taxa de prenhez e na ciclicidade de novilhas Girolandas submetidas a um programa de IATF.

Escore Ovariano	Nº de Animais	Taxa de Prenhez	Cíclicas (CL)	Acíclicas (FL/SE)
1	18	61,1% <sup>a</sup>	16,7% <sup>a</sup>	83,3% <sup>b</sup>
2	24	75,0% <sup>a</sup>	62,5% <sup>a</sup>	37,5% <sup>a</sup>
3	14	57,0% <sup>a</sup>	57,2% <sup>a</sup>	42,8% <sup>a</sup>

As médias seguidas por letras iguais na mesma linha não apresentam diferença entre si ( $p>0,05$ ). IATF = Inseminação Artificial em Tempo Fixo.

O tamanho do ovário está associado à presença de corpo lúteo e à contagem de folículos antrais, que por sua vez está associada à reserva folicular e à fertilidade, enquanto a contagem de folículos antrais não é afetada pelo estágio do ciclo estral (IRELANDE et al., 2010). Os resultados do presente trabalho não corroboram com os achados por Irelande e colaboradores (2010), uma vez que não foi encontrada diferença estatística em relação ao tamanho dos ovários e taxa de prenhez desses animais. Uma possível explicação para esse confronto de resultados pode estar relacionada à metodologia empregada nos dois experimentos, porque no presente estudo não foi realizada a contagem do número dos folículos antrais, considerando apenas a presença de um folículo maior ou menor que 8 mm.

Porém os resultados do presente estudo estão de acordo com os achados por Holm et al. (2016) que não observaram correlação entre o tamanho do ovário e a taxa de prenhez em novilhas. Esses autores ainda ressaltam que, umas das explicações possíveis para não encontrar diferença entre o tamanho do ovário e taxa de prenhez, pode ser por erro de mensuração no comprimento do ovário no momento da coleta de dados, dificultando assim essa análise. Contudo, observaram que o tamanho do ovário proporcionaria um reflexo de contagem de folículos antrais, tamanho ou presença de folículo e/ou corpo lúteo. Essa última afirmativa feita por Holm et al. (2015), também concorda com outros dados do presente trabalho, mostrados a seguir na Tabela 2.

Esses dados corroboram com os achados por Nascimento et al. (2003) que observaram influência entre o tamanho do ovário variando de acordo com estado puberal do animal (pré-púbere < peri púbere < púbere), estágio reprodutivo e fase do ciclo estral. Assim, animais acíclicos apresentam menor tamanho ovariano.

Na Tabela 4 são apresentadas as taxas de prenhez de novilhas Girolandas submetidas a um programa de IATF em relação à presença ou ausência de estruturas ovarianas no início do protocolo. As taxas de prenhez para os animais que apresentavam CL, FL, SE ao início do protocolo foram de 69,2%, 66,7%, 50%, respectivamente. Não foi observada diferença estatística ( $p>0,05$ ), entre os grupos.

**Tabela 4:** Efeito da condição ovariana na taxa de prenhez de novilhas Girolandas submetidas a um programa de IATF.

Estruturas ovarianas	Nº de Animais	Taxa de Prenhez
CL	26	69,2% <sup>a</sup>
FL	24	66,7% <sup>a</sup>
SE	6	50,0% <sup>a</sup>

CL: Corpo Lúteo; FL: Folículo > 8mm; SE: folículos < 8mm.

As médias seguidas por letras iguais na mesma coluna não apresentam diferença entre si ( $p>0,05$ ). IATF = Inseminação Artificial em Tempo Fixo.

Os resultados do presente trabalho são discordantes dos encontrados por Kasimanickam et al. (2016), onde observaram que o estado fisiológico do animal ao início do protocolo de IATF afeta a taxa de prenhez, ou seja, novilhas públicas cíclicas (presença de CL) tiveram melhores resultados do que as pré-púbere (acíclicas). Adicionalmente os autores destacaram a importância do desenvolvimento adequado das novilhas antes de entrarem na vida reprodutiva. Essa observação ocorre em função das taxas de prenhez para inseminação artificial serem mais baixas para as novilhas em seu primeiro estro em comparação com aquelas inseminadas em segundo ou subsequente estros (BYERLEY et al., 1987). Essa diferença pode ser explicada pelo fato destes autores terem usados novilhas de outra raça, idade diferente e outro protocolo de IATF.

Esses resultados também discordam dos achados por Gutierrez (2014) que encontraram menor taxa de concepção e de prenhez ao final de uma estação de monta, de animais que não apresentavam estruturas ovarianas ou folículos menores que 10mm em comparação com animais que tinham a presença de um folículo maior que 10mm ou um corpo lúteo. Esses resultados podem ser explicados pelo estado puberal que o animal está entrando na estação reprodutiva, sendo assim, animais que iniciam a estação reprodutiva pública (ciclado) tem maiores chances de engravidarem (ROSENKRANS & HARDIN, 2003).

As taxas de prenhez em relação ao escore de condição corporal (ECC) das novilhas Girolandas do presente estudo estão apresentadas na Tabela 5. Para os animais apresentando escores 2,5, 3 e 3,5, as taxas de prenhez foram de 85,7%, 62,5% e 64,7%, respectivamente. Não foi observada diferença estatística ( $p>0,05$ ) entre as três categorias.

**Tabela 5:** Efeito do escore de condição corporal na taxa de prenhez de novilhas Girolandas submetidas a um programa de IATF.

Escore de Condição Corporal	Nº de Animais	Taxa de Prenhez
2,5	7	85,7% <sup>a</sup>
3	32	62,5% <sup>a</sup>
3,5	17	64,7% <sup>a</sup>

As médias seguidas por letras iguais na mesma coluna não apresentam diferença entre si ( $p>0,05$ ). IATF = Inseminação Artificial em Tempo Fixo.

A análise da tabela 4 permite avaliar que não houve diferença na taxa de prenhez dos animais submetidos ao protocolo de IATF com diferentes escores de condição corporal (escala de 1-5, sendo 1- magro e 5- obeso). Esse resultado pode ser explicado pelo fato desses animais se encontrarem em uma faixa satisfatória de ECC (nem muito magro, nem muito obeso) e assim, não influenciando negativamente a prenhez.

Nos programas de IATF, um dos fatores de sucesso está relacionado à eficiência do manejo alimentar do rebanho e ao atendimento das exigências nutricionais. Assim, os processos fisiológicos ligados à reprodução são ativados (TORRES et al., 2015).

A observação do ECC em animais com idade reprodutiva pode contribuir para o aumento da taxa de prenhez dos rebanhos. Esta por sua vez, varia em função do manejo sanitário, nutricional e composição genética dos rebanhos (FERREIRA et al., 2013; SONOHATA et al., 2009).

Ferreira e colaboradores (2013) observaram que fêmeas bovinas de corte com ECC igual ou acima de 2,5 (escala de 1-5) reúnem condições fisiológicas para manter a atividade cíclica e apresentam bons resultados na taxa de prenhez em um programa de IATF. O mesmo foi relatado por Barbosa et al. (2011) que concluíram também que ECC mínimo de 2,25 em fêmeas leiteiras mestiças *Bos taurus taurus* × *Bos taurus indicus* resulta em atividade cíclica normal. Os dados observados no presente estudo estão de acordo com aqueles encontrados por esses autores.

Na Tabela 6 são apresentadas as taxas de prenhez de novilhas Girolandas submetidas a um protocolo de IATF, levando em consideração seu peso corporal. As taxas de prenhez foram 75%, 77,2% e 44,4% para animais com peso entre 315-350kg, 350-400kg,  $\geq 400$ kg, respectivamente. Não foi observada diferença estatística ( $p>0,05$ ), entre os grupos.

**Tabela 6:** Efeito do peso corporal na taxa de prenhez de novilhas Girolandas submetidas a um programa de IATF.

Peso (kg)	Nº de Animais	Taxa de Prenhez
315 ≤ Peso < 350	16	75,0% <sup>a</sup>
350 ≤ Peso < 400	22	77,2% <sup>a</sup>
Peso ≥ 400	18	44,4% <sup>a</sup>

As médias seguidas por letras iguais na mesma coluna não apresentam diferença entre si ( $p>0,05$ ). IATF = Inseminação Artificial em Tempo Fixo.

De acordo com o trabalho de Madureira e colaboradores (2002), o peso corporal e a razão peso/ altura são fortemente influenciados pelo tipo de cruzamento, tanto nas vacas como nas novilhas. Nesse sentido é recomendado que novilhas leiteiras (Girolandas) entrem na vida reprodutiva por volta dos 300 Kg de peso vivo (MORTON et al., 2003).

A utilização de novilhas leiteiras acima de 300 kg está associada com o aumento das taxas de prenhez em um protocolo de IATF, segundo Noonan et al. (2016). Os resultados do presente trabalho corroboram com os resultados encontrados por esses autores, onde a taxa de prenhez foi satisfatória quando se utilizou animais acima de 300 kg.

Na Tabela 7 são apresentadas as taxas de prenhez de novilhas Girolandas submetidas a um protocolo de IATF de acordo com a idade. Foi observada diferença estatística ( $p:0,0127$ ), entre as diferentes faixas etárias. Os animais mais jovens ( $\leq 24$  meses) tiveram maior taxa de prenhez em relação aos animais mais velhos ( $\geq 30$  meses).

**Tabela 7:** Taxa de prenhez de novilhas Girolandas submetidas a um programa de IATF e classificadas de acordo com a sua idade.

Idade (meses)	Nº de Animais	Taxa de Prenhez
$\leq 24$	27	81,4% <sup>a</sup>
$24 < \text{Idade} \leq 30$	19	63,1% <sup>ab</sup>
$\geq 30$	10	30,0% <sup>b</sup>

As médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna apresentam diferença entre si ( $p < 0,05$ ). IATF = Inseminação Artificial em Tempo Fixo.

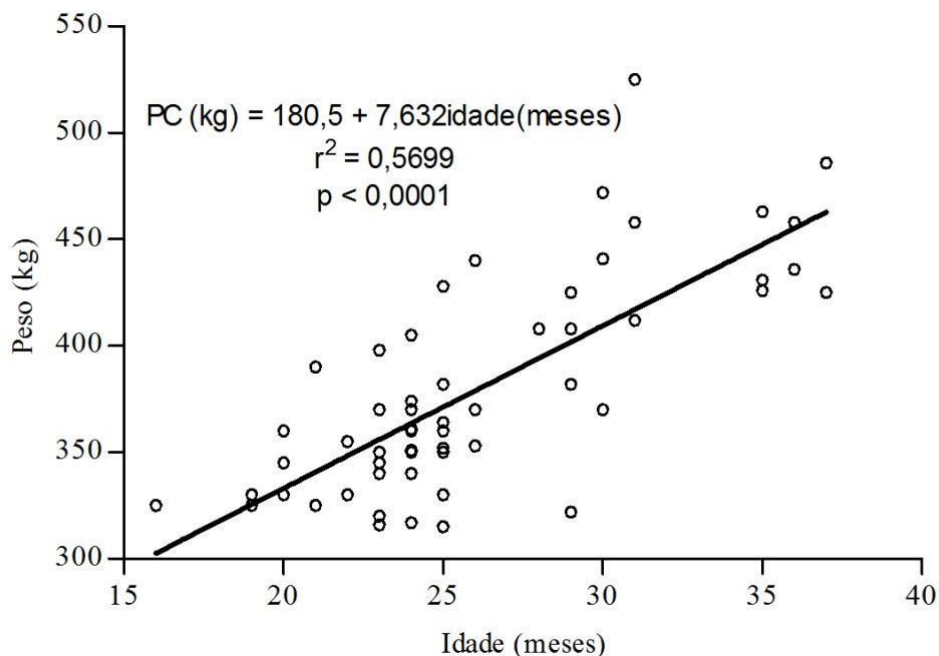
A maior fertilidade dos animais mais novos encontrada no presente trabalho está de acordo com os resultados encontrados por Gasser et al., (2006), que também encontraram taxas de prenhez maiores em novilhas mais novas. Estes autores ressaltam ainda que, novilhas que apresentaram puberdade precoce tiveram menor peso na puberdade, maior diâmetro máximo do folículo dominante, maior duração da onda folicular e concentrações de estradiol mais elevadas do que as novilhas que tiveram a puberdade mais tardiamente. Sendo assim, os autores sugerem que as novilhas que se tornaram gestantes mais cedo, sejam mais férteis.

Os resultados do presente trabalho também estão de acordo com os encontrados por Kuhn et al. (2006), que analisaram registros reprodutivos de novilhas leiteiras, em relação à fertilidade, nos Estados Unidos. Este estudo levou em consideração os registros de 362.512 novilhas de 2668 rebanhos. A taxa de concepção total foi de 57%, atingindo o pico em animais com idade entre 15 e 16 meses e caindo para 42% aos 26-27 meses.

Os dados obtidos neste estudo estão bem próximos daqueles encontrados por Brickell et al. (2009), onde estes autores relataram uma taxa de 67% de concepção ao primeiro serviço em novilhas leiteiras mais jovens, considerando essas mais férteis. Uma explicação plausível referente ao trabalho citado, é que a nutrição e o desenvolvimento das novilhas até que entrem na vida reprodutiva exercem grande influência na sua fertilidade, o que determina um aumento da idade ao primeiro parto, considerando-se ainda que a novilha com maior taxa de crescimento demanda mais energia para chegar à vida reprodutiva, apresentando como consequência uma maior taxa de serviço, em relação aos animais que apresentam um menor crescimento.

Outra justificativa foi abordada por Snelling et al. (2012) que afirmaram que a idade à puberdade, e consequentemente à fertilidade e a idade ao primeiro parto, está correlacionada com a taxa de crescimento e também com a genética, onde tem uma herdabilidade considerada moderada sendo de 0,25 a 0,4.

Foi observada uma correlação positiva ( $p < 0,0001$ ) no presente estudo entre peso e idade dos animais, onde o aumento da idade é seguido do aumento do peso dos animais, conforme observado na Figura 5.



**Figura 5:** Correlação entre peso corporal (PC) e Idade.

Os resultados do presente trabalho corroboram com outros estudos recentes. Cook e colaboradores (2013) mostraram a relação positiva entre peso e idade e relatam a consequência na reprodução. Eles concluíram que novilhas leiteiras quando tinham um ganho de peso diário acima de 0,75kg até os 15 meses aumentavam a chance de ter o primeiro parto até os 26 meses e aumentar o retorno financeiro do rebanho.

Duplessis et al. (2015), em um trabalho de análise de dados de novilhas leiteiras no Quebec/Canadá, encontraram resultados similares ao do presente estudo. Esses autores observaram através de suas análises que, conforme as novilhas iam ficando mais velhas, apresentavam um aumento de peso. Foi relatado ainda que o ganho de peso diário foi maior até os 15 meses.

O ganho de peso corporal recomendado para novilhas Holandesas desde o nascimento até o parto é de 0,8 kg por dia, para que se tenha o primeiro parto com média de peso de 682 e 24 meses de idade (AKINS, 2016). Essa recomendação justifica o aumento de peso conforme aumenta a idade de novilhas leiteiras, conforme encontrado no presente estudo.

## 5. CONCLUSÃO

O desenvolvimento uterino e ovariano não interfere na fertilidade de novilhas Girolandas nas condições do presente experimento. Desta forma, a avaliação ultrassonográfica do diâmetro uterino e ovariano de novilhas nessas condições não se faz necessária.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, L.G. et al. Análogos do GnRH: bases moleculares e aplicações em reprodução assistida. **Femina**, v.34, p.402, 2006.

AKINS, M.S. Dairy Heifer Development and Nutrition Management. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.32, p. 303-317, 2016.

ALMEIDA, O. et al. Endocrinologia da puberdade em fêmeas bovinas. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 20, p.1-33, 2013. Disponível em <<http://revistas.bvs-vet.org.br/rcemv/article/view/28041>> Acesso dia 05 jan. 2017.

AMBROSE, J.D. et al. Progesterone (CIDR)-based timed AI protocols using GnRH, porcine LH or estradiol cypionate for dairy heifers: Ovarian and endocrine responses and pregnancy rates. **Theriogenology**, v.64, p.1457-1474, 2005.

ANDERSEN, C.Y. Effect of FSH and its different isoforms on maturation of oocytes from pre-ovulatory follicles. **Reproductive Biomedicine Online**, v.5, p. 232-239, 2002.

ASBIA - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL. **Relatório estatístico de produção, importação e comercialização de sêmen**, 2010. Disponível em <<http://www.asbia.org.br/novo/relatorios/>> Acesso dia 05 jan. 2017.

AYRES H. et al. Effect of timing of estradiol benzoate administration upon synchronization of ovulation in suckling Nelore cows (*Bos indicus*) treated with a progesterone-releasing intravaginal device. **Animal Reproduction Science**, v.109, p.77-87, 2008.

AZEVEDO, D.M.M.R., DE AZEVEDO, A. R., & ALVES, A. A. Eficiência reprodutiva em bovinos de leite. **Revista Científica de Produção Animal**, v. 3, p.48-61, 2001.

BALL, P.J.H.; PETERS, A.R. **Reprodução em bovinos**. 3a ed. São Paulo: Editora Roca, v.1. 2006. 240p.

BARBOSA, C.F. et al. Inseminação artificial em tempo fixo e diagnóstico precoce de gestação em vacas leiteiras mestiças. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, p. 79-84, 2011.

BISCEGLI, C.I. **Conceitos da física do ultrassom**. In. Workshop de ultrassonografia para avaliação de carcaças bovinas, Uberaba, 2006, 16p.

BEDECARRATS, G.Y. & KAISER, U.B. Differential regulation of gonadotropin subunit gene promoter activity by pulsatile gonadotropin-releasing hormone (GnRH) in perfused L beta T2 cells: role of GnRH receptor concentration. **Endocrinology**, v. 144, p. 1802-11, 2003.

BEG, M.A. et al. Follicular-fluid factors and granulosa-cell gene expression associated with follicle deviation in cattle. **Biology of Reproduction**, v. 64, p. 432-441, 2001.

BRICKELL, J.S. et al. Effect of growth and development during the rearing period on the subsequent fertility of nulliparous Holstein-Friesian heifers. **Theriogenology**, v. 72, p. 408-416, 2009.

BURNS, B.M.; FORDYCE, G. & HOLROYD, R.G. A review of factors that impact on the capacity of beef cattle females to conceive, maintain a pregnancy and wean a calf - Implications for reproductive efficiency in northern Australia. **Animal Reproduction Science**, v.122, p.1-22, 2010.

BYERLEY, D.J. et al. Pregnancy rates of beef heifers bred either on pubertal or third estrus. **Journal of Animal Science**. v.65, p.645–650, 1987.

CAMMACK, K.M.; THOMAS, M.G. & ENNS, R.M. Review: Reproductive Traits and Their Heritabilities in Beef Cattle. **The Professional Animal Scientist**, v. 25, p. 517-528, 2009.

CARDOSO, D. & NOGUEIRA, G.P. Mecanismos neuroendócrinos envolvidos na puberdade de novilhas. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da Unipar**, Umuarama, v. 10, p. 59- 67, 2007.

CARVALHO, B.C. et al. Uso de tecnologias de precisão na reprodução de bovinos leiteiros. **Cadernos Técnicos de Veterinária e Zootecnia**, nº 79 – dez. 2015.

COOKE, J.S. et al. Association between growth rates, age at first calving and subsequent fertility, milk production and survival in Holstein-Friesian heifers. **Open Journal of Animal Sciences**, v.3, p. 1-12, 2013.

CORTE JÚNIOR, A.O., 2009: Variação do ciclo estral de novilhas *Bos taurus indicus* (Nelore) em diferentes estações do ano. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia e Curso de Medicina Veterinária, Araçatuba. 2009.

COSTA, A.N.L. Sincronização do estro e ovulação em novilhas girolandas: comparação entre dois protocolos hormonais, “CIDR-B” E “OVSYNCH”. **Revista Ciência Agronômica**. v. 39, p. 137- 141, 2008.

CUTAIA, L. et al. Influencia del diámetro uterino, tamaño de los ovários y estructuras ováricas sobre la fertilidad em vaquillonas cruza cebú inseminadas a tiempo fijo. **Jornadas de Actualización em Biotecnologías de La Reproducción en Bovinos IRAC**. p.1-8, 2006.

DAY, E.R., et al. Endocrine mechanisms of puberty in heifers. Estradiol negative feedback regulatin of luteinizing hormone secretion. **Biology of Reproduction**, v.31, p. 332-341, 1984.

DAY, E.R et al. Endocrine mechanisms of puberty in heifers. Role of hypothalamo-pituitary estradiol receptors in the negative feedback of estradiol on luteinizind hormone secretion. **Biology of Reproduction**, v. 37, p. 1054-1065, 1987.

DUPLESSIS, M. et al. Weight, height, and relative-reliability indicators as a anagement tool for reducing age at first breeding and calving of dairy heifers. **Journal of Dairy Science**, v. 98, p. 2063-2073, 2015.

EASTHAM, N. Long term effects of age at first calving. **The Journal for Holstein UK and British Friesian Breeders August**, p.114–115, 2012.



EHRHARDT, R.A et al. Development of a specific radioimmunoassay to measure physiological changes of circulating leptin in cattle and sheep. **Journal of Endocrinology**, v. 166, p. 519-28. 2000.

EMERICK, L.L. et al. Aspectos relevantes sobre a puberdade em fêmeas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.33, p.11-19, 2009.

FEITOSA, F.L.F. **Semiologia Veterinária: A Arte Do Diagnóstico**. Grupo Gen-Editora Roca Ltda., 2000. 807p.

FERREIRA, M.C.N. et al. Impacto da condição corporal sobre a taxa de prenhez de vacas da raça nelore sob regime de pasto em programa de inseminação artificial em tempo fixo (IATF). **Semina: Ciências Agrárias**. v.34, p.1861-1868, 2013.

FOOTE R.H. Fertility estimation: a review of past experience and future prospects. **Animal Reproduction Science**, v. 75, p.119-139, 2003.

FORDE, N. et al. Changes in the endometrial transcriptome during the bovine estrous cycle: effect of low circulating progesterone and consequences for conceptus elongation. **Biology of Reproduction**, v.84, p. 266-278, 2011.

FORDE, N., et al. Oestrous cycles in *Bos taurus* cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 124, p. 163-169, 2011.

FOSTER, D.L. & NAGATANI, S. Physiological perspectives on leptin as a regulator of reproduction: role in timing puberty. **Biology of Reproduction**, v.60, p.205-215, 1999.

GASSER, C.L. et al. Induction of precocious puberty in heifers II: Advanced ovarian follicular development. **Journal of Animal Science**, v. 84, p. 2042-2049, 2006.

GINTHER, O.J. et al. Role of low circulating FSH concentrations in controlling the interval to emergence of the subsequent follicular wave in cattle. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 124, p. 475-482, 2002.

GINTHER, O.L. et al. Pulsatility of systemic FSH and LH concentrations during follicular-wave development in cattle, **Theriogenology**, v.50, p. 507-519, 1998.

GONÇALVES, P.B.D.; FIGUEIREDO, J. R. & FREITAS, V. J. F. **Biotécnicas aplicadas à reprodução animal**. São Paulo, 2 ed., 2008. Varela. 340p.

GOTTSCHALL, C. S. et al. Resposta reprodutiva de novilhas de corte associada a marcadores moleculares relacionados à fertilidade. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 41, p. 1-12, 2013.

GUTIERREZ, K. et al. Effect of reproductive tract scoring on reproductive efficiency in beef heifers bred by timed insemination and natural service versus only natural service. **Theriogenology**. v.81, p. 918-924, 2014.

HAFEZ, E.S.E & HAFEZ, B. **Reprodução Animal**. 7 ed. São Paulo, Editora Manole, 2004.

HOLM, D.E. et al. Evaluation of pre-breeding reproductive tract scoring as a predictor of long term reproductive performance in beef heifers. **Preventive Veterinary Medicine**, v.118, p. 56-63, 2015.

HOLM, D.E. et al. Ultrasonographic reproductive tract measures and pelvis measures as predictors of pregnancy failure and anestrus in restricted bred beef heifers. **Theriogenology**. v.85, p.495-501, 2016.

HOLM, D.E.; THOMPSON, P.N. & IRONS, P.C. The value of reproductive tract scoring as a predictor of fertility and production outcomes in beef heifers. **Journal of Animal Science**, v.87, p. 1934–1940, 2009.

HONARAMOOZ, A. et al. Ultrasonographic evaluation of the pre-pubertal development of the reproductive tract in beef heifers. **Animal Reproduction Science**, v.80, p. 15-29, 2004.

HOUGHTON, P.L., et al. Prediction of postpartum beef cow body composition using weight to height ratio and visual body condition score. **Journal of Animal Science**, v.68, p.1428-1437, 1990.

HOUSEKNECHT, K.L. et al. The biology of leptin: a review. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 76, p. 1405-1420, 1998.

IRELAND, J.J., et al. Does size matter in females? An overview of the impact of the high variation in the ovarian reserve on ovarian function and fertility, utility of anti-Müllerian hormone as a diagnostic marker for fertility and causes of variation in the ovarian reserve in cattle. **Reproduction, Fertility and Development** v.23, p.1-14, 2010.

KASIMANICKAM, R.K.; HALL, J.B. & WHITTIER, W.D. Fertility of Angus cross beef heifers after GnRH treatment on day 23 and timing of insemination in 14-day CIDR protocol. **Reproduction in Domestic Animals**. 2016 DOI: 10.1111/rda.12866

KINDER, J.E. et al. Endocrine basis for puberty in heifers and ewes. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 49, p. 393-409, 1995.

KONIG, H.E.; LIEBICH, H. G. Veterinary anatomy of domestic animals: textbook and color atlas. Stuttgart, Germany, Schattauer Co, 2004, 286p.

KUHN, M. T.; HUTCHISON, J. L. & WIGGANS, G. R. Characterization of Holstein heifer fertility in the United States. **Journal of Dairy Science**, v. 89, p. 4907-4920, 2006.

LAMMOGLIA, M.A. et al. Effects of dietary fat and sire breed on puberty, weight, and reproductive traits of F1 beef heifers. **Journal of Animal Science**, v.78, p.2244-2252, 2000.

LEE, G.; et al. Abnormal splicing of the leptina receptor in diabetic mice. **Nature**, v. 379, p. 632-635, 1996.

LEVINE, J.E.; et al.. Simultaneous measurement of luteinizing hormone-releasing hormone and luteinizing hormone release in unanesthetized, ovariectomized sheep. **Endocrinology** v.11, p.1448, 1982.

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

MÁCAJOVÁ, M.; LAMOSOVÁ, D.; ZEMAN, M. Role of leptina in farm animals: a review. **Journal of Veterinary Medicine**, Berlin, v. 51, p. 157-166, 2004.

MACEDO, G.G., OLIVEIRA, M., & ROCHA, C.D. Sincronização da ovulação: como mimetizar ainda mais a fisiologia da reprodução para obter melhores resultados? **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 39, p.41-46, 2015.

MACNEIL, M.D. et al. Genetic partitioning of variation in ovulatory follicle size and probability of pregnancy in beef cattle. **Journal of Animal Science**. v. 84, p. 1646-1650, 2006.

MADUREIRA, A.P.; MADALENA, F.E. & TEODORO, R.L. Desempenho comparativo de seis grupos de cruzamento Holandês/Guzerá. 11. Peso e altura de vacas e novilhas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, p. 658-667, 2002.

McMANN, S.M. Regulation of follicles stimulating hormone and luteinizing hormone. (Ed.) Handbook of Physiology. **American Physiological Society**, Washington, DC, 1974.

MELVIN, E.J. et al.. Circulating concentrations of estradiol, luteinizing hormone, and follicle- stimulating hormone during waves of ovarian follicular development in prepubertal cattle. **Biology of Reproduction**, v.60, p. 405-12, 1999.

MENEZES, L. M.; BRAUNER, C.C.E.; PIMENTEL, M.A. Efeitos da bioestimulação sobre a performance reprodutiva em bovinos de corte. **Archivos Zootecnia**, v.59, p.1-13, 2010.

MERTON, J.S. et al. Factors affecting oocyte quality and quantity in commercial application of embryo technologies in the cattle breeding industry. **Theriogenology**, v. 59, p. 651-74, 2003.

MONTEIRO, C.M.R. et al. Estudo das características histológicas do útero e tubas uterinas de vacas e novilhas da raça Nelore (*Bos indicus*). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.40, p.45-54, 2003.

MONTEIRO, C.M.R. et al.. Estudo morfológico comparativo dos ovários de vacas e novilhas da raça nelore (*Bos taurus indicus*). **Ars Veterinaria**, v.24, p.122-126, 2008.

MORTON, J.; LARCOMBE, M. & LITTLE, S. **In calf book for dairy farmers**. Editors: Dairy Australia, Werribee, Australia. 214p., 2003

·  
MOURA, J.C.A. & MERKT, H. In: A ultrasonografiana reprodução equina. 2 ed., Salvador: **Editora Universitária Americana**, 1996. 162 p.

NASCIMENTO, A.B. et al. Effect of treatment with human chorionic gonadotropin on day 5 after timed artificial insemination on fertility of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.96, p.2873-2882, 2013.

NASCIMENTO, A.A. et al. Correlação morfométrica do ovário de fêmeas bovinas em diferentes estádios reprodutivos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science** v.40, p. 126-132, 2003.

NEIL, J.D.; WASSARMAN, P. **Physiology of Reproduction**. 3° ed. OXFORD: Elsevier, 1721 p., 2006.

NOGUEIRA G.P. Puberdade e maturidade sexual de novilhas *Bos indicus*. **Bioteecnologias da Reprodução em Bovinos (2° Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada)**, p.101-112, 2006.

NOONAN, E.J., KELLY, J.C., & BEGGS, D.S. Factors associated with fertility of nulliparous dairy heifers following a 10-day fixed-time artificial insemination program with sex-sorted and conventional semen. **Australian Veterinary Journal**, v. 94, p.145-148, 2016.

PALHANO, H.B. **Reprodução em Bovinos**, LF livros de veterinária, 2 edição, 2008, 249p.

PANSANI, M.A. & BELTRAN, M.P. Anatomia e fisiologia do aparelho reprodutor de fêmeas bovinas. **Revista Electrónica de Medicina Veterinária**, v. 12, p. 1-5, 2009.

PAPAMITSOU, T. et al. Low expression of progesterone receptor A in intermediate trophoblast of miscarriages. **Histology and Histopathology**, v.26, p.609-614, 2011.

PATTERSON, D.J.; WOOD, S.L. & RANDLE, R.F. Procedures that support reproductive management of replacement beef heifers. **Proceedings of the American Society of Animal Science**. 1999. Disponível em <[http://beefrepro.unl.edu/proceedings/2005collegestation/17\\_tamu\\_support\\_patterson.pdf](http://beefrepro.unl.edu/proceedings/2005collegestation/17_tamu_support_patterson.pdf)>. Acessado em 12/2016.

PRIEDKALNS J, LEISER R. **Female reproductive system**. In: Dellmann HD, Eurell J. (Ed.). Textbook of veterinary histology. 5 ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1998. 269p.

PURSLEY, J.R.; MEE, M.O. & WILTBANK, M.C. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF2 $\alpha$  and GnRH. **Theriogenology**, v.44, p.915-923, 1995.

RAMOS, A.O. et al. Associação de palma forrageira com feno de maniçoba ou silagem de sorgo e duas proporções de concentrado na dieta de vacas em lactação. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 67, p. 189-197, 2015.

RAWLINGS, N.C. et al. Antral follicle growth and endocrine changes in prepubertal cattle, sheep and goats. **Animal Reproduction Science**, Orlando, v. 78, p. 259-270, 2003.

REECE, W.O. **Dukes: Fisiologia dos animais domésticos**. 12. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. 926p.

RODRIGUES, H.D.; KINDER, J.E. & FITZPATRIK, L.A. Estradiol regulation of luteinizing hormone secretion in heifers of two breed types that reach puberty at differing ages. **Biology of Reproduction**, v.66, p.603-609, 2002.

ROSENKRANS, K.S. & HARDIN, D.K. Repeatability and accuracy of reproductive tract scoring to determine pubertal status in beef heifers. **Theriogenology**, v.59, p.1087-92, 2003.

ROTH, Z.; INBAR, G. & ARAV, A. Comparison of oocyte developmental competence and follicular steroid content of nulliparous heifers and cows at different stages of lactation. **Theriogenology**, Philadelphia, v. 69, n. 1. p. 932-939, 2008.

SÁ FILHO M.F. et al. IATF em novilha. **Biotecnologia da reprodução em bovinos (3o simpósio internacional de reprodução animal aplicada)**, p.54-67, 2008.

SÁ FILHO, M.F. et al. Resynchronization with unknown pregnancy status using progestin-based timed artificial insemination protocol in beef cattle. **Theriogenology**, v.81, p.284-290, 2014.

SALES, J.N.S. Effects of two estradiol esters (benzoate and cypionate) on the induction of synchronized ovulations in *Bos indicus* cows submitted to a timed artificial insemination protocol. **Theriogenology**, v.78, p.510-516, 2012.

SANTOS, J.E.P. & SA FILHO, M.F. Nutrição e reprodução em bovinos. Biotecnologias da Reprodução em Bovinos. In: Simpósio Internacional De Reprodução Animal Aplicada, 2. Londrina. **Anais...** p. 30-54, 2006.

SENGER, P.L. **Pathways to pregnancy e parturition**. Edmond, OR: Current Conceptions, 2012.

SEJRSEN, K. & PURUP, S. Influence of prepubertal feeding level on milk yield potential of dairy heifers: a Review. **Journal of Animal Science**, v.75, p.828-835, 1997.

SILVA, A.E.F., et al. Influência do momento da Inseminação Artificial sobre a fertilidade e o sexo da cria de novilhas da raça Nelore. **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, p. 997-1003, 2008.

SILVA, F.M. et al. Replacement of soybean meal by cottonseed meal in diets based on spineless cactus for lactating cows. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, p. 1995-2000, 2009.

SNELLING, W.M. et al.. How single nucleotide polymorphism chips will advance our knowledge of factors controlling puberty and aid in selecting replacement beef females. **Journal of Animal Science**, v. 90, p.1152-1165, 2012.

SNEL-OLIVEIRA, M.N. et al. Estimulação Hormonal, Punção Folicular Transvaginal e Avaliação Ovocitária em bezerras Pré-Púberes da raça Nelore (*Bos taurus indicus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, p.106-114, 2003.

SONOHATA, M.M. et al.. Escore de condição corporal e desempenho reprodutivo de vacas no Pantanal do Mato Grosso do Sul. Brasil. **Revista Brasileira Saúde e Produção Animal**. v.10, p. 988-998, 2009.

SOUSA, G.G. T. et al. Avaliação de bovinos de leite submetidos à monta natural e inseminação artificial. **Revista Semiárido De Visu**, v. 3, p.11-19, 2015.

SOUZA, A.H. et al. Supplementation with estradiol-17 $\beta$  before the last gonadotropin-releasing hormone injection of the ovsynch protocol in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.90, p.4623-4634, 2007.

SOUZA, A.H. et al. Ultrasonographic evaluation of endometrial thickness near timed AI as a predictor of fertility in high producing dairy cows. **Theriogenology**, v. 75, p. 722-733, 2011.

SPÉZIA, J.P.S. et al. Efeito de diferentes doses de ocitocina sobre a produção leiteira de fêmeas bovina. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 9, p. 215-222, 2015.

STEVENSON, J.L., et al. Effect of breeding protocols and reproductive tract score on reproductive performance of dairy heifers and economic outcome of breeding programs. **Journal of dairy Science**. v.91, p.3424-3438, 2008.

SUNDARAVADANAN, V.K.; VENKATASWAMY, V. Histology and histochemistry of bovine uterus. **Indian Journal of Animal Science**, v. 43, p. 1050-1053, 1973.

TORRES, H.A.L.; TINEO, J.S.A. & RAIDAN, F.S.S. Influência do escore de condição corporal na probabilidade de prenhez em bovinos de corte. **Archivos de Zootecnia**, v. 65, p. 255-260, 2015.

WILLIAMS, G.L.; et al.. Leptin and its role in the central regulation of reproduction in cattle. **Domestic Animal Endocrinology**, Stonehan, v. 23, p. 339-349, 2002.

WOLF, A. & GABALDI, S.H.; Acompanhamento ultrassonográfico em grandes animais. **Ciências Agrárias e da Saúde**. v. 2, p. 77-89, 2002.

ZAVADILOVÁ, L., & ZINK, V. Genetic relationship of functional longevity with female fertility and milk production traits in Czech Holsteins. **Czech Journal of Animal Science**, v. 58, p. 554-565, 2013.

ZHANG, Y.; et al.. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. **Nature**, London; v. 372, p. 425-432, 1994.

ZIEBA, D.A.; AMSTALDEN, M. & WILLIAMS, G.L. Regulatory roles of leptin in reproduction and metabolism: a comparative review. **Domestic Animal Endocrinology**, Stonehan, v.29, p. 166-185, 2005.

## 7. ANEXOS

<b>Novilha</b>	<b>E.O.</b>	<b>Estruturas</b>	<b>E.U.</b>	<b>Idade (meses)</b>	<b>Peso (Kg)</b>	<b>E.C.C.</b>	<b>D.G.</b>	<b>Neospora</b>
2028	3 (25,7)	FL	3 (19.5)	37	425	3,5	Negativo	Positivo
2143	3 (24)	FL	2 (14.3)	37	486	3,5	Negativo	Negativo
2149	3(24,6)	CL	1 (11.2)	36	458	3	Negativo	Negativo
2167	2 (22,75)	CL	1 (12.5)	36	436	3,5	Positivo	Negativo
2172	1 (17,6)	CL	1 (13.05)	35	431	3	Negativo	Negativo
2175	3 (27,85)	CL	1 (12.8)	35	463	3,5	Negativo	Negativo
2178	3 (27)	FL	1 (11.7)	35	426	3	Positivo	Negativo
2205	1 (17,35)	FL	1(12.9)	31	412	3	Negativo	Negativo
2206	2 (22,25)	FL	2 (15.7)	31	525	3,5	Negativo	Negativo
2209	1 (13,1)	FL	2 (16)	31	458	3	Positivo	Negativo
2213	1 (17,6)	SE	3 (18.35)	30	370	2,5	Negativo	Positivo
2214	3 (25,95)	CL	1 (10.2)	30	472	3	Positivo	Negativo
2217	1 (19,2)	SE	2 (14.7)	30	441	3	Negativo	Negativo
2223	3(24,55)	CL	1 (13)	29	382	3	Negativo	Negativo
2224	2 (21,4)	CL	1 (13.3)	29	322	3	Positivo	Positivo
2228	3 (25.4)	FL	1 (13.2)	29	425	3	Negativo	Negativo
2231	2 (20,1)	FL	1 (12.7)	29	408	3,5	Positivo	Negativo
2233	2 (22,75)	CL	2 (14.1)	28	408	3	Negativo	Positivo
2234	3 (27,7)	SE	2 (15.6)	26	353	2,5	Positivo	Negativo
2236	1 (18,9)	FL	1 (13.7)	25	428	2,5	Positivo	Negativo
2237	1 (19,15)	FL	2 (16.5)	25	360	3	Positivo	Negativo
2238	1 (19,05)	FL	2 (15.2)	25	382	3	Negativo	Negativo
2239	2(23,65)	CL	2 (14)	25	364	3	Positivo	Negativo
2240	1 (17,7)	FL	3 (17)	25	352	3	Positivo	Negativo
2247	1 (19,35)	FL	2 (14.5)	24	405	3	Positivo	Negativo
2248	3 (24,15)	CL	1 (12.5)	24	361	2,5	Positivo	Positivo
2249	3 (28,7)	CL	1 (12.9)	24	360	2,5	Positivo	Positivo
2255	1 (19)	FL	2 (14)	24	374	2,5	Positivo	Positivo
2259	1 (14,75)	FL	2 (14.5)	24	351	3	Positivo	Positivo
2269	1 (17,2)	SE	2 (14.7)	24	351	3,5	Positivo	Negativo
2270	2 (21,15)	FL	1 (13.5)	24	317	2,5	Positivo	Negativo

<b>2274</b>	2 (23)	cl	1 (13,5)	23	316	3	Positivo	Positivo
<b>2363</b>	1 (17,3)	SE (FL<8)	3 (17,9)	23	340	3,5	Positivo	Positivo
<b>2364</b>	2 (20,65)	CL	3 (17,33)	26	440	3	Positivo	Positivo
<b>2367</b>	1 (18,6)	FL	3 (19,4)	26	370	3	Positivo	Negativo
<b>2374</b>	2 (20,85)	CL	2 (15,2)	25	315	3	Positivo	Negativo
<b>2377</b>	3 (25,35)	CL	2 (14,78)	25	330	3	Positivo	Positivo
<b>2379</b>	2 (20,9)	FL	2 (16,42)	25	350	3	Negativo	Negativo
<b>2382</b>	1 (14,9)	SE	2 (14,58)	24	340	3	Negativo	Negativo
<b>2384</b>	2 (22,32)	CL	3 (18,17)	24	370	3	Positivo	Positivo
<b>2393</b>	2 (22)	CL	2 (14,76)	24	350	3,5	Positivo	Negativo
<b>2395</b>	2 (20,25)	FL	2 (15,7)	23	370	3	Positivo	Negativo
<b>2402</b>	2 (23,4)	FL	3 (20,04)	23	350	3	Positivo	Negativo
<b>2404</b>	2 (21,62)	CL	1 (11,66)	23	345	3,5	Positivo	Negativo
<b>2406</b>	2 (22,5)	CL	2 (15)	23	320	3,5	Positivo	Negativo
<b>2409</b>	2 (21,67)	CL	2 (14,4)	23	398	3,5	Negativo	Negativo
<b>2413</b>	3 (24,41)	CL	1 (13,51)	21	390	3,5	Positivo	Positivo
<b>2423</b>	1 (18,3)	CL	1 (12,88)	22	330	3	negativo	Positivo
<b>2424</b>	2 (20,02)	CL	3 (19,18)	20	360	3	Positivo	Negativo
<b>2428</b>	3 (24)	FL	2 (14)	20	345	3	Positivo	Negativo
<b>2429</b>	1 (19,4)	CL	2 (14,17)	20	330	3,5	Positivo	Negativo
<b>2438</b>	2 (20,45)	CL	1 (13,49)	22	355	3,5	Positivo	Positivo
<b>2445</b>	2 (22,3)	FL	2 (15,38)	21	325	3,5	Positivo	Negativo
<b>2446</b>	2 (21,12)	FL	2 (16,3)	19	330	3	Positivo	Negativo
<b>2458</b>	2 (22,47)	CL	2 (15,6)	19	325	3	Negativo	Negativo
<b>2461</b>	2 (22,35)	FL	1 (12,51)	16	325	3,5	Negativo	Negativo

E.O.: Escore ovariano; E.U.: Escore uterino; E.C.C.: Escore de condição corporal; D.G.: Diagnóstico de gestação; CL: Corpo lúteo; FL: Folículos > 8mm; SE: sem estrutura ou folículos < 8mm.